

Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux

Revue trimestrielle
ISSN 0035-1865
Inscrite à la commission paritaire des publications
sous le n° 50047

publiée
par le département d'élevage
et de médecine vétérinaire
du Centre de coopération internationale
en recherche agronomique pour le développement
Cirad-emvt

Directeur de la Publication : Emmanuel Camus
Rédacteur en chef : Didier Richard
Edition : Marie-Cécile Maraval-Mollard

COMITE DE LECTURE

J. Asso, E. Authié, D. Bastianelli, P. Bonnet,
J.-P. Boutonnet, J. Cabaret, Ph. Chardonnet, Y. Cognié,
C. Demarquilly, A. Diallo, Ph. Dorchie, G. Duvallet,
B. Faye, H. Guerin, A. Gueye, J.-F. Guillot, J. Itard,
J. Le Dividich, P.-C. Lefèvre, C. Le Goff, Ph. Lhoste,
G. Libeau, F. Ménessier, C. Meyer, P.-P. Pastoret,
M. Picard, J.-P. Poivey, D. Richard, G.R. Scott,
G. Tacher, F. Thiaucourt, B. Toutain, P.-L. Toutain,
G. Uilenberg

Rédaction et Publicité

Cirad-emvt
Campus international de Baillarguet, TA 30/B
34398 Montpellier Cedex 5, France
Téléphone : (0) 4 67 59 38 17 - Télécopie : (0) 4 67 59 37 97
revue-emot@cirad.fr

Abonnements

Lavoisier
Brigitte Delestaing
14, rue de Provigny
94236 Cachan Cedex, France
(voir page 40 pour les tarifs)
abo@Lavoisier.fr
<http://www.Lavoisier.fr>

© Cirad, Montpellier, 2004
Imprimé par Jouve (France)
n° d'ordre : 363363C
Dépôt légal : décembre 2004

Sommaire

PATHOLOGIE INFECTIEUSE

7-14 Transmission expérimentale de la péripneumonie contagieuse bovine par contact chez des zébus : étude des aspects cliniques et pathologiques de la maladie. Niang M., Diallo M., Cissé O., Koné M., Doucouré M., LeGrand D., Balcer V., Dedieu L. (*en français*)

15-20 Caractéristiques de la virulence d'*Escherichia coli*, productrice de la toxine type Shiga, isolée à partir de cas de mammite bovine au Brésil. Kabori D., Rigobelo E.C., Macedo C., Marin J.M., Avila F.A. (*en anglais*)

21-29 Application de la réaction de polymérisation en chaîne au diagnostic direct de la chlamydiose abortive (*Chlamydia abortus* et *Chlamydia pecorum*) des petits ruminants au Maroc. El Jaï S., Remmal A.H., Rodolakis A., Souriau A., El Idrissi A.H. (*en français*)

31-34 Emergence de la peste des petits ruminants chez des moutons et des chèvres à l'est de l'Arabie saoudite. Housawi F.M.T., Abu Elzein E.M.E., Mohamed G.E., Gameel A.A., Al-Afaleq A.I., Hegazi A., Al-Bishr B. (*en anglais*)

35-39 Epidémiologie et manifestations clinico-pathologiques de la maladie de Newcastle chez des poulets de race locale nigériens. Manchang T.K., Abdu P.A., Saidu L. (*en anglais*)

41-44 Enquête sérologique sur la maladie de Newcastle et la maladie de Gumboro chez les canards et les pintades indigènes de Jos, dans l'Etat du Plateau au Nigeria. Mai H.M., Oguniola O.D., Obasi O.L. (*en anglais*)

PATHOLOGIE PARASITAIRE

45-48 Prévalence de trypanosomes chez des bovins dans la région de Lere dans l'Etat de Kaduna au centre nord du Nigeria. Abenga J.N., Enwezor F.N.C., Lawani F.A.G., Osue H.O., Ikemereh E.C.D. (*en anglais*)

49-58 Macrolides antiparasitaires : propriétés pharmacologiques générales et recommandations d'usage dans le contexte vétérinaire africain. Bengone-Ndong T., Alvinerie M. (*en français*)

59-64 Séroépidémiologie de la babésiose bovine à *Babesia divergens* en Tunisie. Bouattour A., Ghammam M., Darghouth M., Touil S., Tahri M., Ben Hamouda F. (*en français*)

65-70 Distribution et variations d'abondance saisonnières d'*Argas persicus* au Sénégal. Guèye A., Sylla M., Diouf A., Touré I., Camicas J.L. (*en français*)

71-76 Répartition des parasites branchiaux du poisson d'eau douce *Barbus martorelli* Roman, 1971 (Teleostei : Cyprinidae) et tendance à une évolution d'intensité contraire des myxosporidies et des monogènes en fonction de l'âge de l'hôte. Tombi J., Bilong Bilong C.F. (*en anglais*)

RESSOURCES ALIMENTAIRES

77-85 Mares de la zone sylvopastorale du Sénégal : tendances évolutives et rôle dans les stratégies de production des populations pastorales. Diop A.T., Diaw O.T., Diémé I., Touré I., Sy O., Diémé G. (*en français*)

86 Note de lecture

87-94 Facteurs de variation de quelques éléments trace (sélénium, cuivre, zinc) et d'enzymes témoins de la souffrance musculaire dans le sérum du dromadaire (*Camelus dromedarius*) aux Emirats arabes unis. Seboussi R., Faye B., Alhadrami G. (*en français*)

RESSOURCES ANIMALES

95-100 Paramètres de production et de santé en relation avec le parasitisme chez les bovins N'Dama villageois en savane guinéenne de la Côte d'Ivoire. Knopf L., Komoin-Oka C., Betschart B., Gottstein B., Zinsstag J. (*en anglais*)

101-105 Effets de l'environnement sur la quantité de lait et les poids corporels des bovins de race Tidili au Maroc. Boujenane I., Ghoddane A., Benidir M. (*en français*)

107-112 Effet de différents niveaux de supplémentation avec *Leucaena leucocephala* sur la croissance pondérale de la chèvre Naine de Guinée. Tedonkeng Pamo E., Tendonkeng F., Kana J.R., Loyem P.K., Tchappa E., Fotie F.K. (*en français*)

Contents

INFECTIOUS DISEASES

- 7-14** Contagious Bovine Pleuropneumonia Experimental Transmission in Zebu Cattle by Contact: Study of Clinical and Pathological Aspects of the Disease. Niang M., Diallo M., Cissé O., Koné M., Doucouré M., LeGrand D., Balcer V., Dedieu L. (*in French*)
- 15-20** Virulence Properties of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolated from Cases of Bovine Mastitis in Brazil. Kobori D., Rigobelo E.C., Macedo C., Marin J.M., Avila F.A. (*in English*)
- 21-29** Application of Polymerase Chain Reaction to the Direct Diagnosis of Abortive Chlamydiosis (*Chlamydophila abortus* and *Chlamydophila pecorum*) of Sheep and Goats in Morocco. El Jaï S., Remmal A.H., Rodolakis A., Souriau A., El Idrissi A.H. (*in French*)
- 31-34** Emergence of *Peste des Petits Ruminants* in Sheep and Goats in Eastern Saudi Arabia. Housawi F.M.T., Abu Elzein E.M.E., Mohamed G.E., Gameel A.A., Al-Afaleq A.I., Hegazi A., Al-Bishr B. (*in English*)
- 35-39** Epidemiology and Clinicopathologic Manifestations of Newcastle Disease in Nigerian Local Chickens. Manchang T.K., Abdu P.A., Saidu L. (*in English*)
- 41-44** Serological Survey of the Newcastle Disease and Infectious Bursal Disease in Local Ducks and Local Guinea Fowls in Jos, Plateau State, Nigeria. Mai H.M., Ogunsola O.D., Obasi O.L. (*in English*)

PARASITIC DISEASES

- 45-48** Trypanosome Prevalence in Cattle in Lere Area in Kaduna State, North Central Nigeria. Abenga J.N., Enwezor F.N.C., Lawani F.A.G., Osue H.O., Ikemereh E.C.D. (*in English*)
- 49-58** Antiparasitic Macrolides: General Pharmacological Properties and Usage Instructions in the African Veterinary Context. Bengone-Ndong T., Alvinerie M. (*in French*)
- 59-64** Seroepidemiology of Bovine Babesiosis due to *Babesia divergens* in Tunisia. Bouattour A., Ghammam M., Darghouth M., Touil S., Tahri M., Ben Hamouda F. (*in French*)
- 65-70** Distribution and Seasonal Variations of *Argas persicus* in Senegal. Guèye A., Sylla M., Diouf A., Touré I., Camicas J.L. (*in French*)
- 71-76** Distribution of Gill Parasites of the Freshwater Fish *Barbus martorelli* Roman, 1971 (Teleostei: Cyprinidae) and Tendency to Inverse Intensity Evolution Between Myxosporidia and Monogenea as a function of the Host Age. Tombi J., Bilong Bilong C.F. (*in English*)

FEED RESOURCES

77-85 Ponds of the Sylvopastoral Zone of Senegal: Evolution and Role in Pastoral Populations' Production Strategies. Diop A.T., Diaw O.T., Diémé I., Touré I., Sy O., Diémé G. (*in French*)

86 Reading note

87-94 Variation Factors of Some Trace Elements (Selenium, Copper and Zinc) and Enzymes Indicators of Muscular Fatigue in the Serum of Camels (*Camelus dromedarius*) in the United Arab Emirates. Seboussi R., Faye B., Alhadrami G. (*in French*)

ANIMAL RESOURCES

95-100 Production and Health Parameters of N'Dama Village Cattle in Relation to Parasitism in the Guinea Savannah of Côte d'Ivoire. Knopf L., Komoin-Oka C., Betschart B., Gottstein B., Zinsstag J. (*in English*)

101-105 Environmental Effects on Milk Yields and Body Weights of Tidili Cattle in Morocco. Boujenane I., Ghoddane A., Benidir M. (*in French*)

107-112 Effect of Different Levels of Supplementation with *Leucaena leucocephala* on Weight Gains of the West African Dwarf Goat. Tedonkeng Pamo E., Tendonkeng F., Kana J.R., Loyem P.K., Tchappa E., Fotie F.K. (*in French*)

Sumario

PATOLOGIA INFECCIOSA

7-14 Transmisión experimental de la perineumonía contagiosa bovina mediante contacto en los cebúes: estudio de los aspectos clínicos y patológicos de la enfermedad. Niang M., Diallo M., Cissé O., Koné M., Doucouré M., LeGrand D., Balcer V., Dedieu L. (*en francés*)

15-20 Propiedades de virulencia de la *Escherichia coli* productora de toxina Shiga aislada de vacas de leche con mastitis en Brasil. Kobori D., Rigobelo E.C., Macedo C., Marin J.M., Avila F.A. (*en inglés*)

21-29 Aplicación de la reacción de la polimerización en cadena al diagnóstico directo de la clamidiósis abortiva (*Chlamydophila abortus* y *Chlamydophila pecorum*) de los pequeños rumiantes en Marruecos. El Jaï S., Remmal A.H., Rodolakis A., Souriau A., El Idrissi A.H. (*en francés*)

31-34 Brote de peste de los pequeños rumiantes en ovejas y cabras de la zona oriental de Arabia Saudí. Housawi F.M.T., Abu Elzein E.M.E., Mohamed G.E., Gameel A.A., Al-Afaleq A.I., Hegazi A., Al-Bishr B. (*en inglés*)

35-39 Epidemiología y manifestaciones clínico-patológicas de la enfermedad de Newcastle en los pollos de raza local nigerianos. Manchang T.K., Abdu P.A., Saidu L. (*en inglés*)

41-44 Encuesta serológica de la enfermedad de Newcastle y de la bursitis infecciosa en patos locales y gallinas de Guinea locales en Jos, estado de Plateau, Nigeria. Mai H.M., Ogunsola O.D., Obasi O.L. (*en inglés*)

PATOLOGIA PARASITARIA

45-48 Prevalencia de la tripanosomosis en ganado en los distritos de Lere, estado de Kaduna, centro norte de Nigeria. Abenga J.N., Enwezor F.N.C., Lawani F.A.G., Osue H.O., Ikemereh E.C.D. (*en inglés*)

49-58 Macrólidos antiparasitarios: propiedades farmacológicas generales y recomendaciones de uso en el contexto veterinario africano. Bengone-Ndong T., Alvinerie M. (*en francés*)

59-64 Epidemiología serológica de la babesiosis bovina por *Babesia divergens* en Túnez. Bouattour A., Ghammam M., Darghouth M., Touil S., Tahri M., Ben Hamouda F. (*en francés*)

65-70 Distribución y variaciones en abundancia según las estaciones de *Argas persicus* en Senegal. Guèye A., Sylla M., Diouf A., Touré I., Camicas J.L. (*en francés*)

71-76 Distribución de los parásitos de branquias en el pez de agua dulce *Barbus martorelli* Roman, 1971 (Teleostei: Cyprinidae) y la tendencia a una evolución de intensidad inversa entre Myxosporidia y Monogenea en función de la edad del huésped. Tombi J., Bilong Bilong C.F. (*en inglés*)

RECURSOS ALIMENTICIOS

77-85 Abrevaderos de la zona silvo pastoral de Senegal: tendencias evolutivas y papel en las estrategias de producción de las poblaciones pastoriles. Diop A.T., Diaw O.T., Diémé I., Touré I., Sy O., Diémé G. (*en francés*)

86 Nota de lectura

87-94 Factores de variación de algunos elementos traza (selenio, cobre, zinc) y de enzimas testigo del sufrimiento muscular en el suero de dromedario (*Camelus dromedarius*) en los Emiratos Arabes Unidos. Seboussi R., Faye B., Alhadrami G. (*en francés*)

RECURSOS ANIMALES

95-100 Parámetros de producción y de salud del ganado N'Dama de pueblo en relación con el parasitismo en la sabana Guinea de Costa de Marfil. Knopf L., Komoin-Oka C., Betschart B., Gottstein B., Zinsstag J. (*en inglés*)

101-105 Efectos del medio ambiente sobre la calidad de la leche y los pesos corporales de los bovinos de raza Tidili en Marruecos. Boujenane I., Ghoddane A., Benidir M. (*en francés*)

107-112 Efecto de los diferentes niveles de suplemento con *Leucaena leucocephala* sobre el crecimiento ponderal en la cabra Enana de Guinea. Tedonkeng Pamo E., Tendonkeng F., Kana J.R., Loyem P.K., Tchappa E., Fotie F.K. (*en francés*)

Transmission expérimentale de la péripneumonie contagieuse bovine par contact chez des zébus : étude des aspects cliniques et pathologiques de la maladie

M. Niang¹ M. Diallo¹ O. Cissé¹ M. Koné¹
M. Doucouré¹ D. LeGrand² V. Balcer³ L. Dedieu³

Mots-clés

Bovin – Péripneumonie contagieuse bovine – *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* Small Colony – Infection expérimentale – Examen clinique – Immunodiagnostic – Nécropsie – Mali.

Résumé

Une reproduction expérimentale de péripneumonie contagieuse bovine (Ppcb) a été effectuée par mise en contact étroit de quatorze zébus sains avec 12 bovins N'Dama naturellement infectés, issus d'un foyer actif de Ppcb. Les zébus sains ont été obtenus de différents troupeaux indemnes de Ppcb et non vaccinés contre la maladie depuis plusieurs années. Quatre zébus témoins, n'ayant jamais été en contact avec l'agent pathogène *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* Small Colony (*MmmSC*), ont été isolés. L'expérimentation a duré 12 mois pendant lesquels tous les animaux ont été suivis cliniquement et prélevés à intervalles réguliers pour les analyses sérologiques et bactériologiques. Une analyse *post mortem* a été réalisée sur tous les animaux afin de déceler des lésions caractéristiques de la Ppcb et de prélever des échantillons pour l'isolement de *MmmSC*. L'ensemble des résultats a montré l'efficacité de transmission de la Ppcb par contact. Les animaux ont été classés en trois groupes en fonction de l'intensité des signes cliniques et *post mortem*, et des résultats de laboratoire : forme aiguë avec deux morts (5/13), forme subaiguë à chronique (6/13) et forme résistante (2/13). Les animaux ayant cliniquement manifesté la maladie ont présenté des lésions nécropsiques variées (hépatisation, séquestres, liquide pleural, adhérence pulmonaire, cicatrices fibreuses, etc.) ainsi qu'une séroconversion. *MmmSC* a pu être isolé des poumons hépatisés et du contenu des séquestres. En revanche, deux animaux, classés résistants, n'ont jamais présenté de signes clinique ni sérologique. Les animaux témoins sont demeurés cliniquement sains durant toute la période d'expérimentation ; à l'autopsie aucune lésion caractéristique de la Ppcb n'a été notée et les analyses de laboratoire sont restées négatives. La présente étude confirme les observations antérieures selon lesquelles la Ppcb peut être transmise avec succès aux bovins par contact. Ces résultats permettent de définir les bases expérimentales pour de futures études telles que la caractérisation des réponses immunes et pathologiques des bovins aux différentes phases et formes de la maladie.

■ INTRODUCTION

La péripneumonie contagieuse bovine (Ppcb) est une maladie respiratoire qui constitue une menace sérieuse pour l'élevage bovin non seulement en Afrique mais aussi en Asie et en Europe du Sud (1, 10, 14, 17). La Ppcb figure sur la liste A des maladies de l'OIE en raison de sa gravité particulière et de son pouvoir de diffusion transfrontalière (6, 12, 17). Elle est causée par *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* Small Colony (*MmmSC*), premier mycoplasme isolé en 1898 (16) et qui appartient au groupe « mycoides » (3).

1. Laboratoire central vétérinaire, km 8, route de Koulikoro, BP 2295, Bamako, Mali
Tél.: +223 224 33 44 ; fax : +223 224 98 09
E-mail : mamadouniang@hotmail.com

2. Ecole nationale vétérinaire de Lyon, BP 83, Marcy-L'étoile, 69280, France

3. Cirad-emvt, TA30/G, Campus international de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France

La Ppcb a été éradiquée de la plupart des pays développés à travers une police sanitaire rigoureuse de restriction du mouvement du bétail, d'abattage et de compensation consécutive. Malheureusement, pour des raisons socioculturelles et économiques, de telles mesures sont difficiles à appliquer dans la plupart des pays africains. En conséquence, la seule approche réaliste de contrôle de la Ppcb dans le tiers-monde, y compris les pays africains, est la vaccination massive et répétée (20, 21).

Cependant, les vaccins contre la Ppcb actuellement utilisés en Afrique, basés sur la souche T1 atténuée, présentent une efficacité modérée. En effet, l'immunité induite est de courte durée, nécessitant une revaccination annuelle coûteuse, et ne protège pas l'ensemble des animaux d'un troupeau (20, 21, 22). Le développement d'un vaccin plus efficace pour le contrôle de la maladie en Afrique est donc un réel besoin. Dans ce but, un projet international de recherche, coordonné par le Cirad, est en cours dans le cadre du 5^e programme de recherche de la Commission européenne. Pour atteindre cet objectif, certains prérequis sont à satisfaire, comme la caractérisation des réponses immunes impliquées dans la protection des animaux ainsi que l'identification des composants de l'agent pathogène induisant ces réponses.

Cependant, cet objectif est rendu difficile par l'absence de modèle d'animaux de laboratoire puisqu'en effet la Ppcb est une pathologie spécifique des bovins. Des expériences ont été réalisées chez la souris dans le passé (19). Cependant, l'absence de réactions inflammatoires, caractéristiques de la Ppcb, montre que ce modèle ne peut être adapté à cette pathologie. La validité d'une étude pathologique ou immunologique implique donc l'utilisation de l'hôte naturel et la reproduction de la maladie dans les conditions naturelles avec ses différentes formes cliniques. Une étude dynamique de la Ppcb requiert donc la mise en place d'expériences d'infection naturelle de bovins par l'agent pathogène *MmmSC*. Celles-ci peuvent être obtenues par mise en contact de bovins non infectés avec des animaux infectés issus de foyers de terrain, simulant ainsi au maximum les conditions de l'infection de terrain. Cependant, peu de cas de transmission expérimentale de Ppcb par la méthode de contact avec des animaux naturellement infectés ont été décrits (8, 13).

Dans le cadre de ce projet Inco dédié au développement d'un vaccin amélioré contre la Ppcb, le Laboratoire central vétérinaire (LCV) de Bamako, Mali, a été responsable de la réalisation d'une transmission expérimentale de la Ppcb par contact chez des zébus. Cet article présente les résultats cliniques, nécropsiques et microbiologiques de cette expérimentation.

■ MATERIEL ET METHODES

Les animaux d'expérimentation

Dix-huit zébus cliniquement sains, âgés de 3 à 6 ans, ont été obtenus à partir de plusieurs troupeaux du plateau Dogon de Bandiagara, Mali, zone relativement indemne de Ppcb, et convoyés dans les étables du LCV, Bamako. Les documents et données des services locaux de la santé animale (5) ainsi que les informations recueillies auprès des éleveurs sur place prouvent que les animaux de ces troupeaux n'avaient jamais été exposés à la Ppcb ni vaccinés contre la maladie durant les dix dernières années. Les animaux sélectionnés ne présentaient aucun anticorps contre *MmmSC* [tests d'agglutination rapide sur lame, réaction de fixation du complément (RFC) et test c-Elisa (*competitive enzyme-linked immunosorbent assay*)] (4). Ils étaient également indemnes de brucellose (test d'agglutination) et de tuberculose (test d'intradermoréaction). Ces animaux ont été placés en quarantaine, dès leur arrivée, pendant une durée de deux mois durant laquelle deux prélèvements de sang

ont été effectués pour confirmer leur statut sérologique. Les animaux ont également été traités contre diverses parasitoses et vaccinés contre la pasteurellose et le charbon symptomatique. Quatorze de ces animaux ont été placés dans le groupe « contact » et ont été bagués avec les dénominations C1 à C14. Les quatre autres animaux, constituant le groupe « témoin », ont été gardés séparément et dénommés T1 à T4.

Les animaux infectés par *MmmSC* et présentant des signes typiques de Ppcb ont été acquis dans le village de Diago N'Dagado, Kati, lors d'un foyer actif. La confirmation d'un foyer de Ppcb a été faite sur la base de l'observation des signes cliniques et *post mortem* (figure 1) et des analyses bactériologiques (isolement de *MmmSC* à partir du liquide pleural et des prélèvements de ganglions et de poumons). Douze bovins de race N'Dama ont été transportés dans les étables du LCV ; ils ont formé le groupe « infecté » et ont été bagués de I1 à I12. Toutes les dispositions légales pour le transport de ces animaux furent prises à cet effet. La RFC réalisée sur ces animaux s'est révélée fortement positive pour une grande majorité d'entre eux.

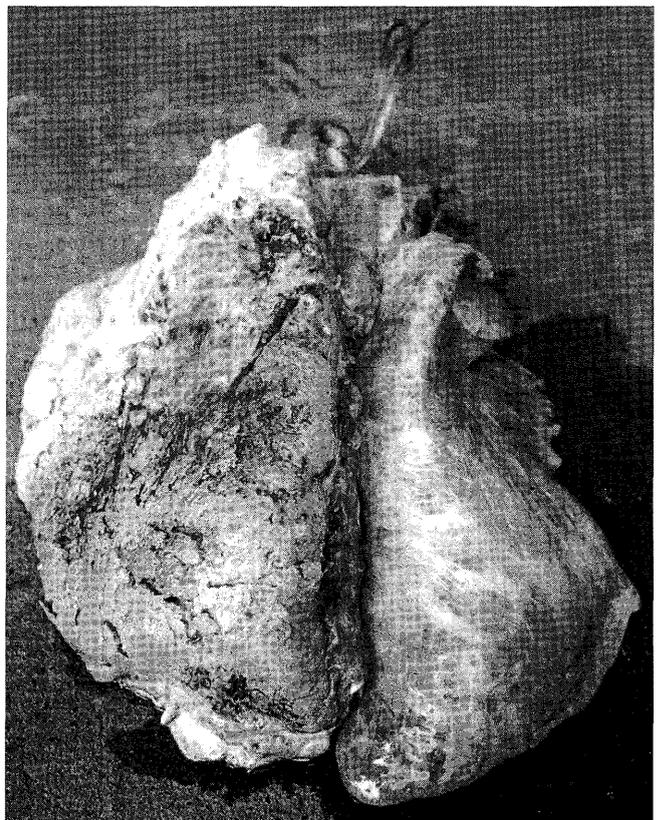


Figure 1 : lésions pulmonaires observées chez un animal du groupe « infecté », issu du foyer Diago N'Dagado-Kati. L'hépatisation du poumon gauche avec dépôt de fibrine à la surface est notable.

Protocole expérimental

Dès leur arrivée, les animaux « infectés » ont été placés en contact permanent et étroit avec les animaux sains « contact », dans une étable isolée et sécurisée, pour une transmission naturelle de l'infection. Les animaux avaient accès à la cour de l'étable dans la journée avec un accès libre à la nourriture et à l'eau. La nuit, ils étaient enfermés dans un box (largeur : 8 m ; longueur : 10 m ; hauteur : 4,30 m) présentant une fenêtre grillagée (1,9 m x 2,30 m) au nord, et deux portes métalliques et grillagées (2 m x 2,38 m) au sud et à l'est permettant l'aération, destiné à favoriser le contact étroit entre

les animaux. Les animaux témoins se trouvaient dans une étable isolée et sécurisée avec également un accès libre à la nourriture et à l'eau. Tous les animaux étaient nourris avec de la paille, du son de riz, du tourteau de coton, de la mélasse et des blocs salés avec une complémentation vitaminée enrichie d'acides aminés ainsi qu'avec de l'herbe fraîche lorsque celle-ci était disponible.

Examens cliniques et post mortem

Un examen clinique quotidien de tous les animaux a été pratiqué (toux, jetage, abattement, difficultés respiratoires, anorexie et amaigrissement ont été particulièrement observés). Les mesures de température rectale et de fréquence respiratoire ont été enregistrées deux fois par semaine pendant toute la période d'expérimentation. Les animaux présentant des signes suraigus de la maladie ont été abattus.

Une autopsie complète a été pratiquée sur tous les animaux abattus durant l'expérimentation ou sacrifiés en fin d'expérimentation. Les poumons et les ganglions ont été attentivement examinés pour la recherche de lésions macroscopiques de Ppcb et les résultats enregistrés en détail. En outre, d'autres organes tels que le cœur, les reins et le tube digestif ont également été examinés en détail.

Système de notation des animaux

Dans le but de classer cliniquement les animaux, une notation basée sur la sévérité des signes cliniques (pyrexie, polypnée, toux, abattement) et la mortalité a été adoptée (tableau I) ; les animaux ont été notés et classés en se référant à l'état clinique des animaux témoins comme suit : pour la forme aiguë de 6 à 10 points, pour la forme subaiguë à chronique de 2 à 5 et pour la forme résistante de 0 à 1.

Collecte des échantillons

Deux types de prélèvements ont été effectués sur tous les animaux avec un intervalle de 1 à 2 semaines, à compter de la 7^e semaine avant la mise en contact jusqu'à 52 semaines postcontact (pc). Il s'agissait, d'une part, de lavages bronchoalvéolaires (LBA) et, d'autre part, de sang comme source de sérum.

Tableau I

Echelle de notation des animaux

Signes cliniques	Score
Pyrexie	
< 39 °C	0
39-39,5 °C	1
> 39,5 °C	2
Léthargie (abattement)	
Absente	0
Modérée	1
Sévère	2
Fréquence de toux	
Absente	0
Modérée	1
Elevée	2
Fréquence respiratoire	
< 34	0
34-40	1
> 40	2
Mort des suites de la maladie	2

La récolte des LBA a été pratiquée selon la méthode décrite par Giraud et coll. (7). Les animaux ont été immobilisés sans sédation en station debout dans un box de contention, la tête en légère extension vers le haut. Une sonde naso-œsophagienne en PVC de 11 mm de diamètre lubrifiée a été introduite dans le méat inférieur des narines et poussée doucement jusqu'au contact avec une bronche. Un réflexe de toux a signalé l'entrée de la sonde dans la bronche. Une solution stérile de Hanks à 1 p. 100 du mélange antibiotique-antimycosique (10 000 UI de pénicilline, 10 mg de streptomycine, 25 µg d'amphotéricine B et 20 ml d'eau distillée) a été préparée. De cette solution, 200 ml ont été alors introduits dans les poumons de l'animal à l'aide de seringues stériles de 60 cc, puis rapidement aspirés dans une autre seringue stérile. La récolte a été de 20-30 ml en moyenne.

Des échantillons de tissus pulmonaires, de liquide pleural, de séquestres pulmonaires et de ganglions lymphatiques ont été prélevés. Les échantillons collectés ont été placés immédiatement dans la glace, puis transportés au laboratoire. Le sang, après coagulation à température ambiante, a été centrifugé pour permettre la récolte du sérum, aliquoté et conservé à -20 °C, jusqu'à l'analyse sérologique. Les échantillons de LBA ont été immédiatement traités pour l'isolement et l'identification de *MmmSC*. De même, les échantillons de tissus pulmonaires, de liquide pleural, de séquestres pulmonaires et de ganglions ont étéensemencés immédiatement après prélèvement.

Analyses de laboratoire

Pour l'isolement de *MmmSC*, dix dilutions en série de chaque échantillon ont été faites dans le milieu de Gourlay et le bouillon de cœur-cerveille (*brain heart infusion* : BHI). La confirmation de *MmmSC* a été effectuée par le test d'immunofluorescence après deux passages sur milieu solide (17). Pour confirmation ultérieure, les isolats ont été envoyés au Cirad-emvt, Montpellier, France (laboratoire mondial de référence FAO pour la Ppcb et centre de référence OIE pour la Ppcb).

L'analyse sérologique spécifique de *MmmSC* a été effectuée par la RFC et le c-Elisa suivant les protocoles livrés avec les coffrets (respectivement Cirad-emvt et Institut Pourquier, Montpellier). La RFC a été réalisée en dilutions successives à partir de 1:4 sur les échantillons de sérums décomplémentés par la chaleur (56 °C pendant 30 min). Le c-Elisa a été réalisé en dilution unique de 1:10 sur les échantillons de sérums.

■ RESULTATS

L'infection expérimentale a débuté le 8 septembre 2001. Deux semaines après, un animal contact (C10) est mort de troubles digestifs. A l'autopsie, aucune lésion caractéristique de la Ppcb n'a été observée et les analyses de laboratoire ont été négatives. Ainsi, les résultats du présent article ont concerné les données relatives aux 13 animaux contacts restants, aux 4 animaux témoins et aux 12 animaux infectés dont 10 ont été abattus en cours d'expérimentation.

Données cliniques

Animaux témoins

Tous les animaux témoins sont restés cliniquement sains pendant la durée entière de l'expérimentation.

Animaux contacts

Les premiers signes cliniques évidents de la maladie ont été observés chez C4 (51 jours pc) et se sont poursuivis chronologiquement

chez C9 (56 jours pc), C13 (62 jours pc), C11 (66 jours pc), C8 (67 jours pc), C12 (69 jours pc), C14 (95 jours pc), C3 (104 jours pc), C5 (144 jours pc), C7 (160 jours) et C6 (197 jours). Selon la sévérité des signes cliniques, les animaux ont été classés dans trois groupes (tableaux II et III) :

– forme aiguë, cinq animaux dont deux morts (5/13, soit 38,46 p. 100), C3, C8, C9, C12 et C14 ;

– forme subaiguë à chronique, six animaux (6/13, soit 30,76 p. 100), C4, C5, C6, C7, C11 et C13 ;

– forme résistante, deux animaux (2/13, soit 15,38 p. 100), C1 et C2.

Dans la forme aiguë, les animaux affectés ont toussé fréquemment ; cependant, la toux humide typique de la Ppcb n'a pas été un trait marqué. Les animaux ont été très déprimés et ont montré des signes de respiration abdominale, prostration avec légère extension du cou, anorexie, larmolement et amaigrissement rapide. Quoique le jetage ait été fréquent et abondant, le mucus n'a pas été purulent. Le plus souvent, une salive limpide coulait de la bouche, mais

Tableau II

Classification clinique des animaux des groupes « contact » et « témoin » sur la base de l'échelle de notation des signes cliniques

N° animal	Pyrexie	Fréquence respiratoire	Toux	Léthargie	Mort des suites de la maladie	Score total	Classification
T1	0	0	0	0	0	0	Témoin
T2	0	0	0	0	0	0	Témoin
T3	0	0	0	0	0	0	Témoin
T4	0	0	0	0	0	0	Témoin
C1	1	0	0	0	0	1	Résistante
C2	0	0	0	0	0	0	Résistante
C3	2	2	2	2	0	8	Aiguë
C4	1	1	1	1	0	4	Subaiguë à chronique
C5	2	0	1	1	0	4	Subaiguë à chronique
C6	1	0	1	1	0	3	Subaiguë à chronique
C7	1	1	1	1	0	4	Subaiguë à chronique
C8	2	1	2	2	0	7	Aiguë
C9	2	2	2	2	0	8	Aiguë
C11	1	0	2	1	0	4	Subaiguë à chronique
C12	2	1	1	2	2	8	Aiguë
C13	1	0	1	1	0	3	Subaiguë à chronique
C14	2	1	1	2	2	8	Aiguë

Tableau III

Récapitulatif des signes cliniques, des lésions autopsiques et de l'isolement de *MmmSC* chez les animaux du groupe « contact »

N° animal	Maladie clinique			Lésions autopsiques		Isolement de <i>MmmSC</i>
	Début de la maladie	Durée	Forme clinique	Stade	Dimensions approximatives (cm)	
C1	–	–	–	–	–	Négatif
C2	–	–	–	–	–	Négatif
C3	21/12/01	268	Aiguë	Séquestres	5 x 10	Positif
C4	29/10/01	320	Subaiguë à chronique	Cicatrice fibreuse	–	Négatif
C5	30/01/02	227	Subaiguë à chronique	Séquestres	0,5 x 1	Négatif
C6	07/03/01	190	Subaiguë à chronique	Séquestres	3 x 5	Positif
C7	15/02/02	211	Subaiguë à chronique	Séquestres	1 x 2	Négatif
C8	14/11/01	22	Aiguë	Cicatrice fibreuse	–	Négatif
C9	03/11/01	314	Aiguë	Séquestres	3 x 10	Négatif
C11	13/11/01	305	Subaiguë à chronique	Séquestres	2 x 2	Positif
C12	16/11/01	110	Aiguë	Hépatisation	Majeure partie du poumon	Positif
C13	09/11/01	310	Subaiguë à chronique	Cicatrice fibreuse	–	Négatif
C14	04/01/02	10	Aiguë	Hépatisation	Majeure partie du poumon	Positif

elle n'était pas mousseuse. A l'auscultation, la fréquence respiratoire a été accélérée (34-44/min). De plus, il a été observé chez certains animaux un œdème sous-cutané diffus le long du fanon et de la trachée, qui s'étendait vers les côtes. Un autre trait marqué des signes cliniques observés durant l'expérimentation a été le ballonnement. Les températures rectales enregistrées ont varié autour de 40 °C avec une tendance à l'augmentation avant la mort, survenant peu après l'expression des signes cliniques. Le début de la maladie a été brusque et le rétablissement, avec récurrence occasionnelle des symptômes, a été observé chez la majorité des animaux (trois sur cinq) approximativement après une à deux semaines d'épisodes cliniques.

Les signes cliniques de la forme subaiguë à chronique ont été similaires à ceux décrits précédemment mais de manifestation plus modérée. Il n'a pas été enregistré de mortalité, et la fièvre, lorsque présente, a été intermittente. Le début de la maladie a été lent et les signes se sont maintenus jusqu'à deux mois et plus. La dyspnée n'a pas toujours été évidente. Dans les cas chroniques, les animaux ont présenté une hyperthermie subfébrile allant de 39 à 39,5 °C. Les autres signes de la maladie tels que la toux et le jetage n'ont pas été certains, tandis que l'émaciation a été visible parfois.

Dans le groupe de la forme résistante, les animaux résistant donc à l'infection n'ont présenté aucun signe clinique durant toute la période expérimentale et ont gagné d'ailleurs du poids avec le temps. Leur état a été comparable à celui des témoins.

Animaux infectés

Aucun classement de ces animaux n'a été effectué à cause de l'absence de données sur l'historique de l'infection dans ce groupe. Cependant, la plupart des animaux ont présenté les mêmes signes cliniques que les contacts classés dans la forme aiguë. Durant les cent premiers jours de l'expérimentation, huit de ces animaux ont nécessité un abattage.

Réponses sérologiques

Durant toute la période expérimentale, aucun des animaux témoins n'a développé de titres d'anticorps contre la Ppcb, ni en c-Elisa ni en RFC. Il en a été de même pour les deux animaux classés résistants (C1 et C2) parmi les 13 animaux contacts. Les onze animaux restants, ayant eu des signes cliniques et *post mortem* évidents, ont tous présenté une séroconversion observée aussi bien en RFC qu'en c-Elisa, à différentes périodes de l'expérimentation. En effet, selon les animaux, la séroconversion a été observée avant ou après l'apparition des signes cliniques évidents de Ppcb. Cependant, aucune corrélation n'a pu être établie entre les titres d'anticorps et la sévérité des signes cliniques ou les types de lésions nécropsiques observées.

Dans le cas des animaux infectés, les tests sérologiques étaient déjà positifs au moment de leur acquisition pour la majorité d'entre eux. Même si la plupart d'entre eux ont dû être abattus rapidement pendant la période expérimentale, les titres d'anticorps sont restés significatifs chez ces animaux.

Données autopsiques

L'analyse *post mortem* a été effectuée sur chaque animal abattu durant l'expérimentation avec un examen immédiat des lésions après éviscération. Il en a été de même lorsque tous les animaux survivants, 11 contacts, deux infectés, ainsi que les témoins, ont été abattus 367 jours après la mise en contact. Les données de l'autopsie ont été soigneusement notées en détail et sont présentées dans le tableau III.

Animaux témoins

Aucune lésion caractéristique de Ppcb n'a été observée à l'autopsie chez ces animaux.

Animaux contacts

Les lésions autopsiques ont été classées en trois groupes : aigu, chronique et négatif. Des lésions aiguës ont été observées chez les deux animaux (C12, C14) morts pendant l'expérimentation avec des signes évidents de la maladie. Ces lésions ont consisté en une quantité abondante de liquide pleural dans la cavité thoracique (figure 2). De même, les poumons affectés ont été en état de consolidation rouge (figure 3) avec adhésions. Les lésions ont été unilatérales dans leur distribution. Des dépôts de fibrine ont été présents à la surface des poumons. A la section, les poumons ont dégagé une quantité importante de liquide séreux avec un épaississement interlobulaire prononcé et un aspect marbré. De plus, les ganglions pulmonaires ont été en général hypertrophiés et congestionnés.

Des lésions chroniques ont été observées chez neuf animaux (C3 à C9, C11 et C13), dont six avec des séquestres pulmonaires visibles (C3, C5, C6, C7, C9 et C11) et trois avec des cicatrices fibreuses, témoins de lésions pulmonaires résorbées. Les dimensions des séquestres ont varié de 1 à 10 cm en diamètre (figure 4).



Figure 2 : forme aiguë de péripneumonie contagieuse bovine observée chez l'animal C14 du groupe « contact ». L'accumulation d'une quantité abondante de liquide pleural dans la cavité thoracique est notoire.

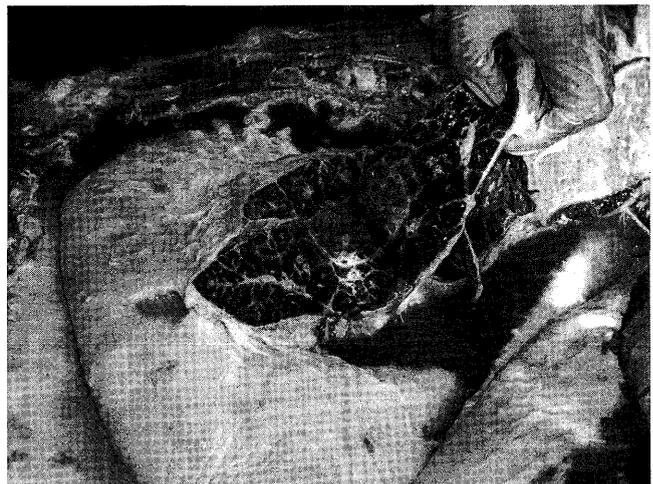


Figure 3 : section d'un poumon effectuée chez l'animal C14 du groupe « contact » atteint de péripneumonie contagieuse bovine dans sa forme aiguë. L'aspect marbré du poumon est remarquable.

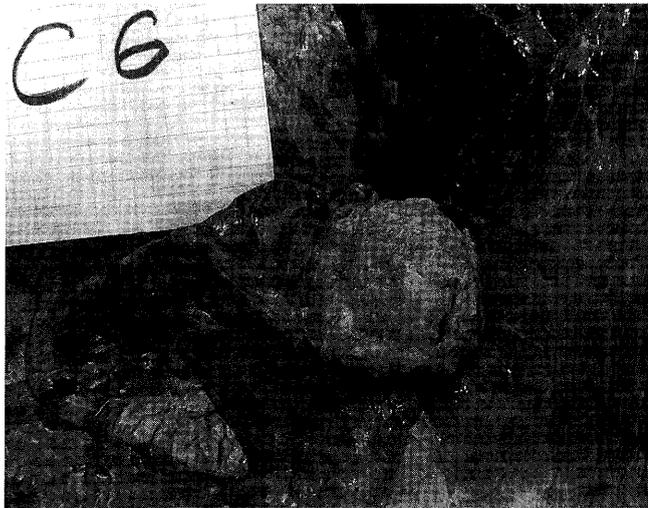


Figure 4 : lésions chroniques avec séquestre observées chez l'animal C6 du groupe « contact ».

La présence de séquestre multiple n'a été observée chez aucun animal. Dans la plupart des cas, la présence de séquestres s'est accompagnée d'adhésions pleurales. A l'incision des séquestres, le contenu nécrotique s'est déversé aisément en laissant une paroi dure. Dans certains cas, les ganglions lymphatiques ont été impliqués et ont montré des foyers nécrotiques à l'incision.

D'autres lésions accessoires notées dans les poumons ont été principalement relatives aux corps étrangers (paille) dans les bronches chez deux animaux contacts (C3, C7). Dans ces cas, la congestion était la lésion essentielle. A la section, les lobules ont présenté des hémorragies avec présence de caillots sanguins dans les vaisseaux.

Aucune lésion nécropsique n'a été détectée chez les deux animaux C1 et C2 qui sont restés cliniquement sains durant toute l'expérimentation et dont les poumons avaient le même aspect que les témoins.

Animaux infectés

Parmi ces animaux, deux ont présenté des lésions aiguës (I1, I2) et les dix autres des lésions chroniques (I3 à I12). Parmi ces derniers, six ont eu des séquestres visibles (I4, I5, I6, I8, I10, I11) dont certains étaient liquéfiés. La taille moyenne des séquestres a été d'environ 15 x 20 cm, avec des cas où plus de la moitié du poumon atteint était concernée. La présence de séquestre multiple visible a été observée chez un animal seulement (I6). Quatre des animaux infectés ont présenté des lésions résorbées sous forme de cicatrices fibreuses (I3, I7, I9, I12). Parmi ces derniers, I9 et I12 ont survécu jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Isolement de MmmSC

Comme indiqué dans le tableau III, MmmSC a été isolé des échantillons prélevés *post mortem* sur les deux animaux du groupe contact, morts en cours d'expérimentation (C12 et C14) ainsi qu'à partir des séquestres issus des poumons de trois autres animaux contacts (C3, C6, C11) et de quatre infectés (I1, I2, I6, I11 ; résultats non présentés). En revanche, les tentatives d'isolement de MmmSC à partir des LBA sont restées vaines.

■ DISCUSSION

La présente expérimentation a eu pour but la transmission expérimentale de la Ppcb chez les zébus par contact avec des animaux naturellement infectés. L'objectif a été d'offrir une base expérimentale pour une étude dynamique de la Ppcb transmise par voie

respiratoire naturelle à son hôte spécifique, le bovin. La mise au point de cette expérimentation va ouvrir la voie à de nombreuses études de la maladie en fonction des différentes formes cliniques. En effet, elle va permettre la collecte de données cliniques, sérologiques et autopsiques, d'une part, ainsi que celle d'échantillons cellulaires pour la caractérisation des réponses immunitaires en vue du développement de nouveaux vaccins. Jusqu'à présent, les rares expériences réussies de transmission expérimentale de Ppcb par contact reposaient sur l'utilisation d'animaux infectés, non pas naturellement, mais par intubation avec des souches virulentes (9, 17, 21). L'originalité de la présente étude tient au fait que les animaux « transmetteurs » de l'infection étaient des animaux naturellement infectés issus de foyers actifs de Ppcb. Cette technique, beaucoup plus proche de l'infection naturelle est, d'après les auteurs, mieux adaptée à l'étude de cette pathologie et des réponses immunitaires induites par l'agent pathogène.

Cet article a présenté les résultats cliniques, autopsiques et microbiologiques de l'expérimentation. Les résultats de l'analyse des réponses immunitaires feront l'objet d'une communication ultérieure.

Un bilan global de cette transmission expérimentale de Ppcb atteste de l'efficacité du présent protocole. En effet, 84,6 p. 100 (11/13) des animaux du groupe contact, soumis à cette pression d'infection, ont effectivement contracté la Ppcb et développé différentes formes cliniques. Le statut des deux animaux restants (C1 et C2) a été difficile à déterminer puisque aucun paramètre n'a permis d'affirmer l'infection. Cependant, la résistance à cette maladie a déjà été décrite et évaluée, au sein d'un troupeau, à 20–25 p. 100 des cas (11, 17). Il ne peut donc être exclu que ces deux animaux aient été totalement résistants à la maladie.

Selon les données disponibles dans la littérature, la période d'incubation dans l'infection naturelle, bien que mal définie, varie de 29 à 58 jours (2) et de 20 à 113 jours dans l'infection expérimentale chez les bovins sains mis en contact avec des animaux infectés par intubation (17). En fait, cette information est très difficile à déterminer puisqu'elle suppose de connaître la date exacte à laquelle les animaux ont été infectés, c'est-à-dire en contact avec MmmSC ; or cette donnée était inconnue dans la présente expérimentation. La seule observation analysable était donc le délai entre la mise en contact des animaux et l'apparition des premiers signes cliniques. Dans cette expérience, ce délai s'est étendu de 51 à 197 jours. Ce long délai pouvait s'expliquer par le fait que pendant les cent premiers jours de l'expérimentation les deux tiers des animaux du groupe infecté étaient déjà morts, ce qui a certainement conduit à une réduction considérable de la pression d'infection. Une autre possibilité pouvait être une plus faible pathogénicité de la souche de MmmSC.

L'analyse des données *post mortem* a montré une bonne corrélation avec les signes cliniques observés et donc avec la classification des animaux. En effet, tous les animaux ayant présenté des signes cliniques de Ppcb ont eu également en parallèle des signes *post mortem* caractéristiques de cette maladie. De plus, les lésions de type hépatisation n'ont été observées que chez les animaux avec la forme aiguë ayant entraîné la mort. En revanche, tous les autres animaux ayant guéri de l'infection étaient caractérisés par la présence de séquestres ou de simples cicatrices. Cependant, certains symptômes classiques tels que la toux humide, la décharge nasale mucopurulente, l'extension prononcée du cou et la salive mousseuse aux commissures de la bouche ont été absents, même chez les animaux morts de la maladie et chez lesquels les lésions aiguës typiques ont été observées à l'autopsie. L'explication pourrait être aussi la diminution rapide du nombre d'animaux du groupe infecté ou la virulence de la souche. Ces observations étaient prévisibles

dans la mesure où il est communément reconnu que la transmission de la Ppcb par contact est difficile à accomplir et que les difficultés dans la reproduction expérimentale du tableau clinique complet de l'infection naturelle sont également bien connues (15).

L'expression des formes cliniques de la maladie notées dans cette expérience s'accorde avec les observations faites par d'autres auteurs lors d'études sur la maladie naturelle (15, 17, 18). En effet, au sein des 13 animaux du groupe contact, 38,46 p. 100 ont développé la forme aiguë de la maladie, 46,15 p. 100 la forme subaiguë à chronique et 15,38 p. 100 la forme résistante. Ces pourcentages sont très proches de ceux décrits par Provost et coll. (17). Le modèle de classification proposé par Hudson et Turner (9) reste sans doute la référence classique pour ce type d'expérimentation animale. Cependant, il n'a pas été applicable à la présente étude. En effet, l'objectif final de cette étude a été la récolte d'échantillons pour une caractérisation des réponses immunitaires induites par *MmmSC*. Dans ce but les animaux expérimentaux ont été maintenus le plus longtemps possible. L'abattage des animaux n'a été prévu que dans les cas extrêmes, c'est-à-dire lorsque le malade déclarait des signes d'agonie. L'échelle de notation décrite dans la présente étude peut donc être considérée comme une méthode fiable en vue de déterminer les différentes formes cliniques de la maladie. Cette classification sera très utile pour les études ultérieures, telles que celle prévue sur l'analyse immunitaire des réponses induites chez les zébus lors de l'infection par *MmmSC*. En effet, elle permettra d'établir une corrélation claire entre forme clinique de la Ppcb et type de réponse immunitaire. Cela conduira ainsi à une caractérisation des paramètres immunitaires liés soit à la protection (guérison de l'animal) soit à la pathologie (mort de l'animal).

Il est à noter qu'aucune différence significative dans les signes cliniques de la maladie n'a été constatée entre les animaux des groupes contact et infecté. En revanche, l'analyse *post mortem* a révélé une nette différence entre ces deux groupes d'animaux. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que les deux groupes étaient d'espèces différentes, bovins N'dama (groupe infecté) et zébus Peuhls (groupe contact). Si une réceptivité égale est décrite théoriquement pour ces deux espèces, de fortes différences de sensibilité caractérisent les diverses races (17).

Les analyses microbiologiques ont montré la présence de *MmmSC* dans quelques échantillons tissulaires récoltés *post mortem* à partir d'animaux ayant développé une forme aiguë mais également à partir d'animaux ayant présenté une forme subaiguë (tableau III). En revanche, aucun isolement par culture n'a pu être effectué à partir des LBA, que ce fût chez les animaux du groupe contact ou infecté. Cet échec d'isolement pourrait être s'expliquer par la présence d'antibiotiques dans la solution de Hanks servant à réaliser les LBA qui auraient pu réduire le titre de mycoplasmes avant la culture.

L'analyse sérologique, réalisée par la RFC et la technique c-Elisa, a mis en évidence une séroconversion spécifique de *MmmSC* chez tous les animaux du groupe contact ayant présenté des indicateurs évidents de la maladie. Cependant, les titres en anticorps anti-*MmmSC* n'ont présenté aucune corrélation avec la sévérité clinique de la maladie ou les lésions nécropsiques observées. Ces observations sont conformes à celles faites par d'autres chercheurs (2). En revanche, aucune réponse sérologique n'a été observée chez les animaux C1 et C2 durant tout le processus d'expérimentation. Ce résultat corrèle avec le statut clinique et *post mortem* de ces animaux, classés comme résistants à l'infection par *MmmSC*. Toutefois, il ne permet pas d'affirmer que ces animaux ont bien été infectés. Cependant, compte tenu de l'efficacité de transmission de l'infection par *MmmSC* observée dans la présente expérience, il semble probable que ces deux animaux aient bien été également soumis à la pression d'infection et aient donc eu effectivement un

contact avec *MmmSC*. Il ne peut donc être exclu que ces animaux puissent être réellement résistants à la maladie.

■ CONCLUSION

La présente étude a montré la faisabilité d'une transmission expérimentale de la Ppcb par contact étroit entre animaux sains et animaux naturellement infectés. Une bonne reproduction des différentes formes cliniques de la maladie a bien été obtenue. Le système de notation clinique élaboré s'est montré efficace dans la classification des animaux malades. Cette expérience réussie pourra donc servir de base expérimentale pour les études futures et notamment pour l'analyse des paramètres immunologiques et pathologiques caractérisant les différentes phases et formes de la Ppcb.

Remerciements

Les auteurs remercient les Drs F. Thiaucourt et R. S. Windsor pour avoir accepté de réviser le manuscrit. Ce travail a été financé par le projet Inco ICA4-CT-2000-30015 (Development of an improved vaccine against contagious bovine pleuropneumonia) du 5^e Programme-cadre 1998-2002 de la Commission européenne.

BIBLIOGRAPHIE

- BELLI P., POUMARAT F., PERRIN M., LONGCHAMBON D., MARTEL J.L., 1989. Reproduction expérimentale et évolution de la péripneumonie contagieuse bovine dans un groupe de bovins et de caprins: aspects anatomocliniques. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **42**: 349-356.
- BYGRAVE A.C., MOULTON J.E., SHIFRINE M., 1968. Clinical, serological and pathological findings in an outbreak of contagious bovine pleuropneumonia. *Bull. Epizoot. Dis. Afr.*, **16**: 21-46.
- COTTEW G.S., BREARD A., DAMASSA A.J., ERNO H., LEACH R.H., LEFEVRE P.C., RODWELL A.W., SMITH G.R., 1987. Taxonomy of the *Mycoplasma mycoides* cluster. *Isr. J. med. Sci.*, **23**: 632-635.
- DEDIEU L., BREARD A., LE GOFF C., LEFEVRE P.C., 1996. Diagnostic de la péripneumonie contagieuse bovine : problèmes et nouveaux développements. *Revue sci. tech. Off. int. Epizoot.*, **15**: 1331-1353.
- DRAMR, 1993-2000. Rapports annuels. Mopti, Mali, Direction régionale de l'appui au monde rural.
- EGWU G.O., NICHOLAS R.A.J., AMEH J.A., BASHIRUDDIN J.B., 1996. Contagious bovine pleuropneumonia: an update. *Vet. Bull.*, **66**: 875-888.
- GIRAUD N., ARCANGIOLI M.A., LE GRAND D., 2002. Le lavage broncho-alvéolaire par voie naso-trachéale chez les bovins. *Bull. GTV*, **13**: 83-85.
- GOURLAY R.N., HOWARD C.J., 1983. Respiratory mycoplasmosis. *Adv. vet. Sci. comp. Med.*, **26**: 289-332.
- HUDSON J.R., TURNER A.W., 1963. Contagious bovine pleuropneumonia: a comparison of the efficacy of two types of vaccine. *Aust. vet. J.*, **39**: 373-385.
- IEMVT, 1985. Mycoplasmes et mycoplasmoses des petits ruminants. Documents techniques. Maisons-Alfort, France, Cirad-Iemvt, p. 82.
- IEMVT, 1992. La péripneumonie contagieuse bovine. Fiches techniques d'élevage tropical. Maisons-Alfort, France, Cirad-Iemvt, Paris, France, ministère de la Coopération et du Développement. (Fiche n° 4)
- LEFEVRE P.C., 2000. Contagious bovine pleuropneumonia. In: Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. Paris, France, OIE, p. 123-133.
- LLYOD L.C., ETHERIDGE J.R., 1983. Contagious bovine pleuropneumonia produced by aerosol artificially generated from cultures of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. *Br. vet. J.*, **139**: 330-337.
- LORENZON S., ARZUL I., PEYRAUD A., HENDRIKX P., THIAUCOURT F., 2003. Molecular epidemiology of contagious bovine pleuropneumonia by multilocus sequence analysis of *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* biotype SC strains. *Vet. Microbiol.*, **93**: 319-333.

15. MASIGA W.N., DOMENECH J., WINDSOR R.S., 1996. Manifestation and epidemiology of contagious bovine pleuropneumonia in Africa. *Revue sci. tech. Off. int. Epizoot.*, **15**: 1283-1308.
16. NOCARD E., ROUX E., 1898. Le microbe de la péripneumonie. *Ann. Inst. Pasteur*, **12** : 240-262.
17. PROVOST A., PERREAU P., BREARD A., LE GOFF C., MARTEL J.L., COTTEW G.S., 1987. Contagious bovine pleuropneumonia. *Revue sci. tech. Off. int. Epizoot.*, **6**: 625-679.
18. SCHNEIDER H.P., VAN DER LUGT J.J., HUBSCHLE O.J.B., 1994. Contagious bovine pleuropneumonia. In: Coetzer J.A.W., Thomson G.R., Tustin R.C. Eds, Infectious diseases of livestock, Vol. 2. Oxford, UK, Oxford University Press.
19. SMITH G.R., 1968. Factor affecting bacteremia in mice inoculated with *Mycoplasma mycoides*. *J. comp. Pathol.*, **78**: 267.
20. SYLLA D., LITAMOI J., RWEYEMAMU M.M., 1995. Stratégies de vaccination contre la péripneumonie contagieuse bovine en Afrique. *Revue sci. tech. Off. int. Epizoot.*, **14**: 577-592.
21. TULASNE J.J., LITAMOI J.K., MOREIN B., DEDIEU L., PALYA V.J., YAMI M., 1996. Contagious bovine pleuropneumonia vaccines: the current situation and the need for improvement. *Revue sci. tech. Off. int. Epizoot.*, **15**: 1373-1396.
22. YAYA A., GOLSIA R., HAMADOU B., AMARO A., THIAUCOURT F., 1999. Essai comparatif d'efficacité des deux souches vaccinales T1/44 et T1sr contre la péripneumonie contagieuse bovine. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **52** : 171-179.

Reçu le 17.12.2003, accepté le 23.11.2004

Summary

Niang M., Diallo M., Cissé O., Koné M., Doucouré M., LeGrand D., Balcer V., Dedieu L. Contagious Bovine Pleuropneumonia Experimental Transmission in Zebu Cattle by Contact: Study of Clinical and Pathological Aspects of the Disease

The experimental transmission of contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) was carried out by putting into close contact 14 naive zebu cattle with 12 naturally infected N'Dama cattle taken from a CBPP field outbreak. The healthy zebus originated from various CBPP-free herds and had not been vaccinated against CBPP in the past several years. Four control animals who had never been in contact with *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* Small Colony (*MmmSC*) were housed separately. The experiment lasted 12 months. All animals were monitored for clinical signs and regularly sampled for serological and bacteriological analyses. Postmortem analyses were performed on all animals to assess the presence of CBPP gross lesions and to take samples for *MmmSC* isolation. The results showed the efficacy of CBPP transmission by contact. Animals were assigned to three groups according to clinical, postmortem, and laboratory findings, as follows: acute form including two deaths (5/13), subacute to chronic form (6/13), and resistant form (2/13). Animals with obvious clinical signs of the disease showed various lung lesions at necropsy (hepatization, sequestra, pleural fluid, lung adhesions, fibrotic scars, etc.) as well as seroconversion. *MmmSC* was isolated from hepatized lungs and sequestral contents. In contrast, the two animals with a resistant form never presented any clinical nor any serological signs. The control animals remained clinically healthy throughout the experiment; at necropsy, no CBPP-characteristic lesion was noted and laboratory analyses remained negative. This study confirmed previous observations that showed that CBPP infection can be successfully transmitted to cattle by contact, and it could provide an experimental basis for future research such as the characterization of the host immune and pathological responses at various stages of the disease.

Key words: Cattle – Contagious bovine pleuropneumonia – *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* Small Colony – Experimental infection – Clinical examination – Immunodiagnosis – Postmortem examination – Mali.

Resumen

Niang M., Diallo M., Cissé O., Koné M., Doucouré M., LeGrand D., Balcer V., Dedieu L. Transmisión experimental de la perineumonía contagiosa bovina mediante contacto en los cebúes: estudio de los aspectos clínicos y patológicos de la enfermedad

Se llevó a cabo una reproducción experimental de la perineumonía contagiosa bovina (Ppcb), mediante el contacto estrecho de catorce cebúes sanos con 12 bovinos N'Dama infectados de forma natural, provenientes de un foco activo de Ppcb. Los cebúes sanos provenían de diferentes hatos indemnes de Ppcb y no vacunados contra la enfermedad desde hace varios años. Se aislaron cuatro cebúes testigo, sin contacto previo con el agente patógeno *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* Small Colony (*MmmSC*). El experimento duró 12 meses, durante los cuales todos los animales fueron seguidos clínicamente y muestras obtenidas a intervalos regulares para análisis serológicos y bacteriológicos. Un análisis *post mortem* se llevó a cabo en todos los animales con el fin de detectar las lesiones características de la Ppcb y de tomar muestras para el aislamiento de *MmmSC*. El conjunto de los resultados mostró la eficacia de la transmisión de la Ppcb por contacto. Los animales se clasificaron en tres grupos en función de la intensidad de los signos clínicos y *post mortem* y de los resultados de laboratorio: forma aguda con dos muertos (5/13), forma sub aguda a crónica (6/13) y forma resistente (2/13). Los animales que manifestaron la enfermedad clínicamente presentaron lesiones en necropsia variadas (hepatización, secuestros, líquido pleural, adherencias pulmonares, cicatrices fibrosas, etc.), así como una sero conversión. *MmmSC* se aisló de los pulmones hepatizados y del contenido de secuestros. Por otro lado, dos animales, clasificados como resistentes, no presentaron nunca ni signos clínicos ni serológicos. Los animales testigo se mantuvieron clínicamente sanos durante todo el periodo experimental. Durante la autopsia no se observó ninguna lesión característica de la Ppcb y los análisis de laboratorio se mantuvieron negativos. El presente estudio confirma las observaciones anteriores, según las cuales la Ppcb puede transmitirse exitosamente a los bovinos mediante el contacto. Estos resultados permiten la definición de las bases experimentales para estudios futuros, como la caracterización de respuestas inmunes y patológicas de los bovinos durante las diferentes fases y formas de la enfermedad.

Palabras clave: Ganado bovino – Pleuroneumonía contagiosa bovina – *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* Small Colony – Infección experimental – Examen clínico – Inmuno-diagnóstico – Inspección postmortem – Malí.

Virulence Properties of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolated from Cases of Bovine Mastitis in Brazil

D. Kobori¹ E.C. Rigobelo² C. Macedo³
J.M. Marin⁴ F.A. Avila^{5*}

Key words

Cattle – Dairy cow – *Escherichia coli* – Mastitis – Pathogenicity – PCR – Brazil.

Summary

Out of 528 milk samples obtained from dairy cows with mastitis, 31 (5.8%) had *Escherichia coli* strains, causative agent of mastitis. These strains were screened for the presence of Shiga toxin-producing (*stx1* and *stx2*) and intimin (*eae*) genes. Twenty (64.5%) strains were detected by PCR to harbor the Shiga toxin genes (13 the *stx1* gene, 3 the *stx2* gene, and 4 the *stx1-stx2* genes). Three (9.6%) of the *E. coli* strains studied were *eae* positive non Shiga toxin-producing. The *E. coli* strains were also examined for resistance to 15 antimicrobial agents. The most commonly observed resistance was to novobiocin (100%), lincomycin (96.8%), penicillin (96.8%) and erythromycin (90.3%). All the strains tested showed resistance to at least one antimicrobial agent and multidrug resistance was very common (96.8%).

INTRODUCTION

Mastitis is a major problem in dairy farms and *E. coli* mastitis especially is a major disease in cows (1) because of the latter increasing incidence and severe symptoms (16). The concept of *E. coli* mastitis is that the organisms live in the environment and contaminate the teats probably as a result of fecal contamination (20).

1. Veterinary Medical, UNESP, Jaboticabal-SP, Brazil
2. Faculty of Agrarian and Veterinary Sciences, UNESP, Jaboticabal-SP, Brazil
3. Department of Genetics, Faculty of Medicine, USP Ribeirão Preto-SP, Brazil
4. Department of Morphology, Estomatology, Physiology, FORP-USP Ribeirão Preto-SP, Brazil
5. Department of Veterinary Pathology, Faculty of Agrarian and Veterinary Sciences, UNESP, Rodovia Paulo Donato Castellane, Km 5, Jaboticabal-SP, Brazil 14884-900

* Corresponding Author
E-mail: favila@fcav.unesp.br

Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) isolates are an important group of food-borne pathogens that can cause severe gastrointestinal diseases in humans and complications such as the hemolytic uremic syndrome (HUS). The most often reported STEC serotype causing disease in humans worldwide is O157:H7, although many others have been described (31, 34, 42).

Domestic ruminants, especially cattle, sheep and goats, have been implicated as the principal reservoirs of STEC strains that cause human infections (8, 9, 49). The pathogenicity of these bacteria is mainly mediated by Shiga toxins (Stx1, Stx2) encoded by *stx1* and *stx2* genes, and the products of the locus of enterocyte-effacement pathogenicity island, with the *eae* gene (intimin) involved in the attaching and effacing (AE) lesion in the intestinal mucosa (34). STEC strains that possess the *eae* gene may be able to induce AE if they possess other genes necessary for initial adherence (46). The role of *eae* positive non STEC strains in cattle diseases is uncertain, but these strains may be similar to enteropathogenic *E. coli* (EPEC) in humans.

The aim of the present study was to establish the serogroups and virulence genes of STEC strains isolated from bovine mastitic milk in Brazil. Drug resistance was carried out as further characterization of the isolates.

■ MATERIALS AND METHODS

Bacterial strains

Milk samples from mastitic cows were obtained aseptically in different dairy farms of Ribeirão Preto region, São Paulo State, Brazil, from February 2003 to November 2003. Approximately 5 ml of milk were collected in sterile glass bottles, stored in a cool box and transported to the laboratory for culture. Clinical and subclinical mastitides were identified by the California mastitis test (CMT) and clinical examination, and samples were collected in both cases. Samples were cultured in MacConkey (MAC) agar. Agar plates were incubated at 37°C and bacterial growth was evaluated after 24 and 48h. Gram-negative microorganisms were isolated from MAC agar and determined at the species level using cytochrome oxidase, triple sugar iron agar, urea and indole tests as putatively *E. coli* (6). Only one isolate for each animal was included. Reference *E. coli* strains used as controls were EDL 933 (O157: H7, *stx1*, *stx2*, *eae*); DH5 α was used as a negative control (10, 34).

Serogrouping

The *E. coli* isolates were identified by slide and tube agglutination tests (15) using polyvalent and monovalent sera against serogroups O26, O55, O86, O111, O114, O119, O125, O126, O127, O128, O142, and O158 (Probac do Brasil, São Paulo).

Extraction of bacterial DNA

Bacterial strains were grown in nutrient broth at 37°C overnight. Organisms from 1.5 ml growth were pelleted by centrifugation at 1200 g for 10 min. The bacterial pellet was resuspended in 250 μ l sterile distilled water. The bacteria were lysed by boiling for 10 min. The lysate was centrifuged again as before and 200 μ l of the supernatant were used directly as template for polymerase chain reaction (PCR) (44).

Examination of STEC isolates by PCR

A total of 31 *E. coli* isolates were subjected to PCR that was performed with a Mastercycler Eppendorf. The presence of *stx1*, *stx2* and *eae* genes were detected as described by China et al. (11); PCR primers and conditions were those described by the authors. The amplified DNA products were separated by electrophoresis on a 1.5% agarose gel, stained with ethidium bromide and detected under ultraviolet light (37).

Antimicrobial susceptibility tests

Antimicrobial susceptibility testing of bacteria was done by the disk diffusion method using commercial disks (Cecon, Centro de Controle e Produtos para Diagnostico, São Paulo, Brazil) according to the guidelines of the National Committee for Clinical Laboratory Standards (32). Adjusted inoculation of bacteria (ca 5 x 10⁴ CFU) were inoculated on Mueller-Hinton agar and incubated for 18 h at 35°C. Strains were considered resistant or sensitive by measuring the diameter of the growth inhibition zone; interpretation of the results was done as recommended by NCCLS (32). The antimicrobial agents tested, the loads of the disks and the resistance breakpoint were as follows: ampicillin (AMP, 10 μ g \leq 13 mm), cephalothin (CEP, 30 μ g \leq 14 mm), chloramphenicol

(CLO, 30 μ g \leq 12 mm), erythromycin (ERI, 30 μ g \leq 13 mm), gentamycin (GEN, 10 μ g \leq 12 mm), kanamycin (KAN, 10 μ g \leq 13 mm), lincomycin (LIN, 50 μ g \leq 16 mm), nalidixic acid (NAL, 10 μ g \leq 13 mm), neomycin (NEO, 25 μ g \leq 12 mm), nitrofurantoin (NIT, 30 μ g \leq 14 mm), novobiocin (NOV, 30 μ g \leq 14 mm), penicillin (PEN, 30 μ g \leq 14 mm), streptomycin (STR, 30 μ g \leq 11 mm), tetracycline (TET, 30 μ g \leq 14 mm), trimethoprim-sulfadiazine (TMP, 25 μ g \leq 10 mm).

■ RESULTS

A total of 31 *E. coli* strains were isolated from 528 cows with mastitis. All the strains were submitted to an agglutination test to determine the serogroup with specific antiserum (Table I). Nine different serogroups were identified, and serogroups O55 (8 strains) and O114 (5 strains) were those the most often identified.

The strains were investigated for the presence of Shiga-like toxin-producing genes (*stx1* and *stx2*) and for the presence of the intimin (*eae*) gene by PCR. As can be seen in Table II, 20 (64.5%) of the strains were STEC. PCR showed that 13 (65.0%) of STEC strains carried only the *stx1* gene, 3 (15.0%) possessed the *stx2* gene, and 4 (20.0%) carried both *stx1* and *stx2* genes. Five (25.0%), 2 (10.0%), 3 (15.0%) of the *stx1*, *stx2* and *stx1-stx2* strains, respectively, also harbored the *eae* gene (Table II). Three strains were non STEC and harbored only the *eae* gene.

Table I

Serogroup analysis of 31 isolates of *Escherichia coli* collected from mastitic milk in Brazil during 2003

Serogroup	Num. of strains/Total samples	%
O55	08/31	25.80
O114	05/31	16.12
O26	04/31	12.90
O111	04/31	12.90
O86	03/31	9.67
O125	02/31	6.45
O119	02/31	6.45
O126	02/31	6.45
O142	01/31	3.22

Table II

Virulence gene profile of *Escherichia coli* isolates from mastitic milk in Brazil

Num. of isolates	O serogroup (num. of isolates)	Virulence factor profile
08	O55(4); O111(1); 119(2); O125(1)	<i>stx1</i>
01	O86(1)	<i>stx2</i>
05	O114(3); O86(2)	<i>stx1</i> , <i>eae</i>
02	O111(2)	<i>stx2</i> , <i>eae</i>
01	O142(1)	<i>stx1</i> , <i>stx2</i>
03	O55(2); O111(1)	<i>stx1</i> , <i>stx2</i> , <i>eae</i>
11	-	None

The *E. coli* strains were tested for resistance to 15 antimicrobial agents. They were resistant most commonly to novobiocin (100%), lincomycin (96.8%), penicillin (96.8%) and erythromycin (90.3%) (Figure 1). All the strains tested showed resistance to at least one antimicrobial agent, but none showed resistance to all of them. Multidrug resistance, defined as being resistant to two or more classes of antibiotics, was very common and 96.8% of the strains showed resistance to three antimicrobial agents.

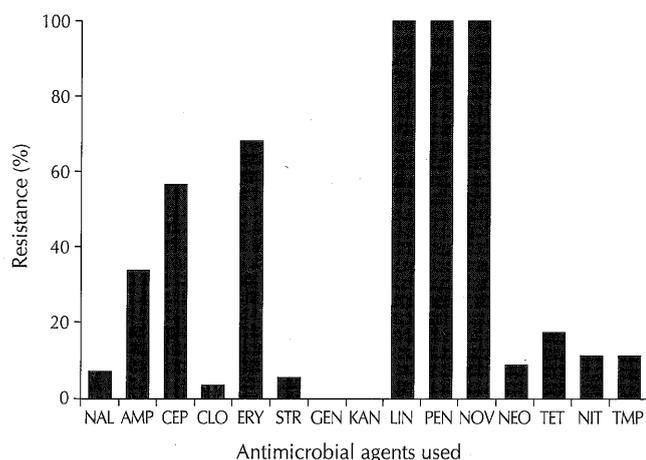


Figure 1: Antimicrobial agents resistance patterns of *Escherichia coli* strains isolated from mastitic milk in Brazil. NAL: nalidixic acid; AMP: ampicillin; CEP: cephalothin; CLO: chloramphenicol; ERY: erythromycin; STR: streptomycin; GEN: gentamycin; KAN: kanamycin; LIN: lincomycin; PEN: penicillin; NOV: novobiocin; NEO: neomycin; TET: tetracycline; NIT: nitrofurantoin; TMP: trimethoprim-sulfadiazine.

DISCUSSION

In the present study 31 *E. coli* strains were isolated from cows with mastitis. Nine different serogroups were found. Many authors have reported a wide range of serogroups in cattle (24, 45, 46). However, so far the serogroups associated with bovines have been essentially different from human serogroups, although sometimes serogroups such as O26, O111 and O119 were also isolated from healthy and diarrheic calves (24, 28, 36, 39).

In this study 100% of the *E. coli* isolates belonged to classical EPEC serogroups and among them O26, O55, O111, O119 represented around 58.0% of the isolates. This result was similar to those previously reported by Corrêa and Marin (13) and Saridakis et al. (39). The isolation of a great number of strains with serogroups O111 and O119 was a cause for concern because they have long been recognized as the most important EPEC serogroups associated with children diarrhea in Brazil (7, 19). Recently, serogroup O111 has been recognized as the most important human STEC serogroup in Brazil (21, 43). However, further serotyping work and molecular characterization are needed to confirm these isolates to be EPEC serotypes, as well as to compare genotypically the strains of animal and human origins. On the other hand, the present results were in contrast with those from a study in another Brazilian region in which 84.6% of the STEC isolates from healthy dairy cattle did not react with any antiserum obtained from a set with the most frequently isolated serotypes from human diarrhea diseases (30).

E. coli that produces Shiga toxins has emerged as a cause of serious human gastrointestinal disease and HUS (34). The most common serotype of STEC implicated worldwide is O157:H7 (34). In addition to this serotype a large number of other STEC strains have been isolated from humans (14) and animals (42).

In Germany during 1989 and 1996 STEC was detected in 6.0% of diarrheic calves (46). Blanco et al. (4, 5) in Spain found STEC in 9.0 to 12.0% of diarrheic calves, but STEC strains have also been isolated from healthy animals (2, 3). In Brazil STEC was detected in 12.0 to 16.1% of diarrheic calves (28, 36). However, Moreira et al. (30) reported 49.0% of STEC strains isolated from healthy dairy cattle. Regions with a high prevalence of STEC in cattle usually have high rates of STEC-associated human infections (34). Thus, it is remarkable that despite the relatively high prevalence of STEC in cattle, the occurrence of STEC-associated human infections in Brazil is uncommon (35, 43).

Table II shows that STEC isolates were observed with different combinations of virulence genes; these results were in agreement with those reported by Wieler et al. (46) in Germany, Sandhu et al. (38) in Canada, Orden et al. (33) in Spain, and Leomil et al. (28) in Brazil. Guth et al. (22) also reported a predominance of the *stx1* gene in Brazil in contrast with a predominance of the *stx2* gene in Argentina among the STEC non-O157 strains isolated from animals and food in both countries.

Some investigators have underlined the strong association between the carriage of the *eae* gene and the capacity of STEC strains to cause severe disease in humans, especially HUS (23). However, the association of *eae* and *stx* genes in STEC isolates from diarrheic calves for pathogenesis is controversial. Wieler et al. (46) determined that the prevalence of both virulence factors in STEC was 70.0%, while Cobbold and Desmarchelier (12) described only 0.8% positive *eae* among STEC isolates. Guth et al. (22) reported that the *eae* gene was infrequently identified among non-O157 STEC strains isolated from cattle in Argentina and Brazil, while Salvadori et al. (36) and Leomil et al. (28) reported a frequency of *eae* carriage of 21.2 and 41.0%, respectively, among the STEC isolates from calves. In the present study the *eae* gene was found predominantly together with *stx1*, but also with *stx2* and *stx1-stx2* isolates. Fifty percent of the STEC isolates possessed the *eae* gene, which was in agreement with the results reported by Leomil et al. (28) in diarrheic and non-diarrheic cattle in Brazil. It is also important because Vaz et al. (43) showed the predominance of *stx1*-positive *eae*-positive isolates among the human STEC isolated from diarrheic children in São Paulo, Brazil.

Three (9.6%) of the *E. coli* isolates included in this study were *eae*-positive non STEC. Other authors also reported the detection of *eae*-positive non STEC strains (29, 33). The pathogenicity of *eae*-positive non STEC in calves is not clear but Fischer et al. (17) showed that an *eae*-positive verotoxigenic-negative strain (serogroup O26) was able to induce experimentally the attaching and effacing lesion. As suggested by Wieler et al. (46) the *eae*-positive *E. coli* strains isolated from cattle may harbor genes that are structurally different from the EPEC genes but functionally identical.

STEC strains isolated from humans and animals have developed antibiotic resistance and many are resistant to multiple antimicrobials commonly used in human and veterinary medicine (18, 40). Schroeder et al. (41) reported the susceptibilities to 14 antimicrobial agents of 408 *E. coli* strains of serogroups O26, O103, O111, O128 and O145 isolated from cattle in the USA. They found 50.0, 47.0, 46.0 and 15.0% of resistance to streptomycin, tetracycline, sulfamethoxazole and ampicillin, respectively, among the isolates, and multidrug resistance was

commonly found among them. A total of 100% of the examined isolates in the present work showed antimicrobial resistance to one or more of the antimicrobial agents. Novobiocin, lincomycin, penicillin, and erythromycin showed the highest rates of resistance with 100, 96.8, 96.8, and 90.3%, respectively (Figure 1). Also 96.8% of the isolates showed resistance to three antimicrobial agents. The rates were quite high; however, Lazaro et al. (27) isolated *E. coli* strains from diarrheic cattle in Rio de Janeiro, Brazil, and reported the isolation of EPEC serogroups and enterotoxigenic *E. coli* among the isolates. They also found high rates of antibiotic resistance among them, with 85.0, 65.0, and 60.0% of resistance to tetracycline, streptomycin, and ampicillin, respectively. They also reported 80.0% of the isolates showing multidrug resistance.

For more than four decades, it has been a common practice on farms to use antimicrobial agents for disease prevention and growth promotion of animals. The widespread use of antimicrobial agents may have promoted the increasing frequency of STEC strains multidrug resistance in bovines (48). Indirect selection for multiresistant strains will contribute to the increase of emerging antimicrobial resistant pathogens and facilitate the spread of resistance by plasmids (41) or by integrons (26) to other bacteria. Ceftiofur is the sole extended-spectrum cephalosporin approved for use in food animals in the USA, and it is not approved for use in human clinical medicine (25). However, Schroeder et al. (41)

reported two *E. coli* isolates from humans which showed resistance to ceftiofur, which suggests the transfer of resistant *E. coli* from food animal to humans. Also Winokur et al. (47) described the transfer of plasmid between *E. coli* and *Salmonella* isolates.

■ CONCLUSION

In this work, the authors have identified the presence of STEC isolates harboring *stx1*, *stx2* and *eae* genes in milk samples from cattle with mastitis, and isolates harboring only *eae* gene were also found. The *E. coli* isolates showed a high level of resistance to antimicrobial agents and multidrug resistance was extremely common. A continued surveillance of *E. coli* isolates from animals and the development of adequate prevention strategies to diminish the spread of multiresistant bacteria and/or the mobile resistance elements are needed for public health reasons.

Acknowledgments

The authors thank the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) for D. Kobori's scholarship. This research was supported by grants from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico and FAPESP.

REFERENCES

1. BARROW P.A., HILL A.W., 1989. The virulence characteristics of strains of *Escherichia coli* isolated from cases of bovine mastitis in England and Wales. *Vet. Microbiol.*, **20**: 35-48.
2. BEUTIN L., GEIER D., STEINRUCH H., ZIMMERMANN S., SCHERITZ F., 1993. Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like) producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. *J. clin. Microbiol.*, **31**: 2483-2488.
3. BEUTIN L., GEIER D., ZIMMERMANN S., KARCH H., 1995. Virulence markers of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* strains originating from healthy domestic animals of different species. *J. clin. Microbiol.*, **33**: 631-635.
4. BLANCO M., BLANCO J., BLANCO J.E., RAMOS J., 1993. Enterotoxigenic, verotoxigenic and necrotoxic *Escherichia coli* isolated from cattle in Spain. *Am. J. vet. Res.*, **54**: 1446-1451.
5. BLANCO M., BLANCO J., BLANCO J.E., GONZALES E.A., ALONSO M.P., MAAS H., JANSEN W.H., 1996. Prevalence and characteristics of human and bovine verotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated in Galicia (North Western Spain). *Eur. J. Epidemiol.*, **12**: 13-19.
6. BUCHANAN R.F., GIBBON N.E., 1994. Manual of determinative bacteriology, 9th Edn. Baltimore, MD, USA, Williams & Wilkins.
7. CAMPOS L.C., WHITTAM T.S., GOMES T.A.T., ANDRADE J.R.C., TRABULSI L.R., 1994. *Escherichia coli* serogroup O111 includes several clones of diarrheagenic strains with different virulence properties. *Infect. Immun.*, **62**: 3282-3288.
8. CHAPMAN P.A., CERDAN-MALO A.T., ELLIN M., ASTON R., HARKIN M.A., 2001. *Escherichia coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on herd and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire, UK. *Int. J. Food Microbiol.*, **64**: 139-150.
9. CHAPMAN P.A., SIDONS C.A., CERDAN-MALO A.T., HARKIN M.A., 1997. A 1-year study of *Escherichia coli* O157 in cattle, sheep, pig, and poultry. *Epidemiol. Infect.*, **119**: 245-250.
10. CHART H., SMITH H.R., LA RAGIONE R.M., WOODWARD M.J., 2000. An investigation into the pathogenic properties of *Escherichia coli* strains BLR, BL21, DH5 α and EQ1. *J. appl. Microbiol.*, **89**: 1048-1055.
11. CHINA B., PIRSON V., MAINIL J., 1996. Typing of bovine attaching and effacing *Escherichia coli* by multiplex in vitro amplification of virulence-associated genes. *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**: 3462-3465.
12. COBBOLD R., DESMARCHELIER P., 2000. A longitudinal study of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) prevalence in three Australian dairy herds. *Vet. Microbiol.*, **71**: 125-137.
13. CORREA M.G.P., MARIN J.M., 2002. O-serogroups, *eae* gene and EAF plasmid in *Escherichia coli* isolates from cases of bovine mastitis in Brazil. *Vet. Microbiol.*, **85**: 125-132.
14. EKLUND M., SCHEUTZ F., SIITONEN A., 2001. Clinical isolates of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: serotypes, virulence characteristics, and molecular profiles of strains of the same serotype. *J. clin. Microbiol.*, **39**: 2829-2834.
15. EWING W.H., 1986. Edwards and Ewing identification of Enterobacteriaceae, 4th Edn. New York, USA, Elsevier Science.
16. FANG W., PYORALA S., 1996. Mastitis causing *Escherichia coli* serum sensitivity and susceptibility to selected antibacterials in milk. *J. Dairy Sci.*, **79**: 76-82.
17. FISCHER J., MADDOX C., MAXLEY R., KINDEN D., MILLER M., 1994. Pathogenicity of a bovine attaching effacing *Escherichia coli* isolate lacking Shiga-like toxins. *Am. J. vet. Res.*, **55**: 991-999.

18. GOMES T.A.T., RASSI V., MACDONALD K.L., RAMOS S.R.T.S., TRABULSI L.R., VIEIRA M.A.M., GUTH B.E.C., CANDEIAS J.A.N., IVEY C., TOLEDO M.R.F., BLAKE P.A., 1991. Enteropathogens associated with acute diarrheal disease in urban infants in São Paulo, Brazil. *J. infect Dis.*, **164**: 331-337.
19. GONZALES E.A., BLANCO J., 1989. Serotypes and antibiotic resistance of verotoxigenic (VTEC) *Escherichia coli* strains isolated from calves with diarrhea. *FEMS Microbiol. Lett.*, **51**: 31-36.
20. GREEN M., BRADLEY A.J., 1998. Coliform mastitis: An evolving problem? *Cattle Pract.*, **6**: 91-92.
21. GUTH B.E.C., RAMOS S.R.T.S., CERQUEIRA A.M.F., ANDRADE J.R.C., GOMES T.A.T., 2002. Phenotypic and genotypic characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from children in São Paulo, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **97**: 1085-1089.
22. GUTH B.E.C., CHINEN I., MILIWEBSKY E., CERQUEIRA A.M.F., CHILLEM G., ANDRADE J.R.C., BASCHKIER A., RIVAS M., 2003. Serotypes and Shiga toxin genotypes among *Escherichia coli* isolated from animals and food in Argentina and Brazil. *Vet. Microbiol.*, **92**: 335-349.
23. GYLES C., JOHNSON A., GAO K., ZIBELI D., PIERARD S., ALEKSIC S., BOERLIN P., 1998. Association of enterohemorrhagic *Escherichia coli* hemolysin with serotypes of Shiga-like toxin-producing *E. coli* of human and bovine origins. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**: 4134-4141.
24. HOLLAND R.E., WILSON R.A., HOLLAND M.S., YAZBASIYAN-GURKAN Y., MULLANEY T.P., WHITE D.G., 1999. Characterization of eae+ *Escherichia coli* isolated from healthy and diarrhoeic calves. *Vet. Microbiol.*, **66**: 251-263.
25. HORNISH R.E., KOTASI S.F., 2002. Cephalosporins in veterinary medicine ceftiofur use in food animals. *Curr. top. Med. Chem.*, **2**: 717-731.
26. JONES M.E., PETERS E., WEERSINK A.M., FLUIT A., VERHOEF J., 1997. Widespread occurrence of integrons causing multiple antibiotic resistance in bacteria. *Lancet*, **349**: 1742-1743.
27. LAZARO N.S., RODRIGUES D.P., MENDONCA C.L., DUQUE V.M., PASSOS R.F.B., HOFER E., 1994. *Escherichia coli* enteropatogênica isolada de bezerras no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Med. vet.*, **16**: 55-61.
28. LEOMIL L., AIDAR-UGRINOVICH L., GUTH B.E.C., IRINO K., VETTORATO M.P., ONUMA D.L., DE CASTRO A.F.P., 2003. Frequency of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolates among diarrheic and non-diarrheic calves in Brazil. *Vet. Microbiol.*, **97**: 103-109.
29. MAINIL J.G., JACQUEMN E., KAECKENBEECK A., POHL A., 1993. Association between the effacing gene (eae) and the Shiga-like toxin-producing genes in *Escherichia coli* isolates from cattle. *Am. J. vet. Res.*, **54**: 1064-1068.
30. MOREIRA C.N., PEREIRA M.A., BROD C.S., RODRIGUES D.P., CARVALHAL J.B., ALEIXO A.G., 2003. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolated from healthy dairy cattle in southern Brazil. *Vet. Microbiol.*, **93**: 179-183.
31. NATARO J.P., KAPER J.B., 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*, **11**: 142-201.
32. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS, 2000. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard, 7th Edn. Wayne, PA, USA, NCCLS.
33. ORDEN J.A., RUIZ-SANTA-QUITERIA J.A., CID D., GARCIA S., SANZ R., DE LA FUENTE R., 1998. Verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) and eae-positive non VTEC in 1-30-day-old diarrhoeic dairy calves. *Vet. Microbiol.*, **63**: 239-248.
34. PATON J.C., PATON A.W., 1998. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin producing *Escherichia coli* infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, **11**: 450-479.
35. ROSA A.C.P., MARIANO A.T., PEREIRA A.M.S., TIBANA A., GOMES T.A.T., ANDRADE J.R.C., 1998. Enteropathogenicity markers in *Escherichia coli* isolated from infants with acute diarrhoea and healthy controls in Rio de Janeiro, Brazil. *J. Med. Microbiol.*, **47**: 781-790.
36. SALVADORI M.R., VALADARES G.F., LEITE D.S., BLANCO J., YANO T., 2003. Virulence factors of *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea in Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, **34**: 230-235.
37. SAMBROOK J., FRITCH E.F., MANIATIS T., 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. New York, USA, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
38. SANDHU K.S., CLARKE R.C., MCFADDEN K., BROUWER A., LOUIE M., WILSON J., LIOR H., GYLES C.L., 1996. Prevalence of the eae A gene in verotoxigenic *Escherichia coli* strains from dairy cattle in Southwest Ontario. *Epidemiol. Infect.*, **116**: 1-7.
39. SARIDAKIS H.O., EL GARED S.A., VIDOTO M.C., GUTH B.E.C., 1997. Virulence properties of *Escherichia coli* strains belonging to enteropathogenic (EPEC) serogroups isolated from calves with diarrhea. *Vet. Microbiol.*, **54**: 145-153.
40. SCHMIDT H., VON MALDEGHEM J., FROSCH M., KARCH H., 1998. Antibiotic susceptibility of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 and non-O157 strains isolated from patients and healthy subjects in Germany during 1996. *J. Antimicrob. Chemother.*, **42**: 548-550.
41. SCHROEDER C.M., MENG J., ZHAO S., DEBROY C., TORCOLINI J., ZHAO C., MCDERMOTT P.F., WAGNER D.D., WALKER R.D., WHITE D.G., 2002. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O26, O103, O111, O128 and O145 from animals and humans. *Emerg. infect. Dis.*, **8**: 1409-1414.
42. SYNGE B.A., 2000. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli*: a veterinary view. *J. appl. Microbiol. Symp.*, **88**: 31S-37S.
43. VAZ T.M.I., IRINO K., KATO M.A.M.F., DIAS A.M.G., GOMES T.A.T., MEDEIROS M.L.C., ROCHA M.M.M., GUTH B.E.C., 2004. Virulence properties and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in São Paulo, Brazil, from 1976 through 1999. *J. clin. Microbiol.*, **42**: 903-905.
44. WANI S.A., BHAT M.A., SAMANTA I., NISHIKAWA Y., BUCHH A.S., 2003. Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) from calves and lambs with diarrhoea in India. *Lett. appl. Microbiol.*, **37**: 121-126.
45. WELLS J.G., SHIPMAN L.D., GREENE K.D., SOWERS E.G., GREEN J.H., CAMERON D.N., DOWNES F.P., MARTINI M.L., GRIFFIN P.M., OSTROFF S.M., POTTER M.E., TAUXE R.V., WACHSMUTH I.K., 1991. Isolation of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other Shiga-like-toxin-producing *Escherichia coli* from dairy cattle. *J. clin. Microbiol.*, **29**: 985-989.
46. WIELER L.W., WIELER E., ERPENSTEIN C., SCHLAPP T., STEINRUCK H., BAUERFEIND R., BYOMI A., BALJER G., 1996. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from bovine association of adhesion with carriage of eae and other genes. *J. clin. Microbiol.*, **34**: 2980-2984.
47. WINOKUR P.L., VONSTEIN D.L., HOFFMAN I.L., UHLENHOPP E.K., DOERN G.V., 2001. Evidence for transfer of CMY-2 AmpC beta-lactamase plasmids between *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from food animals and humans. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45**: 2716-2722.
48. ZHAO S., WHITE D.G., AYERS S., FRIEDMAN S., ENGLISH L., WAGNER D., GAINES S., MENG H., 2001. Identification and characterization of integron-mediated antibiotic resistance among Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates. *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**: 1558-1564.
49. ZSCHOCK M., HAMANN H.P., KLOPPERT B., WOLTER W., 2000. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* in feces of healthy dairy cows, sheep and goats: prevalence and virulence properties. *Lett. appl. Microbiol.*, **31**: 203-208.

Reçu le 03.03.2004, accepté le 01.10.2004

Résumé

Kobori D., Rigobelo E.C., Macedo C., Marin J.M., Avila F.A. Caractéristiques de la virulence d'*Escherichia coli*, productrice de la toxine type Shiga, isolée à partir de cas de mammite bovine au Brésil

Sur 528 échantillons de lait provenant de vaches atteintes de mammites, 31 (5,8 p. 100) avaient des souches d'*Escherichia coli*, agent responsable de mammites. Ces souches ont été analysées afin d'évaluer la présence de gènes producteurs de toxine type Shiga (*stx1* et *stx2*) et d'intimine (*eae*). Par la technique de la PCR, 20 (64,5 p. 100) des souches ont présenté les gènes de toxine type Shiga (13 le gène *stx1*, 3 le gène *stx2* et 4 le gène *stx1-stx2*). Trois (9,65 p. 100) des souches d'*E. coli* étudiées ont été *eae* positives non-productrices de la toxine type Shiga. Les souches d'*E. coli* ont également été examinées pour tester leur résistance à 15 agents antimicrobiens. La résistance la plus forte a été observée pour la novobiocine (100 p. 100), la lincomycine (96,8 p. 100), la pénicilline (96,8 p. 100) et l'érythromycine (90,3 p. 100). Toutes les souches étudiées ont montré une résistance à un agent antimicrobien au moins et une résistance multiple à plusieurs antibiotiques a été très fréquente (96,8 p. 100).

Mots-clés : Bovin – Vache laitière – *Escherichia coli* – Mammite – Pouvoir pathogène – PCR – Brésil.

Resumen

Kobori D., Rigobelo E.C., Macedo C., Marin J.M., Avila F.A. Propiedades de virulencia de la *Escherichia coli* productora de toxina Shiga aislada de vacas de leche con mastitis en Brasil

De las 528 muestras de leche obtenidas a partir de vacas de leche con mastitis, 31 (5,8%) presentaron cepas de *Escherichia coli*, agente causal de la mastitis. Estas cepas fueron estudiadas para la presencia de genes productores de la toxina Shiga (*stx1* y *stx2*) e intimina (*eae*). Veinte cepas fueron detectadas mediante PCR con genes de toxina Shiga (13 con el gen *stx1*, 3 con el gen *stx2* y 4 con los genes *stx1-stx2*). Tres (9,6%) de las cepas de *E. coli* estudiadas fueron *eae* positivas no productoras de la toxina Shiga. Las cepas de *E. coli* también fueron examinadas para la resistencia a 15 agentes antimicrobianos. La resistencia más frecuentemente observada fue a la novobiocina (100%), lincomicina (96,8%), penicilina (96,8%) y eritromicina (90,3%). Todas las cepas examinadas mostraron resistencia al menos a un agente antimicrobiano y la resistencia múltiple a drogas fue muy común (96,8%).

Palabras clave: Ganado bovino – Vaca lechera – *Escherichia coli* – Mastitis – Patogenicidad – PCR – Brasil.

Application de la réaction de polymérisation en chaîne au diagnostic direct de la chlamydie abortive (*Chlamydomphila abortus* et *Chlamydomphila pecorum*) des petits ruminants au Maroc

S. El Jaï^{1*} A.H. Remmal¹ A. Rodolakis²
A. Souriau² A.H. El Idrissi³

Mots-clés

Ovin – Caprin – *Chlamydomphila abortus* – *Chlamydomphila pecorum* – Ornithose – PCR – Maroc.

Résumé

Dans le but d'améliorer le diagnostic direct de la chlamydie abortive des petits ruminants, 225 écouvillons vaginaux prélevés de brebis et de chèvres ayant avorté ont été testés pour la recherche d'ADN de *Chlamydomphila* en utilisant deux types de PCR, une PCR (CTU/CTL) spécifique des Chlamydiales et une PCR (CPS/CPC) spécifique des espèces *Chlamydomphila abortus* et *Chlamydomphila pecorum*. Le gène *omp1* codant pour la protéine majeure de la membrane externe des Chlamydiales a été détecté par la PCR (CTU/CTL) dans 65 échantillons (29 p. 100) des prélèvements analysés dont 80 p. 100 avaient été réalisés dans un délai inférieur à quatre semaines après l'avortement. La majorité des prélèvements positifs par la PCR (CTU/CTL) (69 p. 100) provenaient de troupeaux reconnus positifs par le test de fixation du complément. La PCR spécifique d'espèce appliquée aux prélèvements positifs par PCR (CTU/CTL) n'a permis de détecter les fragments attendus de *Chlamydomphila abortus* (1 800 pb) et de *Chlamydomphila pecorum* (580 pb) que dans quatre des 65 prélèvements testés. Les autres prélèvements ont été négatifs (63 p. 100) ou non concluants (31 p. 100) avec des bandes non spécifiques de tailles intermédiaires. La restriction enzymatique des produits d'amplification (PCR-CTU/CTL) a révélé une grande diversité génétique parmi les 65 prélèvements testés. Seuls 15 prélèvements ont montré un profil de digestion typique de *Cp. abortus*, mais le reste des prélèvements (77 p. 100) ont montré des profils de *Cp. pecorum* ou proches de cette espèce. La culture sur cellules McCoy de 26 écouvillons vaginaux et produits d'avortements provenant d'animaux avortant et confirmés positifs pour la chlamydie (sérologie et PCR) a révélé la présence de *Chlamydomphila* dans huit prélèvements dont sept ont été caractérisés de type *Cp. abortus* et un de type *Cp. pecorum*. Les prélèvements restants n'ont donné aucun effet cytopathogène après cinq passages successifs, ou ils étaient contaminés. D'autres études ont été menées sur la souche *Cp. pecorum*, désignée M14, isolée pour la première fois au Maroc, pour tester sa virulence chez la souris. Ces résultats ont suggéré une variabilité génétique des souches abortives et une association de *Chlamydomphila pecorum* aux avortements chez les ovins et les caprins au Maroc. Cette diversité génétique mérite d'être étudiée davantage pour orienter les stratégies de vaccination contre la chlamydie abortive au Maroc.

1. Département de Biologie, université Mohammed Ben Abdellah, Fès, Maroc

2. Laboratoire de Pathologie infectieuse et immunologie, Inra Nouzilly, Tours, France

3. Département de Microbiologie, immunologie et maladies contagieuses, Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, BP 6202-Instituts, 10101 Rabat, Maroc

* Auteur pour la correspondance

Tél. : +212 61 08 88 71 ; e-mail : jasmin3332001@yahoo.fr

INTRODUCTION

Au Maroc, l'élevage des petits ruminants représente l'une des principales activités de la population dans le monde rural. Il y constitue la principale source de revenu pour les petits et moyens agriculteurs qui dépendent essentiellement de la diversité de production de cet élevage, notamment la viande, la laine, le lait et le cuir.

En plus des contraintes climatiques liées à la sécheresse, les petits ruminants, notamment dans les zones pastorales, sont soumis sans cesse aux avortements en série affectant directement la productivité et la rentabilité de l'élevage. Des enquêtes menées dans plusieurs régions du Maroc rapportent des taux d'avortements variant de 6 à 27 p. 100 selon les régions et les années (2, 7, 9, 10). Les analyses sérologiques menées à l'occasion de ces enquêtes révèlent l'implication d'infections multiples, mais la chlamydie reste la principale pathologie associée aux foyers d'avortements investis. En plus des dégâts économiques importants qu'elle génère, cette maladie est considérée comme une zoonose pouvant provoquer des fausses couches chez des femmes ayant participé à la mise bas de brebis ou de chèvres atteintes de la chlamydie (4, 21, 31).

Les agents responsables de cette pathologie appartiennent à la famille des Chlamydiaceae qui comprend, selon une récente taxonomie, deux genres, *Chlamydia* (C.) et *Chlamydomphila* (Cp.) avec plusieurs espèces (11). Les espèces les plus impliquées en pathologie des petits ruminants sont représentées par *Chlamydomphila abortus* (par ex., *Chlamydia psittaci*, sérotype 1) et *Chlamydomphila pecorum* (par ex., *Chlamydia pecorum*, sérotype 2). La première espèce est généralement reconnue comme souche abortive et la deuxième comme souche d'origine intestinale chez les animaux sains (18) ; les deux espèces peuvent infecter le placenta des petits ruminants et être par conséquent responsables des avortements (5, 11, 24) bien que très peu d'isolements de *Cp. pecorum*, à partir d'avortements de ruminants, ait été rapportés dans la littérature (32). En revanche, *Cp. pecorum* a été isolé d'avortements chez les koalas (15). Les symptômes cliniques de la chlamydie abortive n'étant pas toujours évocateurs, le diagnostic clinique reste présumptif et doit être confirmé par le diagnostic de laboratoire. Ce dernier repose sur la recherche directe du germe dans les produits d'avortements ou dans les sécrétions vaginales, associée à la recherche des anticorps anti-*Chlamydia* dans le sérum des animaux infectés (23). Cependant, les techniques sérologiques couramment utilisées telles que la réaction de fixation du complément et le test Elisa présentent des limites dans la mesure où elles ne détectent que les anticorps communs à la famille des Chlamydiaceae et ne permettent pas de différencier entre les souches d'origine abortive (*Cp. abortus*) et celles d'origine intestinale (*Cp. pecorum*) dont la présence est considérée comme normale dans le tube digestif. Pour améliorer le diagnostic sérologique de la chlamydie abortive, un test Elisa utilisant une protéine recombinante comme antigène a été développé et évalué pour le diagnostic sérologique de la chlamydie abortive (29). Le test semble avoir une sensibilité et une spécificité respectivement de 90,9 et de 85,9 p. 100 (3) mais n'est disponible que depuis peu pour les laboratoires vétérinaires.

Actuellement, le diagnostic moléculaire des infections à *Chlamydomphila* est en pleine évolution. Les techniques de biologie moléculaire et l'amplification génique par réaction de polymérisation en chaîne (PCR), appliquées à la recherche des acides nucléiques chlamydiens, apportent une contribution nouvelle au diagnostic de la chlamydie abortive (8, 13, 16, 28). La connaissance de la séquence du gène *omp1* codant pour la protéine majeure de la membrane externe (MOMP : *major outer membrane protein*), protéine très conservée chez le genre *Chlamydomphila*, a permis de développer des amorces spécifiques pour l'amplification génique de l'ADN *Chlamydomphila* (14, 18, 33). D'autres séquences ont été également identifiées pour augmenter la sensibilité de détection de cette bactérie (16) mais aussi pour pouvoir amplifier de façon sélective les gènes de *Cp. abortus* et de *Cp. pecorum* (27, 28). Les résultats prometteurs de ces travaux ont incité les auteurs à mener cette étude pour mettre au point et évaluer la technique de PCR comme outil de diagnostic direct, rapide et spécifique de la

chlamydie abortive, en utilisant des prélèvements cliniques collectés à partir de brebis et de chèvres ayant avorté. Cet outil devrait faciliter l'identification et la caractérisation des *Chlamydomphila* associés aux avortements chez les ovins et les caprins au Maroc, une étape préalable pour développer et instaurer des mesures de prévention efficaces et adaptées au contexte local.

■ MATERIEL ET METHODES

Collecte et traitement des prélèvements

Lors d'enquêtes épidémiologiques des foyers d'avortements, réalisées pendant trois campagnes agricoles (1998, 1999 et 2000), 225 écouvillons vaginaux de brebis et de chèvres provenant de 24 troupeaux ont été collectés pour le diagnostic direct de la chlamydie abortive. Seuls les prélèvements réalisés sur des femelles ayant avorté dans un délai variant d'un à 60 jours précédant la visite ont été considérés dans ce travail. Le statut sérologique des troupeaux enquêtés par rapport à l'infection à *Chlamydomphila* fait l'objet d'une autre publication (10).

Les écouvillons vaginaux ont été acheminés le même jour au laboratoire dans des conditions frigorifiques. Au laboratoire, les écouvillons ont été transférés dans des cryotubes contenant chacun 800 µl du milieu de conservation (30) [saccharose (74,6 g/l), KH₂PO₄ (0,512 g/l), K₂HPO₄ (1,237 g/l), acide L-glutamique (0,721 g/l), gentamicine, nystatine (50 µg/ml), vancomycine, streptomycine (100 µg/ml)] et agités au vortex pendant 30 s. Les échantillons ainsi préparés ont été directement analysés ou conservés à -70 °C jusqu'à leur utilisation.

Souches témoins

Deux souches ovines d'origine française, *Cp. abortus* (souche AB7) d'origine abortive (12) et *Cp. pecorum* (souche iB1) isolée de fèces de brebis saine (6), ont été utilisées comme souches témoins dans ce travail. Elles ont été cultivées sur œufs embryonnés et les membranes vitellines infectées ont été récupérées, broyées et stockées à -70 °C.

Extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN des échantillons a été réalisée par la technique rapide avec traitement à la protéinase K. Un volume de 50 µl du prélèvement a été transvasé dans un tube stérile auquel ont été rajoutés 30 µl de protéinase K à 2 mg/ml, 30 µl de tampon de PCR 10X et 190 µl d'eau pure. Les tubes ont été agités au vortex et incubés dans un bain-marie à 56 °C pendant 90 min, puis portés dans un bain-marie bouillant (100 °C) pendant 10 min afin de dénaturer la protéinase K. Au terme de ce traitement, l'ADN libéré a été utilisé dans les réactions d'amplification génique. Les membranes infectées par les souches témoins (AB7 et iB1) ont été également lysées de la même façon. Les lysats obtenus ont été considérés comme des témoins positifs pour la PCR.

Réactions d'amplification

Tous les écouvillons vaginaux ont été analysés par PCR (CTU/CTL) spécifique des Chlamydiales pour la détection directe du gène *omp1* codant pour la MOMP. Les prélèvements positifs ont été par la suite testés par une PCR multiplex pour déterminer les espèces de *Chlamydomphila* impliquées.

La PCR (CTU/CTL) développée par Denamur et coll. (8), utilisant une paire d'amorces spécifiques pour l'amplification d'un fragment de 1 050 pb du gène codant pour la MOMP, a été adoptée avec modification. Un volume de 2,5 µl d'une préparation d'ADN a été analysé par PCR dans un volume réactionnel final de 25 µl

contenant 50 μM de chaque dNTP (dATP, dTTP, dGTP, dCTP), 200 nmoles de chacune des amorces CTU et CTL (CTU, 5'-AT GA AA AC TC TT GA AA TC GG-3'; CTL, 5'-CA AG AT TT TC TA GA (T/C)T TC AT (C/T)T TG TT-3'), 1,5 mM de MgCl_2 et 0,5 U de la Taq polymérase *Thermus aquaticus* (Boehringer, Mannheim). Le mélange a été couvert de 100 μl d'huile minérale. Les tubes ont été portés dans un thermocycleur de type PCT-100 (MJ Research). Les échantillons ont subi une étape de préamplification à 94 °C pendant 10 min pour dénaturer l'ADN. Ensuite, ils ont été soumis à 40 cycles d'amplification. Chaque cycle a consisté en une dénaturation de 30 s à 94 °C, une hybridation des amorces avec l'ADN cible pendant 30 s à 50 °C, une extension des séquences pendant 90 s à 72 °C. A la fin des 40 cycles, les échantillons ont été incubés pendant 10 min à 72 °C pour une élongation finale des fragments amplifiés.

Pour caractériser l'espèce, la PCR multiplex (CPS/CPC) décrite par Sidi Boumedine et coll. (28) a été effectuée sur les prélèvements positifs par PCR (CTU/CTL). Deux couples d'amorces, l'un constitué d'amorces spécifiques de *Cp. abortus* (CPS/F : 5'-GA AA CT CT TT GC AG CA TC CC-3'; et CPS/B : 5'-AA GC CA TA CT CC CG AC CA AG-3') et l'autre d'amorces spécifiques de *Cp. pecorum* (CPC/F : 5'-TT CG AC TT CG CT TC TT AC GC-3'; et CPC/B : 5'-TG AA GA CC GA GC AA AC CA CC-3') ont été utilisés pour l'amplification sélective de deux fragments de taille respective de 1 800 pb et 580 pb. La préparation de la réaction et les conditions d'amplification ont été identiques à celles de la PCR (CTU/CTL) mais la température d'hybridation des amorces avec l'ADN cible a été fixée après plusieurs essais à 60 °C. Deux contrôles positifs (ADN souche AB7 et iB1) et deux négatifs (tampon de lyse et H_2O pure) ont été inclus systématiquement dans toutes les réactions d'amplification.

Visualisation des produits de PCR par électrophorèse

Afin de visualiser les produits d'amplification, un volume de 18 μl de la réaction de PCR mélangé à 2 μl de tampon de chargement (0,25 p. 100 de bleu de bromophénol, 40 p. 100 de saccharose) a été analysé par électrophorèse horizontale sur gel d'agarose à 1,5 p. 100 dans le tampon TAE 1X (pH 8) [TAE 50X : Tris 2M, Edta 50 mM (pH 8), acide acétique glacial 57,1 ml]. Le marqueur standard, Ladder DNA 1Kp, 100- pb (Gibco), a été utilisé pour apprécier la taille moléculaire des produits d'amplification. La migration a été effectuée pendant 1 h 30 sous un voltage de 75 V. Le gel a été ensuite coloré pendant 30 min dans un bain de bromure d'Éthidium (0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$), puis lavé pendant 30 min dans du tampon TAE 1X. Le gel a été photographié à l'aide d'un appareil polaroïd adapté sous les UV d'un transilluminateur (320 nm).

Analyse des produits d'amplification par restriction enzymatique

Les produits d'amplification du gène par PCR (CTU/CTL) ont été analysés par digestion enzymatique à l'aide de l'endonucléase *AluI* selon la méthode décrite par Denamur et coll. (8). Un volume de 30 μl de chaque produit d'amplification a été digéré pendant 16 h à 37 °C, par cinq unités de *AluI* (Boehringer) dans un volume final de 40 μl en présence du tampon spécifique de l'enzyme. Les produits de digestion et le marqueur de taille moléculaire (marqueur V de Boehringer) ont été analysés par électrophorèse verticale sur gels de polyacrylamide à 8 p. 100 (W/V) ou par électrophorèse horizontale sur gel d'agarose (4 p. 100) à faible point de fusion. Les voltages utilisés, pour la migration, ont été respectivement de 20 mA pendant 30 min, puis 60 mA pendant 2 h 30 et 45 V pendant 2 h 30. Les gels ont été colorés et photographiés comme décrit précédemment.

Culture des prélèvements et isolement des souches de Chlamydia

L'isolement des *Chlamydia* a été tenté pour 26 prélèvements (écouvillons, produits d'avortements tels les cotylédons et foies d'avorton) provenant de troupeaux ovins et caprins reconnus positifs pour la chlamydie (sérologie positive et/ou PCR positive) (tableau I). Les prélèvements ont été cultivés sur cellules McCoy (23). Les prélèvements susceptibles de contenir des *Chlamydia* ont été également traités par la technique des plages de lyse (22) au laboratoire d'Immunologie et de pathologie infectieuse à l'Inra de Tours, France. L'infection des tapis cellulaires par *Chlamydia* a été mise en évidence par la coloration à l'orange d'acridine (23) et à l'aide des techniques d'immunofluorescence (IF) et de microimmunofluorescence (MIF) (23) en utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques au genre *Chlamydia* (RC6C4, LC1B11, AD5A8) et aux deux espèces *Cp. abortus* (CA5G11, BA6H6, Ch.Type1, Mel. S1) et *Cp. pecorum* (3DA1A7, Ch. Type 2).

■ RESULTATS

PCR (CTU/CTL) spécifique du gène omp1

Sur les 225 écouvillons analysés, 65 échantillons dont 30 d'origine ovine (46 p. 100) et 35 d'origine caprine (54 p. 100) ont été révélés positifs pour le fragment (1 050 pb) spécifique du gène de la protéine MOMP (figure 1). Soit un taux global de 29 p. 100 des échantillons révélés positifs par PCR (CTU/CTL). La technique a révélé au moins un prélèvement positif dans 17 troupeaux sur les 24 analysés, soit un taux de positivité de 71 p. 100. Le nombre de prélèvements positifs a varié en fonction des troupeaux, représentant 5 à 100 p. 100 des prélèvements analysés (tableau II).

Il a été noté que 80 p. 100 des prélèvements positifs ont été réalisés dans un délai inférieur à quatre semaines après l'avortement et seulement 20 p. 100 entre quatre à huit semaines. Les résultats de la PCR en fonction de l'espèce et du délai des prélèvements après l'avortement ont été récapitulés au tableau III.

La répartition des résultats de la PCR en fonction du statut sérologique des troupeaux a été présentée au tableau IV. Il a été constaté

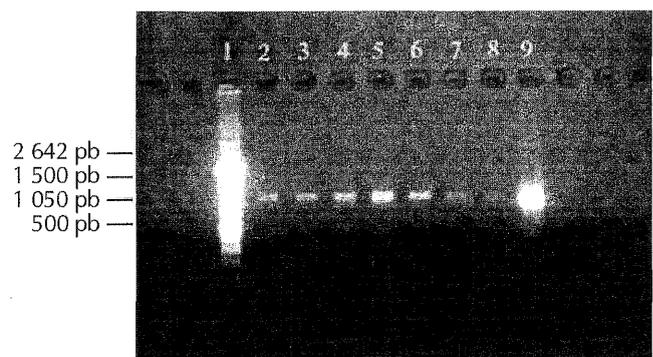


Figure 1 : analyse par électrophorèse sur gel d'agarose 1% des produits de PCR (CTU/CTL). Colonne 1 : DNA Ladder 100 pb (Gibco BRL) ; colonne 2 : B 80/K/16/5/98 ; colonne 3 : C 108/Z/28/10/98 (M14) ; colonne 4 : B 16/K/24/2/98 ; colonne 5 : B Z/27/11/99 ; colonne 6 : iB1 (*Cp. pecorum*) ; colonne 7 : B132/K/25/11/98 ; colonne 8 : C Z/6/2/00 ; colonne 9 : AB7 (*Cp. abortus*). Les valeurs à gauche du gel sont les tailles du marqueur en paires de bases. B : brebis ; C : chèvre. B et C sont suivis des références de troupeaux d'origine (tableau II).

Tableau I

Origines et caractéristiques des prélèvements cultivés

Echantillon	Type de prélèvement	Espèce	Sérologie Titre	PCR		Culture cellulaire (nb. de passages)	IF et MIF
				CTU/CTL	CPS/CPC		
C12/Z/20/2/98	Ecouvillon	Chèvre	-	+	-	+ (P4)	<i>Cp. abortus</i>
B16/K/24/2/98	Ecouvillon	Brebis	-	+	1 400 pb/400 pb	-	Négatif
B80/K/16/5/98	Ecouvillon	Brebis	-	+	+ 1 800 pb	+ (P4)	<i>Cp. abortus</i>
C108/Z/28/10/98 (M14)	Ecouvillon	Chèvre	-	+	+ 580 pb	+ (P3)	<i>Cp. pecorum</i>
C126/Z/11/11/98	Ecouvillon	Chèvre	-	+	-	Contamination	Négatif
B130/K/25/11/98	Ecouvillon	Brebis	-	+	+ 1 800 pb	+ (P5)	<i>Cp. abortus</i>
B132/K/25/11/98	Ecouvillon	Brebis	Sup 1/320	+	~ 600 pb	Contamination	Négatif
B133/K/25/11/98	Ecouvillon	Brebis	Sup 1/320	+	~ 600 pb	Contamination	Négatif
B135/K/25/11/98	Ecouvillon	Brebis	-	+	~ 600 pb	Contamination	Négatif
C1/S/7/2/99	Ecouvillon	Chèvre	Sup 1/160	+	-	+ (P4)	<i>Cp. abortus</i>
C6/S/7/2/99	Ecouvillon	Chèvre	Sup 1/160	+	-	Contamination	Négatif
B36/T/19/2/99	Cotylédon, foie d'avorton	Brebis	/	+	-	-	Négatif
B38/T/19/2/99	Cotylédon	Brebis	/	+	+ 1 800 pb	+ (P4)	<i>Cp. abortus</i>
C5/K1/3/2/00	Ecouvillon	Chèvre	-	+	~ 600 pb	Contamination	Négatif
C9/K1/3/2/00	Ecouvillon	Chèvre	-	+	~ 600 pb	-	Négatif
C14/K2/3/2/00	Ecouvillon	Chèvre	+ 1/80	+	-	-	Négatif
B19/K3/3/2/00	Ecouvillon	Brebis	+ 1/80	+	+ 1 800 pb	+ (P3)	<i>Cp. abortus</i>
Bcoi/19/K3/3/2/00	Cotylédon	Brebis	/	+	+ 1 800 pb	+ (P3)	<i>Cp. abortus</i>
C38/Z/6/2/00	Ecouvillon	Chèvre	-	+	-	-	Négatif
C39/Z/6/2/00	Ecouvillon	Chèvre	+ 1/80	+	-	-	Négatif
C40/Z/6/2/00	Ecouvillon	Chèvre	-	+	-	Contamination	Négatif
C61/K1/2/2/00	Ecouvillon	Chèvre	-	+	-	-	Négatif
C67/K1/2/2/00	Ecouvillon	Chèvre	1/40	+	-	-	Négatif
C68/K1/2/2/00	Ecouvillon	Chèvre	-	+	-	Contamination	Négatif
C69/K1/2/2/00	Ecouvillon	Chèvre	-	Frottis	-	-	Négatif
C93/Z/1/12/00	Ecouvillon	Chèvre	-	+	+ 1 800 pb	+ (P4)	<i>Cp. abortus</i>

PCR (CTU/CTL) : PCR spécifique des Chlamydiales

PCR (CPS/CPC) : PCR spécifique des espèces *Chlamydomphila abortus* et *Cp. pecorum*

IF : immunofluorescence ; MIF : microimmunofluorescence

que 45 (69 p. 100) des prélèvements positifs par PCR provenaient de troupeaux à sérologie positive et seulement 20 (31 p. 100) étaient issus de troupeaux reconnus négatifs par la fixation du complément.

PCR multiplex spécifique d'espèce

L'application de la PCR (CPS/CPC) aux 65 prélèvements positifs pour la PCR (CTU/CTL) a mis en évidence la présence d'une population hétérogène constituée de fragments de tailles variables (figure 2) : trois prélèvements, deux collectés à partir de deux brebis et un collecté à partir d'une chèvre appartenant à trois troupeaux différents, ont présenté un fragment de 1 800 pb, spécifique de *Cp. abortus*. Un seul prélèvement a présenté un fragment de 580 pb, spécifique de *Cp. pecorum* ; il provenait d'une chèvre dont l'écouvillon a été réalisé huit jours après l'avortement. Une ou plusieurs bandes de tailles différentes (1 700 pb, 1 500 pb, 800 pb et inférieure à 580 pb) ont été amplifiées dans 20 prélèvements (figure 2). Aucun fragment n'a été détecté dans les 41 prélèvements restants (tableau V).

Digestion enzymatique des produits d'amplification

Le traitement par l'enzyme de restriction (*AluI*) des produits d'amplification de la PCR (CTU/CTL) a révélé plusieurs profils de

digestion (figure 3). Sur les 65 prélèvements analysés, 15 ont présenté un profil identique à celui de *Cp. abortus* (souche AB7) avec les coupures de tailles attendues (198 pb, 171 pb, 159 pb, 84 pb, 82 pb et 81 pb). En utilisant la PCR multiplex (CPS/CPC), parmi ces prélèvements, trois ont présenté le fragment de 1 800 pb, 7 ont donné des bandes intermédiaires et 5 n'ont pas réagi. Seul le prélèvement de chèvre qui a été caractérisé comme appartenant à l'espèce *Cp. pecorum* par la PCR multiplex (CPS/CPC) a présenté un profil de digestion avec une bande de 180 pb caractéristique des souches de *Cp. pecorum*, mais différent de celui de la souche témoin iB1 (figure 3, profil 4). Il est à noter qu'une souche de type *Cp. pecorum* (codifiée M14) a été isolée en culture cellulaire à partir de ce prélèvement (manuscrit en préparation). Le reste des prélèvements a montré des profils avec des coupures variables (figure 3, profils 2, 5 et 6), différents de ceux des souches témoins AB7 (figure 3, profil 1) et iB1 (figure 3, profil 3).

Isolement des souches de *Chlamydomphila*

Après plusieurs passages des 26 prélèvements sur cultures cellulaires et multiplications sur œufs embryonnés, seulement huit ont montré un effet cytopathogène sur les tapis cellulaires à des passages différents et ont donné des mortalités des œufs embryonnés infectés avec des lésions pathologiques et des membranes

Tableau II

Répartition des prélèvements positifs par PCR (CTU/CTL) en fonction des troupeaux étudiés (n = 24)

Référence troupeaux	Espèce	TA (%) ¹	Nb. de prélèvements ²	PCR (CTU/CTL) positive (%)	Sérologie positive (%)
Z/20/2/98	Mixte	15	10	1 (10)	0
K/24/2/98	Ovin	20	15	8 (53)	0
K/15/3/98	Ovin	25	20	1 (5)	6 (30)
K/29/3/98	Caprin	30	19	2 (11)	5 (26)
K/16/5/98	Mixte	15	9	2 (22)	2 (22)
Z/23/6/98	Ovin	16	5	0	
Z/5/9/98	Ovin	5	6	0	3 (50)
Z/28/10/98	Caprin	20	11	1 (9)	3 (27)
Z/11/11/98	Caprin	7	8	4 (50)	0
K/25/11/98	Ovin	10	6	4 (67)	5 (83)
S/7/2/99	Caprin	16	11	7 (64)	10 (90)
T/19/2/99	Ovin	15	10	10 (100)	1 (10)
Z/27/11/99	Ovin	10	6	5 (83)	0
Z/1/12/99	Caprin	8	6	0	0
Z/12/12/99	Ovin	10	14	0	4 (27)
K1/3/2/00	Caprin	20	9	5 (56)	4 (44, 5)
K2/3/2/00	Caprin	18	5	2 (40)	1 (20)
K3/3/2/00	Ovin	12	6	1 (17)	3 (50)
K4/3/2/00	Ovin	25	7	0	0
Z/6/2/00	Caprin	5	11	8 (73)	2 (18)
K/12/2/00	Caprin	30	8	3 (38)	2 (33)
A/2/10/00	Ovin	6	3	0	0
Z/1/11/00	Ovin	12	11	0	0
Z/1/12/00	Mixte	10	9	1 (11)	0
Total	—	—	225	65 (29)	51 (23)

TA : taux d'avortements

¹ Le taux d'avortements a été estimé par le nombre déclaré de femelles ayant avorté rapporté à l'effectif de femelles ayant avorté et celles ayant mis bas normalement² Les femelles ont été prélevées dans un délai après l'avortement variant de 1 à 60 j

vitellines fines et très vascularisées. Il s'agit de cinq prélèvements d'origine ovine et trois d'origine caprine. Les résultats des isolations réalisés sont illustrés dans le tableau I. Aucun effet cytopathogène n'a été observé après cinq passages pour dix prélèvements alors que huit ont été trouvés contaminés.

Les résultats de l'IF et de la MIF ont montré que sept prélèvements dont cinq ovins et deux caprins ont réagi avec les anticorps monoclonaux spécifiques du genre *Chlamydomphila* et de l'espèce

Chlamydomphila abortus. Un seul prélèvement d'origine caprine s'est révélé être de type *Chlamydomphila pecorum* en réagissant avec les anticorps monoclonaux spécifiques du sérotype *pecorum* (tableau I). Une souche (*Cp. pecorum*), désignée M14, a été isolée à partir de ce prélèvement par la technique des plages de lyse. La souche a été confirmée par coloration d'acridine à l'orange, MIF, PCR (figure 1, colonne 3 ; figure 2, colonne 2) et par digestion enzymatique des produits de la PCR (CTU/CTL) (figure 3, colonne 6).

Tableau III

Répartition des prélèvements positifs par PCR (CTU/CTL) en fonction des délais d'avortements et de l'espèce

Jours après avortement	PCR (CTU/CTL) positive			PCR (CTU/CTL) négative		
	Brebis	Chèvre	Total (%)	Brebis	Chèvre	Total (%)
< à 15	2	19	21 (32)	47	30	77 (48)
15 à 30	19	12	31 (48)	20	20	40 (25)
> 30	09	04	13 (20)	23	20	43 (27)
Total	30	35	65 (100)	90	70	160 (100)

PCR (CTU/CTL) : PCR spécifique des Chlamydiales

Tableau IV

Résultats de la PCR (CTU/CTL) en fonction de la sérologie des troupeaux

Statut sérologique des troupeaux	Résultat PCR (CTU/CTL)	
	Positive (%)	Négative (%)
Sérologie positive	45 (69)	74 (46)
Sérologie négative	20 (31)	86 (54)
Total	65 (100)	160 (100)

PCR (CTU/CTL) : PCR spécifique des Chlamydiales

 χ^2 (1 ddl) = 9,78

p < 0,01 ; il y a significativement plus d'échantillons PCR positifs parmi les troupeaux sérologiquement positifs

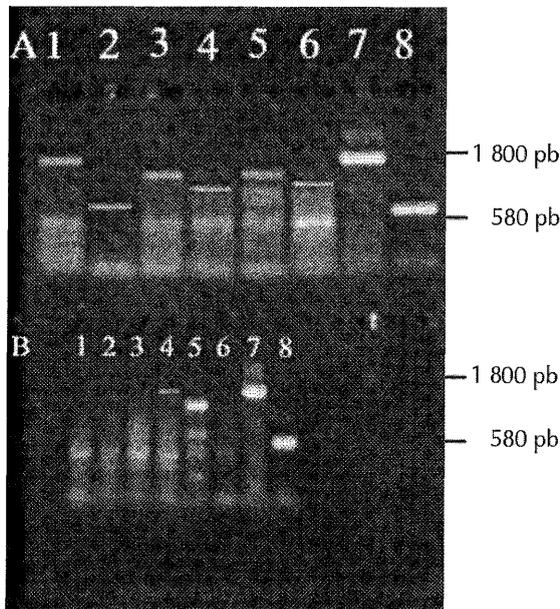


Figure 2 : analyse par électrophorèse sur gel d'agarose 1% des produits de PCR multiplex (CPS/CPC). A- colonne 1 : C 1/S/7/2/99 ; colonne 2 : C 108/Z/28/10/98 (M14) ; colonne 3 : B 27/K/24/2/98 ; colonne 4 : B 18/ K/24/2/98 ; colonne 5 : B 16/ K/24/2/98 ; colonne 6 : B 26/ K/24/2/98 ; colonne 7 : AB7 (Cp. abortus) ; colonne 8 : iB1 (Cp. pecorum). B- colonne 1 : B 28/ K/24/2/98 ; colonne 2 : B 43/K/15/3/98 ; colonne 3 : B 46/Z/27/11/99 ; colonne 4 : B 80/K/16/5/98 ; colonne 5 : C 93/Z/1/12/00 ; colonne 6 : B 132/K/25/11/98 ; colonne 7 : AB7 (Cp. abortus) ; colonne 8 : iB1 (Cp. pecorum). Les valeurs à droite du gel sont les tailles en paires de bases des fragments attendus. M14 : souche Cp. pecorum isolée. B : brebis ; C : chèvre.

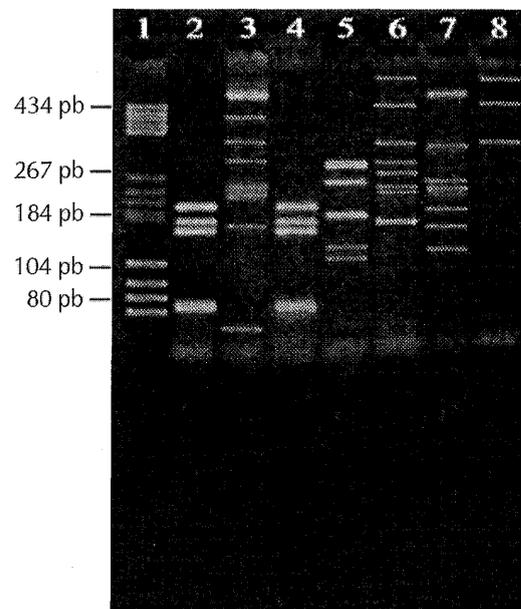


Figure 3 : analyse par électrophorèse sur gel d'agarose 4 % des fragments de digestion enzymatique par AluI des produits de PCR (CTU/CTL). Colonne 1 : marqueur de taille V (Boehringer) ; colonne 2 : C 1/S/7/2/99 (profil 1) ; colonne 3 : B 130/K/25/11/98 (profil 2) ; colonne 4 : AB7 (profil 1) ; colonne 5 : iB1 (profil 3) ; colonne 6 : C 108/Z/28/10/98 (souche M14, profil 4) ; colonne 7 : B 27/K/24/2/98 (profil 5) ; colonne 8 : C 127/Z/11/11/98 (profil 6). Les valeurs à gauche du gel sont les tailles du marqueur en paires de bases. B : brebis ; C : chèvre. Profils 1 et 3 : ce sont les profils respectifs des souches de référence AB7 et iB1. Profils 2, 4, 5 et 6 : ce sont les profils de digestion différents de ceux des souches de référence.

Tableau V

Résultats de la PCR multiplex (CPS/CPC) (nb. de prélèvements) en fonction de l'espèce animale

Espèce	PCR (CPS/CPC) positive pour				Total
	Cp. abortus	Cp. pecorum	PCR non spécifique ¹	PCR négative	
Ovin	2	0	13	15	30
Caprin	1	1	7	26	35
Total	3	1	20	41	65

PCR (CPS/CPC) : PCR spécifique des espèces *Chlamydia abortus* et *Cp. pecorum*

¹ Prélèvements montrant une ou plusieurs bandes intermédiaires (1 700 pb, 1 500 pb, 800 pb et inférieure à 580 pb)

■ DISCUSSION

Le but de ce travail a été d'évaluer la technique PCR comme outil de diagnostic direct et rapide de la chlamydie abortive en élevage des ovins et caprins au Maroc. Deux techniques PCR ont ainsi été adoptées pour la détection et l'identification des *Chlamydia* dans les écouillons vaginaux de brebis et de chèvres

ayant avorté. La technique PCR (CTU/CTL) adoptée dans ce travail a permis de détecter la séquence nucléotidique spécifique du gène *omp1* des Chlamydiales dans 29 p. 100 des écouillons vaginaux répartis sur 17 (71 p. 100) troupeaux parmi les 24 enquêtés.

Tous les animaux révélés positifs provenaient de troupeaux dans un contexte abortif, la majorité (71 p. 100) présentant l'évidence sérologique de l'infection à *Chlamydia*. Il a été également constaté que la PCR a permis de détecter le gène cible dans les prélèvements jusqu'au deuxième mois après l'avortement sachant que tous les échantillons testés dans ce travail ont été réalisés dans un délai postavortement variable d'un à 60 jours selon les animaux. La détection d'ADN chlamydien dans certains prélèvements pourrait être liée à la présence de corps bactériens non viables. Cependant, le fait que les animaux testés aient tous manifesté des avortements et provenaient dans la majorité des cas de troupeaux avec évidence sérologique de l'infection, les résultats de la PCR ont été en faveur d'infections actives avec excrétion possible des *Chlamydia* dans les sécrétions vaginales analysées. L'isolement des *Chlamydia* dans les sécrétions vaginales analysées. L'isolement des *Chlamydia* serait idéal pour confirmer les résultats de la PCR, mais à l'exception de quatre prélèvements à partir desquels *Cp. abortus* (trois prélèvements) et *Cp. pecorum* (un prélèvement) ont été isolés, la plupart des essais d'isolement du germe en culture cellulaire n'ont pas été concluants en raison des problèmes liés principalement à la qualité des prélèvements. La possibilité de repérer par PCR des animaux éventuellement excréteurs dans les semaines qui suivent l'avortement ou la mise bas (17, 19, 24) offre un avantage énorme par rapport aux autres techniques de

diagnostic direct qui nécessitent des produits d'avortements frais, riches en *Chlamydomphila* et prélevés peu de temps après l'avortement. Il a été noté qu'il était pratiquement impossible de satisfaire ces conditions dans le contexte de l'élevage extensif et pastoral au Maroc où les troupeaux sont dispersés et se déplacent sur de vastes distances. Les résultats de la PCR doivent être cependant interprétés avec précaution en raison des problèmes liés à la présence éventuelle dans les prélèvements d'inhibiteurs qui entraîneraient des faux négatifs et également à la détection des faux positifs due à la grande sensibilité de la technique. La présence d'inhibiteurs de la réaction d'amplification aurait pu être vérifiée à l'aide d'amplification de séquences universelles ou d'ajout d'ADN exogène.

Pour déterminer les espèces de *Chlamydomphila* associées aux avortements, les prélèvements positifs par la PCR (CTU/CTL) ont été également testés par une PCR multiplex utilisant des amorces spécifiques de *Cp. abortus* (CPS) et de *Cp. pecorum* (CPC). La technique n'a permis de détecter les fragments attendus de *Cp. abortus* et de *Cp. pecorum* que dans quatre des 65 prélèvements testés. Les autres prélèvements (94 p. 100) ont été négatifs (aucun signal visible) ou non concluants avec des bandes non spécifiques de tailles intermédiaires. L'absence d'amplification de fragments cibles dans les prélèvements, pourtant positifs par la PCR (CTU/CTL), pourrait être expliquée par la présence d'impuretés dans les prélèvements ou par une défaillance technique qui aurait pu interférer avec la réaction d'amplification. En outre, la taille relativement grande du fragment de 1 800 pb à amplifier par les amorces CPS pourrait être un facteur empêchant l'amplification et expliquerait le grand nombre de prélèvements de *Cp. abortus* qui n'ont pas répondu. En revanche, la mise en évidence de bandes non spécifiques après plusieurs essais dans un grand nombre de prélèvements pourrait être liée soit aux problèmes de spécificité des amorces utilisées dans la réaction, soit à un polymorphisme au niveau des séquences ciblées qui pourrait être en faveur d'une possible variabilité génétique des souches marocaines. Un séquençage de ces fragments ou une hybridation avec des sondes spécifiques pourraient renseigner s'il s'agit en effet de souches de *Chlamydomphila* ou de contaminations au niveau des prélèvements.

La digestion par *AluI* du gène *omp1* a également révélé la présence d'une population hétérogène de profils génétiques. Il a été convenu de noter que seuls 15 prélèvements ont montré un profil de digestion similaire à celui de *Cp. abortus* (souche AB7) et un seul prélèvement (à partir duquel M14 a été isolée) avec un profil présentant la bande type de *Cp. pecorum* (180 pb) (figure 3, piste 6) mais différent de la souche *Cp. pecorum* de référence iB1. Le reste des prélèvements a montré des profils variables qui, bien que différents de ceux identifiés dans d'autres travaux (1, 8, 25), pourraient être de type *Cp. pecorum*. D'après les études moléculaires réalisées dans le domaine de la phylogénie et la caractérisation des espèces des Chlamydiales, notamment l'homologie ADN/ADN (11), l'analyse de la séquence codant pour la MOMP (14, 18, 33) et des produits du polymorphisme des sites de restriction (RFLP) des gènes *omp1* (1, 8, 11, 25) et *omp2* (27), il est actuellement évident que les souches de *Cp. pecorum* constituent un groupe très hétérogène sur le plan génétique mais ayant une bande de 180 pb ou deux bandes équivalentes de 110 pb et de 70 pb (8). Il est à noter que certains prélèvements parmi ceux ayant des profils de digestion variables ont présenté des bandes dont la somme a été supérieure à 1 050 pb, fragment amplifié par la PCR (CTU/CTL). Il s'agirait, dans ce cas, probablement d'un mélange de souches dans les prélèvements analysés.

La souche M14 de type *Cp. pecorum* isolée d'une chèvre ayant avorté s'est avérée d'un grand intérêt épidémiologique pour la chlamydie abortive chez les petits ruminants au Maroc et dans la région. En effet, une souche de type *Cp. pecorum* a été récemment isolée à partir d'une chèvre ayant avorté en Tunisie (32).

L'implication de *Cp. pecorum* dans les avortements a été également évoquée dans une étude sérologique réalisée au Maroc sur des sérums de brebis et de chèvres ayant avorté en utilisant la technique Elisa recombinant (26).

La virulence de la souche M14 a été testée *in vivo* sur modèle souris au laboratoire de l'unité de Pathologie infectieuse à l'Inra de Tours. Les résultats de cette étude ont montré que c'est une souche pathogène provoquant des avortements suite à une colonisation du placenta mais à des degrés moindres que la souche AB7 de type *Cp. psittaci*. (19). Il a été également montré que le vaccin vivant 1B, composé d'un mutant thermosensible obtenu par mutagenèse de la souche abortive AB7 à la nitrosoguanidine (20), protège la souris contre l'infection avec la souche M14 (19).

■ CONCLUSION

Les résultats obtenus au terme de ce travail ont confirmé que la technique PCR possède un potentiel puissant pour le diagnostic direct et rapide de la chlamydie abortive chez les petits ruminants. Appliquée sur des animaux ayant avorté et associée aux résultats de la sérologie, la PCR (CTU/CTL) pourrait identifier les animaux éventuellement excréteurs du germe après l'avortement.

La technique PCR multiplex appliquée à la recherche et à l'identification directe de *Cp. abortus* et *Cp. pecorum* dans les prélèvements cliniques n'a pas montré de performances totalement satisfaisantes dans les conditions expérimentales de cette étude. Cependant, avec des ajustements techniques (en l'occurrence, purification de l'ADN), cet outil pourrait apporter une contribution significative au diagnostic direct et spécifique de la chlamydie abortive. Des études récentes (16, 27) ont permis de déterminer des amorces spécifiques pour différencier entre les deux espèces *Cp. abortus* et *Cp. pecorum* en amplifiant un fragment de taille plus petite que celle du fragment amplifié par le couple d'amorces CPS/F et CPS/B.

L'évaluation des résultats obtenus par l'analyse de restriction enzymatique des produits de PCR (CTU/CTL) a montré une grande diversité génétique avec des profils variables qui pourraient être attribués au type *Cp. pecorum*. Ces résultats, bien que préliminaires, associés à l'isolement pour la première fois au Maroc d'une souche de type *Cp. pecorum* de chèvre ayant avorté suggèrent l'association de *Cp. pecorum* aux avortements chez les ovins et les caprins. La diversité génétique des *Chlamydomphila* associées aux avortements des petits ruminants au Maroc mérite d'être étudiée par des investigations plus approfondies pour repérer des marqueurs épidémiologiques et orienter les stratégies de lutte et de vaccination contre la chlamydie abortive.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier toute l'équipe du laboratoire de Pathologie infectieuse et immunologie de l'Inra de Nouzilly (Tours, France) pour leur aide précieuse et leur fourniture en souches de référence.

BIBLIOGRAPHIE

- ANDERSON I.E., BAXTER S.I., DUNBAR S., RAE A.G., PHILIPS H.L., CLARKSON M.J., HERRING A.J., 1996. Analysis of the genomes of chlamydial isolates from ruminants and pigs support the adoption of the new species *Chlamydia pecorum*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **46**: 245-251.
- BENKIRANE A., JABLI N., RODOLAKIS A., 1990. Fréquence des avortements et séroprévalence des principales maladies infectieuses abortives dans la région de Rabat (Maroc). *Ann. Rech. vét.*, **21** : 267-273.

3. BUENDIA A.J., CUELLO F., DEL RIO L., GALLEGU M.C., CARO M.R., SALINAS J., 2001. Field evaluation of new commercially available ELISA based on a recombinant antigen for diagnosing *Chlamydia abortus* infection. *Vet. Microbiol.*, **78**: 229-239.
4. BUXTON D., 1986. Potential danger to pregnant women of *Chlamydia psittaci* from sheep. *Vet. Rec.*, **118**: 510-511.
5. BUXTON D., BARLOW R.M., FINLAYSON J., ANDERS-ON I.E., MACKELLAR A., 1990. Observations on the pathogenesis of *Chlamydia psittaci* infection of pregnant sheep. *J. comp. Pathol.*, **102**: 221-237.
6. BUZONI-GATEL D., LAYACHI K., DUBRAY G., RODOLAKIS A., 1989. Comparison of protein patterns between invasive and non invasive ovine strains of *Chlamydia psittaci*. *Res. Vet.*, **46**: 40-42.
7. CHAARANI B., ROBINSON R.A., JOHNSON D.W., 1991. Lamb mortality in Meknes province (Morocco). *Prev. vet. Med.*, **10**: 283-298.
8. DENAMUR E., SAYADA C., SOURIAU A., ORFILA J., RODOLAKIS A., ELION J., 1991. Restriction pattern of the major outer-membrane protein gene provides evidence for homogeneous invasive group among ruminant isolates of *Chlamydia psittaci*. *J. gen. Microbiol.*, **137**: 2525-2530.
9. EL IDRISSE A.H., MANYARI A., BENKIRANE A., 1995. Fréquence des avortements infectieux des ovins au Maroc (régions de Zaer et du Moyen Atlas). *Actes. Inst. agron. vét.*, **15** : 11-14.
10. EL JAI S., EL IDRISSE A.H., BOUSLIKHANE M., 2004. Surveillance épidémiologique des avortements en élevage des petits ruminants dans les zones pastorales au Maroc. *Actes. Inst. agron. vét.* (sous presse)
11. EVERETT K.D., BUSH R.M., ANDERSEN A.A., 1999. Proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *Int. J. Syst. Evol. Bacteriol.*, **49**: 415-440.
12. FAYE P., CHARTON A., MAGE C., BERNARD C., LELAYEC C., 1972. Propriétés hémagglutinantes du virus de l'avortement enzootic des petits ruminants (souches de Rkeia d'origine ovine, caprine). *Bull. Acad. vet.*, **45** : 169-173.
13. HERRING A.J., 1993. Typing *Chlamydia psittaci*: a review of methods and recent findings. *Br. vet. J.*, **149**: 455-475.
14. HERRING A.J., TAN T.W., BAXTER S., INGLIS N.F., DUNBAR S., 1989. Sequence analysis of the MOMP gene of an ovine abortion isolate of *Chlamydia psittaci*. *FEMS. Microbiol. Lett.*, **65**: 153-158.
15. JACKSON M., WHITE N., GIFFARD P., TIMM P., 1999. Epizootiology of *Chlamydia* infections in two free-range koala populations. *Vet. Microbiol.*, **65**: 255-264.
16. LAROUCAU K., SOURIAU A., RODOLAKIS A., 2001. Improved sensitivity of PCR for *Chlamydia* using *pmp* genes. *Vet. Microbiol.*, **82**: 155-164.
17. PAPP R.J., SHEWEN P.E., GARTLEY C.J., 1994. Abortion and subsequent excretion of *Chlamydia* from the reproductive tract of sheep during estrus. *Infect. Immun.*, **62**: 3786-3792.
18. PICKETT M.A., EVERSON J.S., CLARKE I.N., 1988. *Chlamydia psittaci* ewe abortion agent: complete nucleotide sequence of the MOMP gene. *FEMS. Microbiol. Lett.*, **55**: 229-234.
19. REKIKI A., BOUAKANE A., HAMMAMI S., EL IDRISSE A.H., BERNARD F., RODOLAKIS A., 2004. Efficacy of live *Chlamydia abortus* vaccine 1B in protecting mice placentas and fetuses against strains of *Chlamydia pecorum* isolated from cases of abortion. *Vet. Microbiol.*, **99**: 295-299.
20. RODOLAKIS A., 1983. *In vitro* and *in vivo* properties of chemically induced temperature-sensitive mutants of *Chlamydia psittaci* var *ovis*: screening in murine model. *Infect. Immun.*, **42**: 529-530.
21. RODOLAKIS A., 1997. La chlamydie abortive des petits ruminants. *Point vét.*, **182** : 91-93.
22. RODOLAKIS A., CHANCERELLE L., 1977. Dénombrement direct à l'isolement de *Chlamydia psittaci* au moyen de la technique des plages de lyse. *Ann. Microbiol.*, **128B** : 81-85.
23. RODOLAKIS A., NETTLETON P., 1997. Manuel pratique de diagnostic de laboratoire des avortements infectieux des petits ruminants. Rome, Italie, FAO.
24. RODOLAKIS A., SALINAS J., PAPP J., 1998. Recent advances on ovine chlamydial abortion. *Vet. Res.*, **29**: 275-288.
25. RODOLAKIS A., SOURIAU A., 1992. Restriction endonuclease analysis of DNA from ruminant *Chlamydia psittaci* and its relation with virulence. *Vet. Microbiol.*, **31**: 263-271.
26. SALIH ALJ DEBBARH H., HASNAOUI H., SOURIAU A., BELHOUARI A., SAILE R., RODOLAKIS A., 2001. Chlamydie abortive des petits ruminants au Maroc : valeur épidémiologique d'un kit Elisar de *Chlamydia abortus* (*Chlamydia psittaci* sérotype 1). *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **54** : 201-205.
27. SHEEHY N., MARKEY B., GLEESON M., QUINN P.J., 1996. Differentiation of *Chlamydia psittaci* and *C. pecorum* Strains by species-specific PCR. *J. clin. Microbiol.*, **12**: 3175-3179.
28. SIDI-BOUMEDINE K., SOURIAU A., RODOLAKIS A., 1996. Association of RAPD-PCR and specific DNA probes: a method for detection and typing of ruminants chlamydial strains. In: Stary A. Ed., Proc. 3rd meeting of the European Society for *Chlamydia* Research. Bologna, Italy, Esculapio, p. 314.
29. SOURIAU A., SALINAS J., DE SA C., LAYACHI K., RODOLAKIS A., 1994. Identification of subspecies- and serotype1-specific epitopes on the 80- to 90 kilodalton protein region of *Chlamydia psittaci* that may be useful for diagnosis of chlamydial induced abortion. *Am. J. vet. Res.*, **4**: 510-514.
30. SPENCER W.N., JOHNSON F.W.A., 1983. Simple transport medium for the isolation of *C. psittaci* from clinical material. *Vet. Rec.*, **3**: 535-536.
31. TAINTURIER D., FIENI F., BRUYAS J.F., BATTUT I., 1997. Les avortements chez les petits ruminants. *Point vét.*, **184** : 41-49.
32. TLATLI A., REKIKI A., SOURIAU A., FTOUH T., RODOLAKIS A., HAMMAMI S., 2000. Isolation, identification et typage des souches tunisiennes de *Chlamydia pecorum* d'origine caprine. In: 7th International conference of goats, Tours-Poitiers, France.
33. ZHANG Y.X., MORISSON S.G., CALDWELL H.D., BAEHR W., 1989. Cloning and sequence analysis of the MOMP genes of two *Chlamydia psittaci* strains. *Infect. Immun.*, **57**: 1621-1625.

Reçu le 12.11.2003, accepté le 31.09.2004

Summary

El Jaï S., Remmal A.H., Rodolakis A., Souriau A., El Idrissi A.H. Application of Polymerase Chain Reaction to the Direct Diagnosis of Abortive Chlamydiosis (*Chlamydomphila abortus* and *Chlamydomphila pecorum*) of Sheep and Goats in Morocco

In order to improve the direct diagnosis of abortive chlamydiosis in small ruminants, 225 vaginal swabs collected from aborting sheep and goats were tested for *Chlamydomphila* DNA by two types of polymerase chain reactions (PCR): chlamydial-infection specific PCR (CTU/CTL), and species-specific PCR (CPS/CPC) for *Chlamydomphila abortus* and *Cp. pecorum*. The *omp1* gene coding for the major outer membrane protein of Chlamydiales was found in 65 (29%) of the analyzed samples, of which 80% had been collected within four weeks post-abortion. The majority of PCR (CTU/CTL) positive samples (69%) came from herds found positive by the complement fixation test. The species-specific PCR applied to PCR (CTU/CTL) positive samples did not allow detecting the expected fragments of *Cp. abortus* (1800 bp) and *Cp. pecorum* (580 bp), except in four samples out of 65 tested. The remaining samples were either negative (63%) or non conclusive (31%) with non-specific bands of intermediate molecular weights. The enzyme restriction analysis of the *omp1* gene after DNA amplification revealed much genetic diversity among the 65 samples tested. Typical genetic patterns of *Cp. abortus* were found only in 15 samples, but the majority (77%) of the samples showed patterns attributed to *Cp. pecorum* or closely related to it. Culture on McCoy cells of 26 vaginal swabs and abortion products from animals found with chlamydial infection (serology and PCR) revealed the presence of *Chlamydomphila* in eight samples: seven were characterized as *Cp. abortus* and one as *Cp. pecorum*. The remaining samples gave no cytopathogenic effect after five serial passages, or they were contaminated. A *Cp. pecorum* strain, designated M14, isolated for the first time in Morocco, was further investigated to test its virulence in mice. These data suggest there is genetic variation in abortive strains and a possible link between *Chlamydomphila pecorum* and abortions in sheep and goats in Morocco. This genetic diversity needs to be further investigated in order to gear vaccination strategies for control of abortive chlamydiosis in Morocco.

Key words: Sheep – Goat – *Chlamydomphila abortus* – *Chlamydomphila pecorum* – Ornithosis – PCR – Morocco.

Resumen

El Jaï S., Remmal A.H., Rodolakis A., Souriau A., El Idrissi A.H. Aplicación de la reacción de la polimerización en cadena al diagnóstico directo de la clamidiósis abortiva (*Chlamydomphila abortus* y *Chlamydomphila pecorum*) de los pequeños rumiantes en Marruecos

Con el fin de mejorar el diagnóstico directo de la clamidiósis abortiva de los pequeños rumiantes, se obtuvieron 225 frotis vaginales de ovejas y de cabras que habían abortado y se examinaron para la búsqueda de ADN de *Chlamydomphila*, utilizando dos tipos de PCR, un PCR (CTU/CTL) específico de Clamidiales y un PCR (CPS/CPC) específico de las especies *Chlamydomphila abortus* y *Cp. pecorum*. El gen *omp1* codificante para la proteína mayor de la membrana externa de los Clamidiales fue detectado por la PCR (CTU/CTL) en 65 muestras (29%) de las recolectadas y analizadas, de las cuales 80% fueron realizadas en un lapso inferior a cuatro semanas post aborto. La mayoría de las muestras positivas para PCR (CTU/CTL) (69%) provenían de hatos reconocidos como positivos mediante el test de fijación de complemento. La PCR específica de especie, aplicada a las muestras positivas para PCR (CTU/CTL), no permitió la detección de los fragmentos esperados de *Cp. abortus* (1800 pb) y de *Cp. pecorum* (580 pb), sino en cuatro de las 65 muestras examinadas. Las otras muestras fueron negativas (63%) o no concluyentes (31%) con bandas no específicas de tamaños intermedios. La restricción enzimática de los productos de amplificación (PCR-CTU/CTL) reveló una gran diversidad genética entre las 65 muestras estudiadas. Solo 15 muestras mostraron un perfil de digestión típico de *Cp. abortus*, pero el resto de las muestras (77%) mostró perfiles de *Cp. pecorum* o próximos de esta especie. El cultivo de las células de McCoy de 26 frotis vaginales y productos de abortos provenientes de animales que abortaron y confirmados positivos para la clamidiósis (serología y PCR), reveló la presencia de *Chlamydomphila* en ocho muestras, de las cuáles siete fueron caracterizadas como tipo *Cp. abortus* y uno de tipo *Cp. pecorum*. Las muestras restantes no produjeron ningún efecto cito patogénico después de cinco pasajes sucesivos o bien estaban contaminadas. Otros estudios fueron llevados sobre la cepa *Cp. pecorum*, designada M14, aislada por la primera vez en Marruecos, para probar su virulencia en el ratón. Los resultados sugieren una variabilidad genética de las cepas abortivas y una asociación de *Cp. pecorum* a los abortos en los ovinos y los caprinos en Marruecos. Esta diversidad genética amerita ser más estudiada para orientar las estrategias de vacunación contra la clamidiósis abortiva en Marruecos.

Palabras clave: Ovino – Caprino – *Chlamydomphila abortus* – *Chlamydomphila pecorum* – Ornitosis – PCR – Marruecos.

Formation à distance en épidémiologie animale*Du 05 janvier au 30 juin 2005*

Frais d'inscription : 300 euros

Cette formation réalisée en partenariat avec l'école nationale vétérinaire d'Alfort permet une remise à niveau sur les bases en épidémiologie animale.

Gestion et analyse des données d'enquêtes en élevage tropical*Session 1 : du 03 mars au 1er avril 2005**Session 2 : du 28 septembre au 28 octobre 2005*

Frais d'inscription : 2 740 euros

La formation s'appuie sur :

- un logiciel de suivi de troupeaux développé par le Cirad-emvt (LASER : Logiciel d'aide au suivi des ruminants). LASER utilise le logiciel de gestion de base de données relationnelles ACCESS ;
- un logiciel de programmation et de traitement statistique : R.

Aquaculture tropicale*du 28 février au 11 mars 2005*

Frais d'inscription : 915 euros

Tout en se familiarisant avec les spécificités des animaux aquatiques, les participants, à l'issue de cette formation, seront capables :

- d'évaluer l'opportunité de développer l'aquaculture dans une zone donnée
- d'identifier les systèmes d'élevage les plus appropriés à la zone et de concevoir les itinéraires techniques adaptés correspondant
- de contribuer à la structuration et au renforcement de la filière piscicole
- d'assurer l'interface entre les organismes de recherche et les organismes de développement dans le domaine de l'aquaculture.

Faune sauvage et développement*du 14 au 28 mars 2005*

Frais d'inscription : 1 070 euros

Pour prendre en compte la dimension faune sauvage dans la planification et la mise en œuvre des activités de développement rural, à l'issue du stage les participants seront capables :

- d'identifier les outils et les méthodes de gestion et de conservation de la faune sauvage qui sont utilisables dans le contexte local
- de décrire les principaux systèmes de valorisation de la faune sauvage
- d'analyser les interactions entre faune et activités humaines.

Un devis personnalisé peut être établi sur simple demande. Le Cirad n'est pas en mesure d'accorder des bourses. Il convient donc de faire une demande auprès d'instances nationales ou internationales (ambassade, Ong, Projet...). Le nombre de places étant limité il est recommandé de s'inscrire au moins trois mois avant le début des cours.

Les candidatures comprenant un CV détaillé, une lettre de motivation et des indications sur l'organisme de gestion de la bourse, doivent être adressées au secrétariat du cours :

Cirad-emvt, TA 30 / B, 34398 Montpellier Cedex 5, France
Tél. : +33 (0)4 67 59 39 16 ; fax : +33 (0)4 67 59 37 97
E-mail : brigitte.languedocq@cirad.fr

Hygiène et qualité dans les filières de productions animales en régions chaudes*du 28 février au 25 mars 2005*

Frais d'inscription : 1 800 euros

A l'issue de leur formation, les participants devront être en mesure de :

- poser un diagnostic au niveau d'une filière de production animale
- mettre en œuvre des méthodes de maîtrise de la qualité aux différents niveaux d'une filière de production animale
- proposer des mesures relatives aux méthodes et à l'organisation du contrôle, visant à renforcer la fiabilité des services officiels de contrôle
- conseiller les entreprises du secteur agroalimentaire dans le domaine de l'assurance de la sécurité des aliments ainsi que de l'appréciation et de la gestion du risque
- contribuer à la mise en place d'un dispositif ou cadre législatif et réglementaire compatible avec les normes internationales, en particulier celles de l'Union européenne
- valoriser la démarche qualité au sein des filières.

Méthodologie de l'épidémiosurveillance*du 24 octobre au 25 novembre 2005*

Frais d'inscription : 1 830 euros

A la fin de cette formation, pour concevoir, réaliser, organiser et créer un réseau d'épidémiosurveillance, les participants seront capables :

- de concevoir et d'organiser un réseau d'épidémiosurveillance
- de concevoir et de mettre en place des actions d'épidémiosurveillance
- de concevoir, d'organiser et d'animer les formations dans le cadre de la mise en place et du fonctionnement du réseau
- de mettre en place et de conduire les actions de communication interne et externe dans le cadre de la mise en place et du fonctionnement du réseau
- d'évaluer le fonctionnement du réseau

Gestion et traitement de données appliqués à l'épidémiosurveillance*du 28 novembre au 16 décembre 2005*

Frais d'inscription : 2 135 euros

A l'issue de cette formation, les participants seront en mesure :

- de maîtriser les fonctions de base des logiciels ACCESS (création d'une base de données) et Map-Info (création de cartes)
- de créer des outils pour la gestion des données d'un réseau d'épidémiosurveillance
- de mettre en relation une base de données avec Map-Info et de représenter la distribution d'une maladie animale
- de réaliser des analyses thématiques simples pour représenter des données et produire des documents cartographiques d'aide à la décision

Emergence of *Peste des Petits Ruminants* in Sheep and Goats in Eastern Saudi Arabia

F.M.T. Housawi¹ E.M.E. Abu Elzein¹
G.E. Mohamed¹ A.A. Gameel¹ A.I. Al-Afaleq¹
A. Hegazi¹ B. Al-Bishr¹

Key words

Sheep – Goat – Pest of small ruminants virus – Antigen antibody reaction – Epidemiology – Saudi Arabia.

Summary

By early April 2002, a severe outbreak of a disease was reported in sheep and goats in Al-Hasa province, Hofuf township (lat. 25° N, long. 47° E) of the eastern region of Saudi Arabia. The involved flock was composed of 70 adult sheep and goats. The onset of the disease was sudden. The clinical manifestations were high fever (41°C), lachrymation, nasal discharge, salivation, profuse diarrhea, followed by recumbency and death. The course of the disease in the affected animals took three to four days. Thirty out of seventy animals in the herd were affected (43% morbidity rate). The case mortality rate was 100%. A virus was isolated in Vero cell culture and was reacted in cross virus neutralization tests, using reference hyperimmune sera against *peste des petits ruminants* (PPR) and rinderpest virus. The virus was eventually identified as the PPR virus. The epidemiology of the disease in Saudi Arabia and the Arabian peninsula is discussed.

■ INTRODUCTION

The pest of small ruminants, *peste des petits ruminants* (PPR), is known as an acute or peracute disease of sheep, goats and small wildlife ruminants. The disease was first recorded in Côte d'Ivoire in 1942 (11). Since then, it has been reported in African countries between the equator and the Sahara (8, 14). In later years, it has been identified in the Arabian peninsula (2, 10, 24), the Middle East (15, 16) and the Indian subcontinent (20).

PPR is caused by a *Morbillivirus* of the family Paramyxoviridae (4, 6, 12). It is closely related to the rinderpest (RP) virus in physico-chemical and serological characters. However, both viruses can be differentiated by the virus neutralization test (VNT) (14, 19, 21) and competition ELISA (3).

1. College of Veterinary Medicine and Animal Resources, King Faisal University, Hofuf, PO Box 1757, Al-Ahsa, Saudi Arabia

Based on clinical observations, the PPR virus disease was suspected in Saudi Arabia in sheep between 1977-1979 (5) and in gazelles (13). In both occasions no virus was isolated. In 1990 successful virus isolation was performed from diseased goats (2). The present paper gives evidence for the recrudescence of the disease in sheep and goats in Saudi Arabia.

■ MATERIALS AND METHODS

Disease outbreak

During March and April 2002 a disease outbreak was reported in a mixed flock of sheep and goats in a suburb 30 km west of Al-Hasa province (lat. 25° N, long. 47° E). The herd consisted of 70 adult animals. The morbidity rate was 43%, while the mortality rate was 100%. Upon examination, there was fever that reached 41°C. The animals were anorexic and dull. They showed mucopurulent nasal discharge, lachrymation, salivation, profuse diarrhea, recumbency and death. The sick animals were treated with broad-spectrum antibiotics, antipyretics and anti-inflammatory drugs. None of the sick animals responded to the treatments. Epidemiological investigations were carried out.

Postmortem examination and sample collection

Necropsy was performed on moribund animals and samples were presented for virological investigations. These were whole blood in ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA), spleen, lymph nodes, liver and lungs. Tissue samples were also collected in 10% formol saline for immunohistochemical examinations.

Virus isolation

The tissue samples were ground and made in 30% (w/v) suspension in F-12 medium without serum (Sigma Chemical). The suspension was centrifuged at 1000 g for 15 min. The supernatant was collected and antibiotics were added (penicillin 10,000 units/ml, streptomycin 10 mg/ml, and amphotericin B 25 mg/ml). Supernatants were used to inoculate Vero and baby hamster kidney (BHK-2) cell cultures, maintained in F-12 minimum essential medium (MEM) supplemented with 5% fetal bovine serum. The cultures were incubated rotating at 37°C and daily examined for appearance of the cytopathic effect (CPE).

Virus identification

Reference sera

The reference goat anti-PPR-virus hyperimmune serum (PE-26) was kindly supplied by Dr Euan Anderson who was then at AVRI Pirbright, UK. The anti-RP-virus antiserum was a hyperimmune serum produced in rabbits as described by Abu Elzein et al. (2).

Reference virus

The reference virus was the Kabete 'O' rinderpest vaccine strain. It was used in the agar gel immunodiffusion tests (AGID) and in cross-neutralization tests, as described below.

Agar gel immunodiffusion test

The AGID method, as specified by OIE (17), was followed to detect the *Morbillivirus* antigen in the suspected tissues (spleen, lymph nodes, lungs and kidneys). Each of these tissues was made into 50% (w/v) suspension in phosphate buffered saline (PBS) pH 7.2. The reference virus was used as positive control antigen. Each of the tissue homogenates and the reference virus antigen were

reacted against the rabbit anti-rinderpest hyperimmune serum in a layout similar to that described by OIE (17).

Virus neutralization test

The micro VNT using Vero cell culture was used to examine the antigenic relationship between the suspected isolated PPR virus and the reference RP virus. Reciprocal VNTs were performed between the PPR suspected virus and each of the reference PPR and RP sera. The same procedure was repeated for the RP vaccine virus against the two reference sera (2, 23). The \log_{10} end point titers were calculated as described by Reed and Muench (18).

Fluorescent antibody test

The indirect fluorescent antibody test (FAT) was used as described by Durojaiye (7) to detect the virus antigen in tissues of the infected animals using an anti-rabbit conjugate. All diluents of the reactants contained 1% ovalbumin, and 0.01% Tween 20 was added to the washing buffer (1).

■ RESULTS

Postmortem findings

A sheep and a goat that were moribund were sacrificed for postmortem examination. Both animals showed varying degrees of erosion of the mucosa of the whole gut, from mouth to rectum. The rumen was empty and had congested papillae. The abomasa exhibited tiny hemorrhagic erosions with marked congestion and edema of the pyloric region. Mucosal congestion, hemorrhage and small erosions were observed in the duodenum. The jejunum was congested and Peyer's patches appeared shallow with hyperemic rims. The ileum showed little changes but congestion was evident around the ileocecal valve. The colon and rectum had congested mucosa with linear hemorrhages. The liver, kidney, pancreas and brain were congested. The mesenteric lymph nodes were edematous, and the spleen was small and flat without thickness. The trachea and bronchi were filled with froth, and the lungs were congested.

Virus isolation

The inoculated Vero and BHK-21 cell culture monolayers showed cell rounding by five days postinoculation. The cytopathic effect progressed to form cell aggregates in both cell types. Syncytium formation was seen at low level in both cell systems. Two weeks after inoculation, destruction of the cell monolayers was evident. Passage one (P/1) in each cell system was stored at -86°C until used. Two further passages were made on Vero cells. The virus was designated SG/PPR/Zn/Sau/02.

Virus identification

AGID

A line of precipitation was produced when each of the tested tissue samples and the rinderpest reference virus antigen were reacted against the rabbit anti-rinderpest hyperimmune serum. These lines merged to make a line of complete identity.

FAT

Intracytoplasmic fluorescence was detected in sections from the infected animals. Slides which were treated with non-immune serum did not show fluorescence.

VNT

The PPR reference serum neutralized the suspected virus at a dilution of 1.8 \log_{10} , while the rabbit anti-RP serum gave a

neutralizing titer of 0.6 log₁₀. The rabbit anti-RP serum had a titer of 2.1 log₁₀ against the RP virus, but only 0.3 log₁₀ against the SG/PPR/Zn/Sau/02 virus isolate.

DISCUSSION

The clinicopathological and virological findings in the present outbreak confirmed that the disease was PPR. Although Saudi Arabia had got rid of RP infections few years ago, PPR still seemed to impose a threat to sheep and goats in the country.

It is rather difficult to determine precisely the source of the present outbreak. However, sheep and goats were imported from countries known to be infected endemically with PPR. In addition, PPR has been reported in neighboring countries of the Arabian peninsula and in the Middle East (15, 22, 24), and cross-border animal movements do occur; the disease can thus find its way into the country.

There is a wide spectrum of known natural animal host species for PPR in Saudi Arabia. Sheep and goats constitute a big sector. There are also various species of wild gazelles and deer in zoos, in

private farms and in protectorates administered by the National Commission for Wildlife Conservation and Development. Some of these species have been reported to contract severe PPR infections, such as the gemsbok (*Oryx gazella*), the dorca gazelle (*Gazella dorcas*), and the Ibex (*Capra ibex nubiana*) (10). Other local species of gazelles such as the sand gazelle (*Gazella subgutturosa marica*) could be vulnerable to PPR infection.

These wild species of ungulates are not involved in the routine vaccination programs against PPR in Saudi Arabia. They can create a permanent focus of infection for domestic sheep and goats in the country. Thus, it is advisable to include them in the national PPR vaccination programs. Since little published data is available regarding the epidemiology of PPR in Saudi Arabia (2, 5, 9, 13), it will be necessary to conduct in depth studies to clarify the situation in the country.

Acknowledgments

The authors would like to thank Dr Euan Anderson for providing the PPR antiserum and Mr A. Al-Khars for assistance.

REFERENCES

1. ABU ELZEIN E.M.E., CROWTHE J.R., 1978. Use of enzyme-linked immunosorbent assay technique in foot-and-mouth disease virus research. *J. Hyg. Camb.*, **80**: 319-399.
2. ABU ELZEIN E.M.E., HASSANIEN M.M., ALAFALEQ A.I., ABDELHADI M.A., HOUSAWI F.M.T., 1990. Isolation of PPR virus from goats in Saudi Arabia. *Vet. Rec.*, **127**: 309-310.
3. ANDERSON J., MCKAY J.A., 1994. The detection of antibodies against PPR virus in cattle, sheep and goats and the possible implication to rinderpest control programmes. *Epidemiol. Infect.*, **112**: 225-234.
4. APPEL M.J.G., GIBBS E.P.J., MARTIN S.J., TERMEULEN V., REMA B.K., STEVENSON J.R., TAYLOR W.P., 1981. *Morbillivirus* diseases of animals and man. In: Kurstak E., Kurstak C. Eds. Comparative diagnosis of viral diseases IV. New York, USA, Academic Press, p. 235-297.
5. ASMAR J.A., RADWAN A.I., 1980. A PPR-like disease of sheep in Central Saudi Arabia: evidence of its immunologic relation to rinderpest; prospects for a control method. In: Proc. 4th Conf. Biological aspects of Saudi Arabia, University of Riyadh, Riyadh, 10-13 March 1980, p. 325-338.
6. BOURDIN P., LAURENT-VAUTIER A., 1967. Note sur la structure du virus de la peste des petits ruminants. *Revue Elev. Méd. vét. Pays. trop.*, **20**: 383-386.
7. DUROJAIYE O.A., 1984. Detection of the antigen of the *peste des petits ruminants* virus in tissues by indirect immunofluorescence technique. *Niger. vet. J.*, **13**: 77-80.
8. EL HAG ALI B., TAYLOR W.P., 1984. Isolation of PPR virus from the Sudan. *Res. vet. Sci.*, **36**: 1-4.
9. EL NAEEM A., ABU ELZEIN E.M.E., AL AFALEQ A.I., 2000. Epizootiological aspects of PPR and rinderpest in sheep and goats in Saudi Arabia. *Revue sci. tech. Off. int. Epizoot.*, **19**: 855-858.
10. FURLEY C.W., TAYLOR W.P., 1987. An outbreak of *peste des petits ruminants* in a zoological collection. *Vet. Rec.*, **121**: 443-447.
11. GARGADENNEC L., LALLANE A., 1942. La peste des petits ruminants. *Bull. Serv. Zool. (AOF)*, **5**: 15-21.
12. GIBBS E.P.J., TAYLOR W.P., LAWMAN M.J.P., BRYANT J., 1979. Classification of *peste des petits ruminants* virus as the fourth member of the genus *Morbillivirus*. *Intervirology*, **2**: 268-274.
13. HAFEZ S.M., SUKAYRAN A.A., CRUZ D., BAKAIRI S.I., RADWAN A.I., 1987. Serological evidence of *peste des petits ruminants* and deer and gazelles in Saudi Arabia. In: Proc. Symp. Potential wildlife conservation, Riyadh, Saudi Arabia, 15-18 Feb. 1987.
14. LEFEVRE P.C., DIALLO A., 1990. Peste des petits ruminants. *Revue sci. tech. Off. int. Epizoot.*, **9**: 951-961.
15. LEFEVRE P.C., SCHENKEL A., HUSSEIN S., STAAK G., 1991. Serological evidence of *peste des petits ruminants* in Jordan. *Vet. Rec.*, **128**: 110.
16. PERL S., ALEXANDER A., YAKOBSON B., NYSKA A., HARMELIN A., SHEKHAT N., SHIMSHONY A., DAVIDSON N., ABRAMSON M., RAPOPORT E., 1994. *Peste des petits ruminants* (PPR) of sheep in Israel. *Isr. J. vet. Med.*, **49**: 59-62.
17. Peste des petits ruminants, 2001. In: Manual of standards diagnostic tests and vaccines. Paris, France, OIE. http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00026.htm
18. REED L.I., MUENCH H., 1938. Estimation of end-point 50. *Am. J. Hyg.*, **27**: 493.
19. ROSSITER P.B., TAYLOR W.P., CROWTHER J.R., 1988. Antigenic variation between three strains of rinderpest virus detected by kinetic neutralization and competition ELISA using early rabbit antisera. *Vet. Microbiol.*, **16**: 195-200.
20. SHAILA M.S., PURUSHOTHAMAN V., BHASAVAR D., VENUGOPAL K., VENKATESAN R.V., 1989. *Peste des petits ruminants* in India. *Vet. Rec.*, **125**: 602.
21. TAYLOR W.P., 1979. Serological studies with the virus of *peste des petits ruminants* in Nigeria. *Res. vet. Sci.*, **26**: 236-242.
22. TAYLOR W.P., 1984. The distribution and epidemiology of PPR. *Prev. vet. Med.*, **2**: 157-166.
23. TAYLOR W.P., ABEGUNDE A., 1979. The isolation of *peste des petits ruminants* virus from Nigerian sheep and goats. *Res. vet. Sci.*, **26**: 94-96.
24. TAYLOR W.P., ALBUSHAILY S., BARRETT T., 1990. The epidemiology of *peste des petits ruminants* in the Sultanate of Oman. *Vet. Microbiol.*, **22**: 341-352.

Reçu le 23.10.2003, accepté le 28.05.2004

Résumé

Housawi F.M.T., Abu Elzein E.M.E., Mohamed G.E., Gameel A.A., Al-Afaleq A.I., Hegazi A., Al-Bishr B. Emergence de la peste des petits ruminants chez des moutons et des chèvres à l'est de l'Arabie saoudite

Au début d'avril 2002, un foyer important de maladie a été rapporté chez des moutons et des chèvres de la province d'Al-Hasa, commune de Hofuf (25° de lat. N, 47° de long. E), dans la région de l'est de l'Arabie saoudite. Le troupeau concerné était composé de 70 moutons et chèvres adultes. L'apparition de cette maladie a été soudaine. Les manifestations cliniques ont été le larmolement, du jetage, de la salivation, des diarrhées abondantes, suivis d'un décubitus et de la mort. La durée de la maladie chez les animaux affectés a été de trois à quatre jours. Sur les 70 animaux du troupeau, 30 ont été affectés et le taux de mortalité chez ces derniers a été de 100 p. 100. Un virus a été isolé en culture de cellules Vero et identifié par neutralisation avec un sérum de référence hyper-immun contre la peste des petits ruminants (PPR) et la peste bovine. Le virus a bien été identifié comme étant celui de la PPR. L'épidémiologie de cette maladie en Arabie saoudite et dans la péninsule arabe est discutée.

Mots-clés : Ovin – Caprin – Virus peste petits ruminants – Réaction antigène anticorps – Epidémiologie – Arabie saoudite.

Resumen

Housawi F.M.T., Abu Elzein E.M.E., Mohamed G.E., Gameel A.A., Al-Afaleq A.I., Hegazi A., Al-Bishr B. Brote de peste de los pequeños rumiantes en ovejas y cabras de la zona oriental de Arabia Saudí

A principios de abril de 2002, se informó de la aparición de un foco importante de la enfermedad en ovejas y cabras de la provincia de Al-Hasa, municipio de Hofuf (25° de lat. N, 47° de long. E), en la región oriental de Arabia Saudí. El rebaño estaba formado por 70 ovejas y cabras adultas. La enfermedad se declaró repentinamente. Las manifestaciones clínicas fueron: una temperatura elevada (41°C), lagrimeo, secreciones, salivación, diarreas abundantes, seguidas de decúbito y muerte. La duración de la enfermedad en los animales afectados fue de tres a cuatro días. De los 70 animales del rebaño, 30 se vieron afectados y la tasa de mortalidad de éstos fue del 100%. Se aisló un virus en cultivo de células Vero y se identificó mediante neutralización con un suero de referencia hiperinmune contra la peste de los pequeños rumiantes (PPR) y la peste bovina. El virus identificado era, efectivamente, el de la PPR. Se analiza la epidemiología de esta enfermedad en Arabia Saudí y en toda la península arábiga.

Palabras clave: Ovino – Caprino – Virus peste rumiantes pequeños – Reacción antígeno anticuerpo – Epidemiología – Arabia Saudita.

Epidemiology and Clinicopathologic Manifestations of Newcastle Disease in Nigerian Local Chickens

T.K. Manchang¹ P.A. Abdu² L. Saidu³

Key words

Chicken – Newcastle disease – Pathogenicity – Seasonal variation – Nigeria.

Summary

A retrospective study of Newcastle disease (ND) in local chickens diagnosed in the Avian Ambulatory Unit of the Veterinary Teaching Hospital, Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria, from January 1978 to December 1997 was conducted. The incidence rate was higher in the dry season with 183 cases (68.4%) against 97 cases (34.6%) in the rainy season out of a total of 280 cases. The study suggested that ND was higher during the dry months of the year possibly because of the harmattan, cold, stress and high wind velocity. The rate was higher in the young with 58 cases (20.7%) against 34 (12.1%) in the adult. There was a statistically significant difference ($p < 0.05$) between ND cases in the dry season and in the rainy season. The Doyle's form of ND had the highest incidence with 106 cases against the Beach's form with 36 cases, the Beaudette's form with 6 cases, and the Hitchner's form that had no case. It was therefore recommended that in producing vaccines against ND, antigens that can stimulate production of a high antibody response against the virulent Doyle's form should be used.

■ INTRODUCTION

The Newcastle disease (ND) is endemic in Nigeria (21). The first documented outbreak of the disease occurred in Ibadan in 1952 (15). Since then, the disease has been the most important disease of chickens in Nigeria (11). ND was reported in exotic and local chickens (1, 12, 13). Currently, the disease is controlled by routine vaccination (11). ND continues to be a serious economic threat to the poultry industry resulting in increased morbidity and mortality rates and loss of eggs for both breeding and human consumption (2, 3, 16, 19).

Village chickens according to Martin (18) are free-ranging poultry, mostly unimproved indigenous breeds. A high proportion of

households in the village keep such birds and the flock size generally ranges from a few to up to 100 birds. In village poultry the occurrence of ND is dependent on a combination of factors. The presence of the pathogenic strain of ND is a factor which is necessary for the disease to develop, but it is not in itself the cause. This is because village poultry populations are mixed in terms of susceptibility to infection with the Newcastle disease virus (NDV) because of immunity due to age and exposure to NDV and because of extreme conditions, the spread of the virus from bird to bird does not occur as readily as in intensely housed poultry (18).

The major disease affecting village chickens around the world is ND, and it generally appears in its severest form, often killing 100% of birds (8). ND is enzootic within individual regions and even villages. There was serological evidence of NDV infection in Nigerian local chickens, and a prevalence of about 4% was recorded (4). In Nigeria, local indigenous chickens constitute about 92% of the total chicken population of 134 million. It is believed that virulent NDV is kept in circulation by these local chickens (4). Because of the introduction of susceptible birds through hatching and the probability that some flocks or individuals will have evaded infection during the passage of the disease through the poultry population in the village, it is possible

1. Institute of Agricultural Research for Development, BP 65, Ngaoundere, Adamawa Province, Cameroon
E-mail: manchangtk@justice.com

2. Department of Veterinary Surgery and Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Ahmadu Bello University, Zaria Nigeria

3. Veterinary Teaching Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, Ahmadu Bello University, Zaria Nigeria

that within the village poultry population, there will always be susceptible birds to which diseased birds will transmit NDV (18).

The introduction of NDV to a village most likely occurs when infected live chickens are introduced. Live bird markets are probably a major means of spread (5, 7), particularly since many village owners take birds to markets as soon as they become sick, in an attempt to recuperate something.

Other means of introducing new strains of ND to a village poultry population include wild birds, live infected chickens being transported through the village, infected carcasses, and movement of objects from infected site. Cases of contaminated vaccines have also occurred (5).

Spread by the fecal/oral route is slower than by the respiratory route. Chickens infected with NDV shed the virus in the feces and the infection can become established following its ingestion. This means of spread is important particularly for low virulence viscerotropic strains (18). NDV can survive in feces, on eggshell, on feathers, on walls and other inanimate objects, and in water. In each of these situations, the virus is more resistant to inactivation when it lasts more than a day or two; it can survive many days in ponds and lakes full of organic material. Sick and dead birds are often eaten by flock owners and viscera from birds for the table are often fed to poultry. The combination of these two practices provides an excellent opportunity for ND to spread (18).

There are four forms of the disease caused by different strains of the virus: the Doyle's form, Beach's form, Beaudette's form and Hitchner's form. In the Doyle's form all ages are susceptible. Morbidity may reach up to 100% and mortality is very high, usually 90% (9). In the Beach's form, morbidity is also high and mortality variable. A 10% mortality in the adult is very common though it may be higher. Among immature chickens, mortality is as high as 90%. Mortality in the adult in the case of the Beaudette's form is rare and morbidity is variable (10). The Hitchner's form of the disease has negligible death losses although in young birds especially, when complicated with other infectious diseases, the mortality rate can reach 30% (10).

The simplest and most logical measure against ND and other infections is to prevent contact of the virus with susceptible birds and also to perform vaccinations. Vaccinations give the birds a greater or older degree of protection against infection in case of exposure (6). A combination of sanitary measures to prevent or reduce exposure and of vaccination are often required to control highly contagious diseases such as ND (6). Specific immunity against ND develops within a week of age or older. All individuals in a flock may not develop a substantial immunity as the immunity may wane considerably two to six months after vaccination, and revaccination may be done to increase immunity (6).

This paper examines the incidence of ND in village chickens reported in the Poultry Health Unit of the Veterinary Teaching Hospital over a period of twenty years with the aim of determining the clinical and pathological forms of the disease that are frequent, determining the seasonal distribution of ND, so that an effective vaccination program can be set up as well as the time for administration of these vaccines in this locality.

■ MATERIALS AND METHODS

Clinical records of the Avian Ambulatory of the Veterinary Teaching Hospital were consulted from January 1978 to December, 1997. Most of the chickens were brought to the clinic from Samaru and its vicinity for confirmatory diagnoses.

Postmortem examinations were also conducted on dead birds and appropriate samples taken for microbiological evaluation.

Clinical records were collected as follows: date, case number, flock size, age, number of morbidity cases, number of mortality cases, number presented, history and clinical signs, postmortem changes and treatment recommended. All cases of ND in local chickens were used for the study.

The pathotypes of ND in village chickens were studied based on the classification by Brandly (6). These clinicopathologic forms of ND were studied and tabulated under six headings: the Doyle's form, Beach's form, combined Doyle and Beach's forms, Beaudette's form, Hitchner's form, and those for which no postmortem lesion was reported in the clinical records.

The effect of the season and age of birds on the epidemiology of ND in village chickens was analyzed and tabulated. The following season effects were considered: dry season (January-March), prerainy season (April-June), rainy season (July-September), and predry season (October-December).

The following age groups were considered: young (birds of 1 day to 147 days), adults (birds of 148 days and above), various ages (those that were reported by the clients to be of mixed ages, both young and adults growing together), and unknown age (those whose clinical records did not indicate any age group).

The data were arranged into tables with respect to frequency of ND with non-ND cases, and to season, age, monthly and yearly distribution. The Chi-square test was used to determine whether or not a significant relationship existed between the incidence of ND and the season (17).

■ RESULTS AND DISCUSSION

The Doyle's form of ND had the highest incidence (Table I) with 106 cases (37.9%), followed by the mixed Doyle and Beach's forms with 80 cases (28.6%). The Beach's form had 36 cases (12.9%) and the Beaudette's form only 6 cases (2%). No case was recorded for the Hitchner's form, not necessarily because this form of the disease does not occur in local chickens in this community but because it is a mild and inapparent clinical form in chickens and a rare cause of mortality in birds.

The Doyle's form still remained a threat to village chicken production in this locality. ND cases were higher in the dry season (Table II) with 183 cases (65.4%) out of a total of 280 cases against 97 cases (34.6%) in the rainy season. The results also showed that the difference between ND in the dry season and in the rainy season was statistically significant ($P < 0.05$). This observation corresponded with that of Saidu et al. (20) on the seasonality of ND, which revealed that ND occurs between October and March (with the incidence highest between January and March), which is the harmattan period when there is extreme cold and wind. It is suggested that the high incidence of ND in these months may be due to the influence of high wind velocity, high amounts of dust, cold and stress worsening the outcome of the infection.

The study also showed that ND occurred year round in the village poultry production (Table III), with the highest cases recorded between November and March, and December having the highest number (43 cases), followed by January (41 cases). This study showed that ND was at its peak during the dry months of the year possibly because of the harmattan, cold, stress and high wind velocity. Values of odds ratios (OR) equally indicated a higher incidence in the dry months.

The significance of this result is that vaccination against ND should be intensified in the months preceding the beginning of the dry season, that is between August and September, later doses could be administered in the dry season (January to March).

Table IV reveals that out of 280 cases of ND registered, 58 (20.7%) occurred in the young, 34 (12.1%) in adults, 116 (41.4%) in mixed ages and 72 cases (25.7%) in a history of unknown ages.

Table I

Yearly distribution of the Newcastle disease according to clinicopathologic forms

Year	D	BC	MX	BD	HC	UN	Total
1978-1982	a	a	a	a	a	a	0
1983	b	b	b	b	b	b	0
1984	2	b	4	b	b	1	7
1985	5	2	3	b	b	3	13
1986	5	1	10	1	b	10	27
1987	15	12	9	1	b	5	42
1988	11	3	11	1	b	4	30
1989	10	5	8	1	b	15	39
1990	23	4	8	1	b	6	42
1991	12	3	10	1	b	3	29
1992	5	b	b	b	b	1	6
1993	2	1	b	b	b	4	7
1994	6	3	7	b	b	b	16
1995	5	1	4	b	b	b	10
1996	1	b	2	b	b	b	3
1997	4	1	4	b	b	b	9
Total	106	36	80	6	0	52	280

D: Doyle's form; BC: Beach's form; MX: Doyle and Beach's forms; BD: Beaudette's form; HC: Hitchner's form; UN: Diagnosis in which there were neither clinical signs nor postmortem lesions

a: no case records
b: no case reported

Comparing young and adult cases, the authors observed that ND had a greater chance of occurring in the adults. Chickens became increasingly resistant to ND with age. The low rate of incidence in the adult could be the result of the immunity induced by previous exposure or vaccination (18).

However, flocks of various age groups had the highest number of ND cases. This could be due to the fact that there is a continuous cycling of infection between the adult and the young as they grow together. According to Martin, 1991 (18), village chickens are a mixed population in terms of immunity to ND. Chicks become capable of developing an immune response.

As long as adults are allowed to move and mix with the young, there is always a greater possibility of the young becoming infected with ND in the absence of control measures by vaccination and proper hygiene.

This work also showed that 126 (45%) out of the 280 cases of ND diagnosed in Zaria over a period of 20 years were concurrent with other diseases. These diseases included: ectoparasitism, trauma,

Table II

Seasonal distribution of Newcastle disease (ND) cases with other diseases over a 20 year period in local chickens

Season	Subseason	ND	Non-ND cases
Predry	87	155	
Dry	96	147	
Total dry season		183	302
Prerainy	56	194	
Rainy	41	194	
Total rainy season		97	388
Overall total		280	690

Table III

Total monthly distribution of Newcastle disease (ND) cases with other diseases over a 20 year period

	ND cases	Non-ND cases	Monthly total	Monthly specific rates (%)	OR	95% CI on OR lower bound	95% CI on OR upper bound
January	41	55	96	43	1.84	1.198	2.817
February	33	46	79	42	1.77	1.107	2.823
March	22	46	68	32	1.18	0.696	1.996
April	17	49	66	26	0.85	0.484	1.510
May	17	54	71	24	0.78	0.442	1.362
June	22	91	133	17	0.60	0.366	0.969
July	15	71	86	17	0.52	0.293	0.924
August	10	70	80	13	0.35	0.179	0.693
September	15	53	68	22	0.70	0.387	1.258
October	17	40	57	30	1.05	0.584	1.878
November	26	60	86	30	1.07	0.660	1.727
December	45	55	100	45	1.92	1.263	2.939
Total	280	690	970				

OR: Odds Ratios
CI: confidence interval

Table IV

Distribution by age of Newcastle disease (ND) cases and other diseases in local chickens

Age group	ND cases	Non-ND cases	ND specific rates	OR	95% CI on OR lower bound	95% CI on OR upper bound
Young	58	166	26	0.88	0.633	1.22
Adult	34	43	42	1.81	1.330	2.89
Mixed (various)	116	334	26	0.87	0.676	1.12
Unknown	72	139	34	1.29	0.939	1.77
Total	280	690				

OR: odds ratio

CI: confidence interval

ND: Newcastle disease

Gumboro disease, chronic respiratory disease, infectious sinusitis, vitamin A deficiency, and kerosene poisoning.

Generally, village flocks are affected by a range of poultry diseases (8). Nutrition is often poor in birds dependent on scavenging for limited quantity of available food. This predisposes birds to a wide range of diseases; postmortem examination may conclude that the cause of death was ND, but there are usually other concurrent infections. Hence in controlling ND, efforts should be made towards controlling other diseases.

CONCLUSION

This paper showed that the Doyle's form (viscerotropic-velogenic) of ND was the most prevalent in local chickens in Zaria, Nigeria. Therefore, in producing vaccines against ND, antigens that can stimulate the production of a high antibody response against this virulent form should be used. Also, even though ND occurs year round, it has the highest incidence in the dry season. Vaccination should be intensified prior to that period so that in case of outbreaks, the mortality will be lower. Finally, in controlling ND efforts should also be made towards controlling other diseases, such as the Gumboro disease, helminthosis, chronic respiratory disease, ectoparasitism, etc., because of the issue of concurrent infections.

REFERENCES

1. ABDU P.A., GEORGE J.B., UMOH J.U., 1985. A study of poultry disease diagnosed at Zaria from 1981-1984. *Nigerian vet. J.*, **14**: 63-65.
2. ABDU P.A., MERA U.M., SAIDU L., 1992. A study of chicken mortality in Zaria, Nigeria. In: Proc. National Workshop Livestock and Veterinary Services, Vom, Nigeria, 11-14 August 1992, p. 51-53.
3. ABDU P.A., JAHUN B.M., SAIDU L., 1992. Effects of disease on egg production in chickens in Zaria. In: Proc. National Workshop Livestock and Veterinary Services, Vom, Nigeria, 11-14 August 1992, p. 29-33.
4. ADU F.B., EDO U., SOKALE B., 1986. Newcastle disease: The immunological status of Nigerian local chickens. *Trop. Vet.*, **4**: 149-151.
5. ALEXANDER D.J., 1988. Newcastle disease: Methods of spread. In: Alexander E.D. Ed. Newcastle disease. Norwell, UK, Kluwer Academic, p. 256-272.
6. BRANDLY C.A., 1952. Newcastle disease. In: Briester H.S., Schwarte L.H. Eds, Poultry diseases, 3rd Edn, p. 531-562.

7. CHERDCHAI RATANASETHAKU, 1988. Study of the Newcastle disease vaccination one to four times a year in native chickens raised in the village. *Thai J. vet. Med.*, **18**: 3-5.

8. CUMMING R.B., 1991. Village chicken production. Problems and potentials. In: Spadbrow P.N. Ed. Newcastle disease in village chickens. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research, p. 21-24. (No 39)

9. DOBSON N., 1939. Newcastle disease. In: Proc. 7th World Poultry Congress, **7**: 250-253.

10. ELAM M.K., 1993. The influence of season, type, breed, age and type of vaccine on the morbidity due to Newcastle disease after vaccination in poultry. Zaria, Nigeria, Faculty of Veterinary Medicine, Ahmadu Bello University.

11. EZEKOLI C.D., UMOH J.U., ADESIYAN A.A., ABDU P.A., 1984. Prevalence of Newcastle virus antibodies in local and exotic chickens under different management systems in Nigeria. *Bull. Anim. Health Prod. Afr.*, **32**: 253-257.

12. FATUMBI O.O., ADENE D.F., 1979. Susceptibility of the Nigerian local chickens to a fulminating Newcastle disease outbreak. *Nigerian vet. J.*, **8**: 30-32.

13. GOMWALK N.E., ADESIYUN J.T., BISHU G., ADESUYUN A.A., 1985. A serological survey of Newcastle disease virus in domestic poultry around Zaria. *Nigerian vet. J.*, **14**: 70.

14. HANSON R.P., 1972. In: Diseases of poultry, 6th Edn. In: Holstad M.S., Calnek B.W., Helmboldt C.F., Reid W.M., Yoder H.W. Eds. Ames, IA, USA, Iowa State University Press, p. 619-656.

15. HILL C.D., DAVIES O.S., WILDE J.K., 1953. Newcastle disease in Nigeria. *Br. vet. J.*: 381-385.

16. JUNGHER E.G., MARKHAM F.S., 1962. Relationships between puertorian epizootic and the B1 strain of Newcastle disease virus. *Poult. Sci.*, **14**: 522-528.

17. KLEINBAUM D.G., KUPPER L.L., 1978. Applied regression analysis and multivariable methods. North Scituate, MA, USA, Duxbury.

18. MARTIN P.A.J., 1991. The epidemiology of the Newcastle disease in village chickens. In: Spadbrow P.N. Ed. Newcastle disease in village chicken. Canberra, Australia, Australian Centre for International Agricultural Research, p. 40-45. (No 39)

19. PHILLIPS J.M., 1973. Vaccination against Newcastle disease, an assessment of haemagglutination inhibition titers obtained from field samples. *Vet. Rec.*, **93**: 577-583.

20. SAIDU L., ABDU P.A., UMOH J.U., ABDULLAHI U.S., 1994. Diseases in Nigerian indigenous chickens. *Bull. Anim. Health Prod. Afr.*, **42**: 19-23.

21. SAIDU L., ABDU P.A., MARKUS E.L., 1998. Retrospective studies on Newcastle disease in vaccinated flocks in Zaria, Nigeria. *Student Vet.*, **17**: 27-31.

Accepté le 9.12.2004

Résumé

Manchang T.K., Abdu P.A., Saidu L. Epidémiologie et manifestations clinicopathologiques de la maladie de Newcastle chez des poulets de race locale nigériens

Une étude rétrospective a été menée sur la maladie de Newcastle (MN) diagnostiquée chez des poulets de race locale dans le service ambulatoire aviaire du Veterinary Teaching Hospital, à l'université d'Ahmadu Bello, Zaria, Nigeria, entre janvier 1978 et décembre 1997. Sur un total de 280 cas, le taux d'incidence de la MN a été plus élevé pendant la saison sèche avec 183 cas (68,4 p. 100) que pendant la saison des pluies avec 97 cas (34,6 p. 100). Les résultats ont suggéré que le taux de la MN était plus élevé pendant la saison sèche peut-être en raison de l'harmattan, de la force du vent, du froid et du stress. Le taux a été plus élevé chez les jeunes avec 58 cas (20,7 p. 100) contre 34 (12,1 p. 100) chez l'adulte. La différence entre les cas de MN pendant la saison sèche et pendant la saison des pluies a été significative ($p < 0,05$). La forme de Doyle de la MN a été la forme qui a eu la plus grande incidence avec 106 cas, contre 36 cas pour celle de Beach, 6 cas pour celle de Beaudette et aucun cas pour celle de Hitchner. Ainsi, il est recommandé d'utiliser des antigènes qui peuvent stimuler la production d'une forte réponse des anticorps contre la forme virulente de Doyle, lors de la production de vaccins contre la MN.

Mots-clés : Poulet – Maladie de Newcastle – Pouvoir pathogène – Variation saisonnière – Nigeria.

Resumen

Manchang T.K., Abdu P.A., Saidu L. Epidemiología y manifestaciones clínico-patológicas de la enfermedad de Newcastle en los pollos de raza local nigerianos

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo sobre la enfermedad de Newcastle (EN), diagnosticada en pollos de raza local en el servicio ambulatorio aviar del Veterinary Teaching Hospital, en la Universidad de Ahmadu Bello, Zaria, Nigeria, entre enero 1978 y diciembre 1997. De un total de 280 casos, la tasa de incidencia de la EN fue más elevada durante la estación seca, con 183 casos (68,4%), que durante la estación lluviosa, con 97 casos (34,6%). Los resultados sugieren que la tasa de EN fue más elevada durante la estación seca, quizá debido al harmattan, a la fuerza del viento, al frío y al estrés. La tasa fue más elevada en los jóvenes, con 58 casos (20,7%), contra 34 (12,1%) en el adulto. La diferencia entre los casos de EN durante la estación seca y durante la estación lluviosa fue significativa ($p < 0,05$). La forma de Doyle de la EN fue la forma con mayor incidencia, con 106 casos, contra 36 casos para la de Beach, 6 casos para la de Beaudette y ningún caso para la de Hitchner. Se recomienda utilizar los antígenos que pueden estimular la producción de una respuesta fuerte de anticuerpos contra la forma virulenta de Doyle para la producción de vacunas contra la EN.

Palabras clave: Pollo – Enfermedad de Newcastle – Patogenicidad – Variación estacional – Nigeria.

Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux

ABONNEMENT/SUBSCRIPTION

France	Union européenne <i>European Union</i>	Pays ACP <i>ACP countries</i>	Autres pays étrangers <i>Other foreign countries</i>
76 €	93 €	60 €	100 €

Je désire m'abonner à la Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux
(4 numéros par an)

*I wish to subscribe to the Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux
(4 issues a year)*

nom/name:.....prénom/first name:.....

adresse/address:

ville/city:.....pays/country:.....

Je vous joins mon règlement, soit / I enclose payment of

.....€

Date

à l'ordre de LAVOISIER
payable to LAVOISIER

Je désire recevoir un numéro spécimen
Please send me a free sample

A retourner à / Return to

LAVOISIER
Brigitte Delestaing
14, rue de Provigny
94236 Cachan Cedex, France

tél : +33 (0)1 47 40 67 00
fax : +33 (0)1 47 40 67 03
abo@Lavoisier.fr
<http://www.Lavoisier.fr>

Serological Survey of the Newcastle Disease and Infectious Bursal Disease in Local Ducks and Local Guinea Fowls in Jos, Plateau State, Nigeria

H.M. Mai^{1*} O.D. Ogunsola¹ O.L. Obasi²

Key words

Poultry – Duck – Guinea fowl – Newcastle disease – Gumboro disease – Nigeria.

Summary

A serological survey was conducted to determine the prevalence of Newcastle disease (ND) and infectious bursal disease (IBD) antibodies in local ducks and local guinea fowls brought from different locations within Plateau State and neighboring areas to be sold at Yankaji, a poultry market in Jos. The hemagglutination inhibition test and agar gel immunodiffusion test were used to diagnose ND and IBD, respectively. Results indicated that out of the 165 serum samples collected from ducks, 11 (6.7%) had antibodies against the ND virus. Similarly, out of the 205 serum samples collected from guinea fowls, 28 (13.6%) had antibodies against the ND virus. All sera from ducks and guinea fowls were negative for IBD antibodies. It was concluded that both local ducks and guinea fowls had been exposed to the Newcastle disease virus but not to the infectious bursal disease virus.

■ INTRODUCTION

For the past few decades, poultry production has become increasingly organized, specialized and integrated into an industry of major national and international importance. Though the high price of poor quality feeds has adversely affected the cost of poultry production in Nigeria, diseases constitute one of the major factors that can limit production (10). Some of the common diseases that have been of great concern include the Newcastle disease (ND), Marek's disease, chronic respiratory disease, infectious bursal disease (IBD), fowl typhoid, coccidiosis, and other diseases associated with ectoparasites such as mites and lice, which constantly inflict high mortality and drop in egg production in commercial flocks with high yields (1, 10, 12).

1. Animal Production Programme, School of Agriculture, Abubakar Tafawa Balewa University, Bauchi, Nigeria

2. Faculty of Agriculture, University of Uyo, Akwa-Ibom State, Nigeria

* Corresponding Author's present address

National Artificial Insemination Centre, Ministry of Agriculture and Animal Resources, BP 3014, Kigali, Rwanda

Tel: +250 087 51 177; Fax +250 516 248

E-mail: hassanmai@hotmail.com

More or less all ages of different species of birds are susceptible to ND, although substantially less with advancement to maturity (5). The acute and virulent form may result in 90% mortality or more in affected flocks (3). The primary mode of transmission of the Newcastle disease virus (NDV) within a flock is by aerosol. Within two days after exposure and a day before showing clinical signs of the disease, the infected birds begin to release the virus into the air through nasal secretions or feces (15, 26). The ability of ND to affect not only poultry and other birds, but also man and other mammals, magnifies the potential as well as the acute threat from NDV.

Despite the widespread use of the ND vaccine by poultry farmers, the disease has continued to be one of the most devastating diseases of poultry in terms of morbidity and mortality. Outbreaks of ND in vaccinated flocks have been reported in Nigeria (13, 25).

IBD is an acute contagious viral disease of poultry characterized by the inflammation of the bursa of Fabricius with its conspicuous enlargement (7). All breeds of chickens are susceptible, with those between 2-7 weeks being most susceptible (19). However, IBD has been reported in 20-week-old birds (8). Mortality in pheasants has been reported to range between 2 and 80% (16), and Onunkwo (23) reported mortality to reach 100% in chickens. This high mortality is also attributed to other complications such as salmonellosis, coccidiosis, etc. (2, 16). The immunosuppression precipitated by damage to the bursa of Fabricius in survivors and subclinically infected chickens results in increased susceptibility to the other diseases (2).

Newcastle and infectious bursal diseases are the two most dreaded viral diseases of poultry in Nigeria. Over the years, attempts at controlling them have not been very successful. Sporadic outbreaks are still common among free roaming village chickens as well as commercial flocks (14). The circulation of the causative virus among free roaming and wild birds has been reported to be one of the factors responsible for the sporadic outbreaks of ND and IBD (21). Furthermore, NDVs were isolated from specimens collected from affected ducks and guinea fowls during outbreaks in the country (9, 17).

The local ducks and local guinea fowls are reared under a relatively uncontrolled extensive system of management. Hence their proximity to and actual contact with exotic commercial poultry strongly suggest that they could play a role in the transmission of infectious diseases of poultry (2, 21). In this study, an attempt was made to detect ND and IBD antibodies from the sera of healthy local ducks and local guinea fowls in Jos, Plateau State, Nigeria.

■ MATERIALS AND METHODS

Survey population

A total population of 165 local ducks and 205 local guinea fowls were screened for ND and IBD between January and May 2002. The birds were brought by local farmers in need of money from different locations within Plateau State and its surrounding area to be sold at Yankaji, a poultry market in Jos, for slaughter, processing and marketing. Their ages could not be determined. Whole blood was collected into sterile labeled vaccine vials during bleeding process when the jugular vein was severed using a sharp clean knife during the slaughter.

Preparation of sera

The whole blood collected from ducks and guinea fowls was identified and allowed to clot under atmospheric conditions.

The serum was decanted and clarified by centrifugation at 1000 rpm for 15 min. The clear serum was stored at -20°C until used.

Agar gel immunodiffusion test

The agar used for the immunodiffusion technique was purified agar. The salt used was sodium chloride salt. Sodium azide was used as preservative to inhibit microbial growth.

Hemagglutination inhibition test

The standard ND antigen used was LaSota ND vaccine produced at the Virology Laboratory of the National Veterinary Research Institute (NVRI), Vom, Plateau State, Nigeria. The antigen was produced by large scale aseptic propagation of the virus. The live virus was grown in the allantoic cavity of fowl eggs. It contained a minimum of $10^{3.2}$ embryo infective dose (EID 50) per bird dose. The positive control NDV antiserum used in the hemagglutination inhibition test was the serum raised to the reference ND antigen. Chicken red blood cells for the test were obtained from healthy NDV susceptible birds.

Serology of Newcastle and infectious bursal diseases

Antibodies to ND were detected by the hemagglutination inhibition technique as described by Clark and Casel (6). Antibodies to IBD in the sera were determined by the agar gel precipitation technique as described by Phillips (24).

■ RESULTS

Out of the total number of serum samples examined for NDV antibodies in ducks, 11 (6.7%) were positive, while none had antibodies against the infectious bursal disease virus (IBDV) (Table I). Of the total serum samples tested for the presence of NDV antibodies in guinea fowls, 28 (13.6%) were positive. None had antibodies against IBDV (Table I).

■ DISCUSSION

The results of the serological survey indicated that local ducks and local guinea fowls marketed and slaughtered in Jos metropolis had antibodies against ND. This finding tends to agree with an earlier report by Ibu et al. (14) who showed prevalence rates for ND of 1.7% in ducks and 15.0% in guinea fowls under similar sampling circumstances and while using the same method of serological survey as that in the present study but with a smaller sample size.

Table I

Antibodies against viruses of Newcastle and infectious bursal diseases in local ducks and local guinea fowls

Poultry type	Num. samples tested	Num. samples positive for NDV antibodies (%)	Num. samples positive for IBDV antibodies
Ducks	165	11 (6.7)	0
Guinea fowls	205	28 (13.6)	0

NDV: Newcastle disease virus

IBDV: infectious bursal disease virus

The presence of ND virus antigens in apparently healthy birds indicated the possibility of these birds acting as healthy carriers of ND (18). Although a fatal outbreak of ND among guinea fowls has been reported (20), these species of birds seem to be more resistant to ND than chickens. Oladele et al. (22) reported negative results of ND in guinea fowls in Zaria. Furthermore, the duck is known to be more resistant to ND than the domestic chicken and turkey (17). However, Gomwalk et al. (11) found high prevalences of 16.0 and 9.0% in ducks and guinea fowls, respectively, while Oladele et al. (22) observed a prevalence rate up to 16.7% in ducks in Zaria. As the guinea fowls and ducks were allowed to roam freely in the vicinity along with chickens, the presence of NDV in the former could pose a threat of disease outbreak in the latter, particularly in the exotic/commercial breeds of birds that are managed intensively. Worse yet was the fact that ducks and guinea fowls were not vaccinated.

The presence of ND antibodies in the sera of ducks and guinea fowls in this study was an indication of previous exposure of these birds to the virus. Since these birds were not routinely vaccinated, they might have been exposed to natural infection in the field. All the sera of ducks and guinea fowls examined in Jos poultry market were negative for antibodies against IBDV (Table I). This is in consonance with earlier observations using the same serological

technique as that in this study, which showed negative IBDV antibodies in the sera of ducks and guinea fowls (14, 18, 22), although Ibu et al. (14), who conducted the work in the same area, considered only 120 serum samples and 40 rectal swabs. Furthermore, the disease is known to have occurred in chickens only (4). Nawathe et al. (18) reported that antibodies against IBDV were widely spread in both intensively-managed and free-range domestic chickens. This indicated that chickens were more susceptible to the virus than ducks and guinea fowls, since no specific antibodies against IBD were detected in either ducks or guinea fowls in this study.

■ CONCLUSION

On the basis of this study, local ducks and local guinea fowls appeared to constitute foci of infections, serving as biological vertebrate vectors for NDV transmission to the more susceptible avian species. On the other hand, ducks and guinea fowls were resistant to IBD, and, therefore, they may not act as carriers in the epidemiology of IBD infections. There is the need to introduce a vaccination program for local birds and to restrict their movements/interactions with commercial poultry by fencing farm premises, as well as to conduct further research on the epidemiology of infectious diseases in local birds.

REFERENCES

- ABDU P.A., GEORGE J.B., UMOH J.U., 1986. A study of poultry diseases diagnosed at Zaria from 1981-1984. *Niger. vet. J.*, **14**: 63-65.
- ADENE D.F., OYEJIDE A., OWOADE A.A., 1985. Studies on the possible roles of naturally infected Nigerian local chickens and vaccine virus in the epidemiology of infectious bursal disease. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **38**: 122-126.
- ALEXANDER D.J., ALLAN W.H., 1974. Newcastle disease virus pathotypes. *Avian Pathol.*, **3**: 269-278.
- BAINS B.S., 1979. A manual of poultry diseases, 4th Edn. Basle, Switzerland, F. Hoffman-la-Rode.
- BEAUDETTE F.R., 1943. A review of literature on Newcastle disease. In: Proc 4th Annual Meeting US Livestock Assoc., No 47, p. 122-177.
- CLARK D.H., CASEL J., 1958. Technique for haemagglutination inhibition with arthropod-borne viruses. *Am. J. trop. Med.*, **7**: 561-573.
- COSGROVE A.S., 1962. An apparently new disease of chickens - avian nephrosis. *Avian Pathol.*, **3**: 269-278.
- DUROJAIYE A.O., ADENE D.F., OWOODE A.A., 1985. Counter immunoelectro-osmophoresis in the diagnosis of infectious bursal disease of poultry. *Trop. Anim. Health Prod.*, **17**: 225.
- ECHIONWU G.O.N., IRUEGBU C.A., EMERUWA A.C., 1993. Recovery of velogenic Newcastle disease virus from dead and healthy free-roaming birds in Nigeria. *Avian Pathol.*, **22**: 383-387.
- FASANYA O.O.A., 1984. Poultry mycosis effect in poultry production and some suggested solutions. *Niger. Livest. Farmer*, **4**: 19.
- GOMWALK N.E., ADESIYUN J.T., BISHU G., ADESIYUN A.A., 1985. A serological survey of Newcastle disease virus in domestic poultry around Zaria. *Niger. vet. J.*, **14**: 70.
- GORDON R.F., JORDAN F.T.M., 1982. Poultry diseases, 2nd Edn. London, UK, Ballière Tindall.
- HALLE P.D., UMOH J.U., SAIDU L., ABDU P.A., 1999. Prevalence and seasonality of Newcastle disease in Zaria, Nigeria. *Trop. Vet.*, **17**: 53-62.
- IBU O.J., ABA-ADULUGBA A., ADELEKE M.A., TIJJANI A.Y., 2000. Activity of Newcastle disease and infectious bursal disease viruses in ducks and guinea fowls in Jos area, Nigeria. *Sokoto J. vet. Sci.*, **2**: 45-46.
- KETEOCHA C.C., 1985. Pfizer poultry production handbook. London, UK, Macmillan.
- LOUZIS C., GILLET J.P., IRGENS K., JEANNIN A., PICAULT J.P., 1979. La maladie de Gumboro : apparition chez le faisan d'élevage. *Bull. mens. Soc. vét. Prat. Fr.*, **63** : 785-789.
- MAJIYAGBE K.A., NAWATHE D.R., 1981. Isolation of virulent Newcastle disease virus from apparently normal ducks in Vom. *Vet. Rec.*, **180**: 10.
- NAWATHE D.R., ONUNKWO O., SMITH I.M., 1978. Serological evidence of infection with the virus of infectious bursal disease in wild and domestic birds in Nigeria. *Vet. Rec.*, **102**: 444.
- OJO M.O., ODUYE O.O., NOIBI L.M., IDOWU L.A., 1973. Gumboro-like disease in Nigeria. *Trop. Anim. Health Prod.*, **5**: 52-57.
- OKEAME A.N., FOLORUNSHO A.D., FALAYI B.A., 1988. An outbreak of Newcastle disease in guinea fowls (*Numida meleagris*) in Nigeria. *Bull. Anim. Health Prod. Afr.*, **36**: 176-178.
- OKEKE E.N., LAMORDE A.G., 1988. Newcastle disease and its control in Nigeria. In: Viral diseases, 1st Edn. Lagos, Nigeria, OAU, STRC, p. 283-299.
- OLADELE S.B., KAZEEM H.M., RAJI M.A., 1996. Survey for antibodies to infectious bursal disease, Newcastle disease and fowl pox in ducks, pigs and guinea fowls in Zaria. *Niger. vet. J.* (special Edn) **1**: 85-87.
- ONUNKWO O., 1975. An outbreak of infectious bursal disease of chickens in Nigeria. *Vet. Rec.*, **97**: 433.
- PHILLIPS W.E., 1981. Comparison of precipitin antibodies and virus neutralization antibodies to infectious bursal disease virus. *Avian Dis.*, **24**: 1093-1097.
- SHOYINKA S.V.O., 1983. Field evaluation of vaccinal control of Newcastle disease in Nigeria. *Bull. Anim. Health Prod. Afr.*, **31**: 83-86.
- SINHA S.K., HANSON R.P., BRANDLY C.A., 1954. Comparison of the tropism of six strains of NDV in chickens following aerosol infection. *J. Infect. Dis.*, **91**: 276-282.

Accepté le 29.09.2004

Résumé

Mai H.M., Oguniola O.D., Obasi O.L. Enquête sérologique sur la maladie de Newcastle et la maladie de Gumboro chez les canards et les pintades indigènes de Jos, dans l'Etat du Plateau au Nigeria

Une enquête sérologique a été menée pour déterminer la prévalence d'anticorps contre la maladie de Newcastle (MN) et contre la maladie de Gumboro (MG) chez des canards et des pintades indigènes provenant de différentes localités au sein de l'Etat du Plateau et de sa périphérie, pour être vendus à Yankaji, un marché de volailles de Jos. La réaction d'inhibition de l'hémagglutination et le test d'immunodiffusion en gélose ont été utilisés pour le diagnostic respectivement de la MN et de la MG. Les résultats ont montré que sur les 165 échantillons de sérum prélevés sur les canards, 11 (6,7 p. 100) avaient des anticorps contre le virus de la MN. De même, sur les 205 échantillons de sérum prélevés sur les pintades, 28 (13,6 p. 100) avaient des anticorps contre le virus de la MN. Les sérums de tous les canards et de toutes les pintades ont été négatifs pour les anticorps anti-MG. Il ressort de cette étude que les canards ainsi que les pintades indigènes de la région ont été exposés au virus de la ND mais pas à celui de la MG.

Mots-clés : Volaille – Canard – Pintade – Maladie de Newcastle – Maladie de Gumboro – Nigeria.

Resumen

Mai H.M., Oguniola O.D., Obasi O.L. Encuesta serológica de la enfermedad de Newcastle y de la bursitis infecciosa en patos locales y gallinas de Guinea locales en Jos, estado de Plateau, Nigeria

Se llevó a cabo una encuesta serológica para determinar la prevalencia de anticuerpos contra la enfermedad de Newcastle (EN) y la bursitis infecciosa (BI), en patos y gallinas de Guinea traídos de diferentes sitios dentro del estado de Plateau y las áreas vecinas, para ser vendidos en Yankaji, un mercado de aves en Jos. El test de inhibición de la hemoaglutinación y el test de inmunodifusión en agar gel fueron utilizados para diagnosticar EN y BI, respectivamente. Los resultados indican que de los 165 sueros colectados de patos, 11 (6,7%) presentaron anticuerpos contra el virus de la EN. De la misma manera, de los 205 sueros recolectados de gallinas de guinea, 28 (13,6%) presentaron anticuerpos anti virus de la EN. Todos los sueros de patos y de gallinas de guinea fueron negativos para anticuerpos contra BI. Se concluye mediante este estudio que ambos los patos y las gallinas de Guinea locales han estado en contacto con el virus de la enfermedad de Newcastle pero no con el virus de la bursitis infecciosa.

Palabras clave: Ave de corral – Pato – Gallina de Guinea – Enfermedad de Newcastle – Enfermedad de Gumboro – Nigeria.

Trypanosome Prevalence in Cattle in Lere Area in Kaduna State, North Central Nigeria

J.N. Abenga^{1*} F.N.C. Enwezor¹ F.A.G. Lawani¹
H.O. Osue¹ E.C.D. Ikemereh¹

Key words

Cattle – *Trypanosoma* – Morbidity – Nigeria.

Summary

Trypanosome prevalence in cattle was estimated in August 2001 in selected farms in the three districts of Lere local government area of Kaduna State, North Central Nigeria. The study was subsequent to reports of trypanosomiasis outbreaks, which had resulted in deaths of cattle that led to yearly migration of seminomadic Fulanis out of the area, especially during the rains. Blood samples collected randomly from 526 cattle were examined for presence of trypanosomes using the buffy coat technique and Giemsa thin blood smears. Overall, 48 animals were found infected: 39 (81%) with *Trypanosoma vivax*, 7 (15%) with *T. congolense* and 2 (4%) with *T. brucei*. The infection rates in young and adult cattle were 6 and 10%, respectively, which was not significant ($P > 0.05$). From this study, it is clear that trypanosomiasis is still a major obstacle to livestock production in Nigeria and that the incidence rate is similar in young and adult animals.

INTRODUCTION

Animal trypanosomiasis is one of the main pathological constraints on the development of animal production in sub-Saharan Africa (8, 12) and causes annual losses estimated at US\$ 1 billion (3). Tsetse flies are the main vectors in this part of Africa. In Nigeria, tsetse flies still infest 80% of the nation's land mass including the high lands of Jos, Mambilla and Obudu plateaux previously known to be tsetse free (16). The risk of transmission is primarily linked to the intensity of the encounters between vectors and hosts (12).

In the last three years, the Nigerian Institute for Trypanosomiasis Research (NITR) has received reports of outbreaks of animal trypanosomiasis, which resulted in deaths of cattle with consequent yearly migration of seminomadic Fulanis out of Lere local government area (LGA) during the rainy seasons. Lere LGA used to be a known human African trypanosomiasis (sleeping sickness) endemic focus between 1930 and 1960 (4), after which the disease

was effectively controlled to below epidemic proportions (10). Up till 1998, sleeping sickness cases were still identified in this area and other parts of Nigeria (5).

Furthermore, in a Fulani herd located one kilometer away from Saminaka, 124 out of 150 (83%) animals were reported to have died in a space of three years. The remaining 26 animals were examined during a spot survey and were all found to be infected with *Trypanosoma vivax* (Abenga et al., pers. commun., 2000). For these reasons, a more extended study was undertaken to assess the prevalence of trypanosome infection in cattle in the area for appropriate control measures that will permit the exploitation of the abundant fodder and water for large scale cattle production.

MATERIALS AND METHODS

Study area

Lere LGA of Kaduna State (Figure 1) is situated at latitude 10° 50' N and longitude 7° 54' N. The LGA is made up of three districts: Garu, Kadaru and Lere with Saminaka in Lere district as its headquarter. The study was conducted in these three districts in August 2001. The study area with an estimated human population of about 180,000 and a cattle population of 1500 was an old

1. Pathology, Epidemiology and Statistics Division,
Nigerian Institute for Trypanosomiasis Research,
PMB 2077, Kaduna, Kaduna State, Nigeria

* Corresponding Author
E-mail: jnabenga@yahoo.com

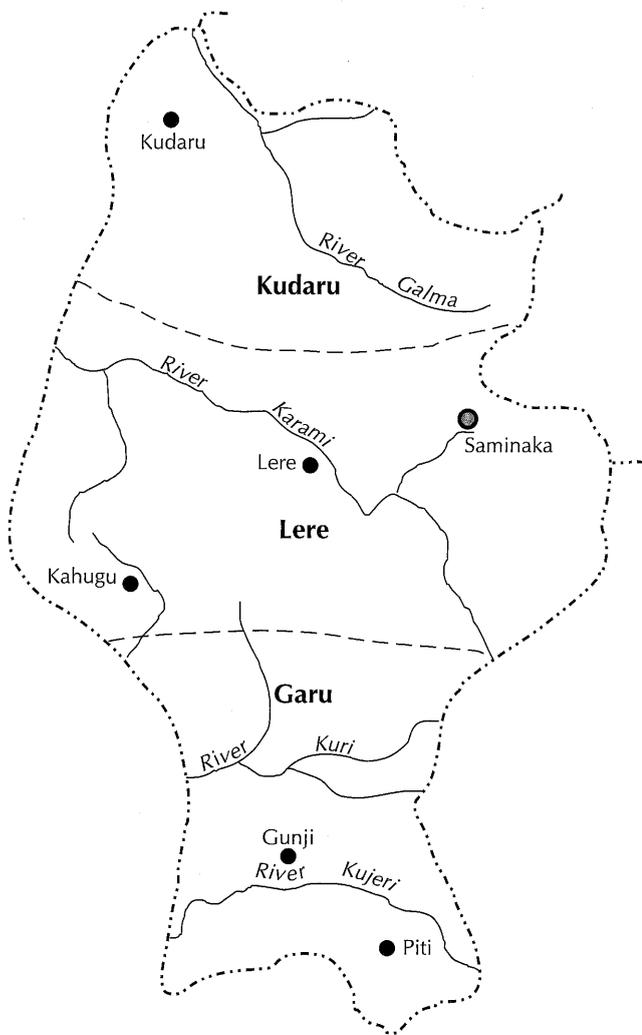


Figure 1: Map of Lere local government showing the three districts and cattle settlement areas surveyed.

endemic sleeping sickness area (4, 14); it lies within the subhumid zone, which is characterized by a dry season period from November to April and a rainy season from May to October. There are a few rivers in the area but there are seasonal streams and ponds which usually dry up during the dry season, although few ponds survive the dry season and serve as source of water for domestic use as well as drinking water for the livestock.

Vegetation is typical of the Northern Guinea savannah woodland (Figure 2). However, because of the effects of annual bush fires, there are now many species of both the Northern and the derived savanna zones found in the area. Lere districts fall within the *Glossina tachinoides* and *G. palpalis* infestation belt (15).

Settlement patterns are mainly hamlets and farm compounds. There are more than ten different tribes, including Kurama, Hausawa, Amarwa, Warsa and Fulani, and Hausa is the general spoken language. The main occupations of the people are farming, fishing and trading. Mixed farming of crop cultivation and animal production is the usual practice, and the LGA is known for its maize production and supply to several parts of Nigeria. During the rainy season, many of the cattle rearers go on transhumance to Bauchi State with their animals and return at the end of the rainy season. Infrastructure development is poor with some areas being inaccessible during the rains.

Animal sampling and diagnosis

A systematic random sampling was used to obtain a sample of 526 cattle of different ages, sexes and breeds. Animals one year and under were considered as young calves, whereas those over one year were regarded as adults. The animals were made up mostly of white Fulani breeds of cattle (Bunaji) and few Sokoto Gudali.

From each animal, five milliliters of blood were taken from the jugular vein into specimen bottles containing ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA) dispensed as one milligram powder per milliliter of blood and conveyed in cold boxes with ice packs to the field laboratory for analysis. The samples were analyzed using the buffy coat dark ground/phase contrast technique (13) and Giemsa-stained thin smears. Trypanosome species were identified based on their morphological structure from Giemsa-stained thin films. The rates of infection in animals under and over one year of age were analyzed using ANOVA, while the prevalences between districts were analyzed using the sample T test.

■ RESULTS

In the 319 cattle sampled in Garu district, 67 were under one year old. Of these 67 young cattle, parasitological examinations showed three *T. vivax* and one *T. congolense* infections. In the 252 adult animals, four showed *T. vivax*, six *T. congolense* and one *T. brucei* infections, bringing to eleven the number of trypanosome-infected cases. Finally, 4.7% of the animals were found infected in Garu district, 46.6% with *T. vivax*, 46.6% with *T. congolense* and 6.6% with *T. brucei* (Table I).

Table I
Prevalence of trypanosome infections

Cattle Age	Garu					Kudaru					Lere				
	Num. sampled	Num.+ (%)	Tv (%)	Tc (%)	Tb (%)	Num. sampled	Num.+ (%)	Tv (%)	Tc (%)	Tb (%)	Num. sampled	Num.+ (%)	Tv (%)	Tc (%)	Tb (%)
≤ 1 year	67	4 (5.9)	3 (75)	1 (25)	0	35	0	0	0	0	15	3 (20)	3 (100)	0	0
> 1 year	252	11 (4.4)	4 (36.4)	6 (54.5)	1 (9)	105	8 (7.6)	8 (100)	0	0	52	22 (42.3)	21 (95.5)	0	1 (4.5)
Total	319	15 (4.7)	7 (46.6)	7 (46.6)	1 (6.6)	140	8 (5.7)	8 (100)	0	0	67	25 (37.3)	24 (96)	0	1 (4)

Num.+ = Number of *Trypanosoma*-positive cattle
Tv = *Trypanosoma vivax*; Tc = *T. congolense*; Tb = *T. brucei*

In the 140 cattle sampled in Kudu district, 35 were young, and of these 35 young animals, none was positive for trypanosomes. In the 105 adult animals, eight were positive for *T. vivax* only. Finally, 5.7% of the animals were found infected with *T. vivax* (Table I).

Sixty-seven cattle (15 young and 52 adult) were examined in Lere district. Of the young cattle, three were positive for *T. vivax* only. Of the 52 adult cattle, 21 were positive for *T. vivax* and one for *T. brucei*. In other words, 37.3% of the animals were infected, 96% with *T. vivax* and 4% with *T. brucei*.

Further analysis between districts revealed that there was no significant difference ($P > 0.05$) within the sample sizes and prevalences in the three districts in either young or adult animals. Even though Lere district recorded the highest prevalence overall, there was no statistical significant difference between the districts ($P > 0.05$).

DISCUSSION

This study has shown that animal trypanosomosis is prevalent in the three districts of Lere LGA with an overall trypanosome infection rate of 9.1% confirming earlier reports of trypanosomosis menace in the area, upon which the study was predicated. The overall rate of 9.1% positive cases was higher than the 4.3% overall prevalence rate for Nigeria obtained from the country wide

survey within the EEC-trypanosomosis control project between 1989 and 1996 (16). This suggests that animal trypanosomosis is a problem in this area and the present findings agree with the work by Agu et al. (1), who reported a rate of 9.4% in parts of Kaduna State. Similarly, a much higher rate of 53.4% was reported by Maikaje (11) during an outbreak of bovine trypanosomosis in Kaura LGA of Kaduna State. The high prevalences of animal trypanosomosis in Kaduna State appear to indicate a general increase in the menace of the disease in the State.

Further analysis of the results between districts showed that Lere had the highest trypanosome prevalence (37.3%), followed by Kudu and Garu with 5.7% and 4.7%, respectively, but the results were not statistically significant ($P > 0.05$). The majority (81%) of the trypanosome infections detected and identified parasitologically in cattle were *T. vivax*, whereas *T. congolense* and *T. brucei* accounted for the minority (15 and 4%, respectively). Calves less than one year old had an infection rate of 6% compared to 10% obtained in animals more than one year old, but this was not statistically significant; the infections were mainly due to *T. vivax*. This merely indicated that the incidence rate was similar in young and adult animals. The dominance of *T. vivax* infections observed in this study agrees with several workers' findings in Nigeria and West Africa, (6, 7, 9). This could be ascribed to the mechanical transmission or the shorter development cycle in the anterior station of the tsetse fly (2).

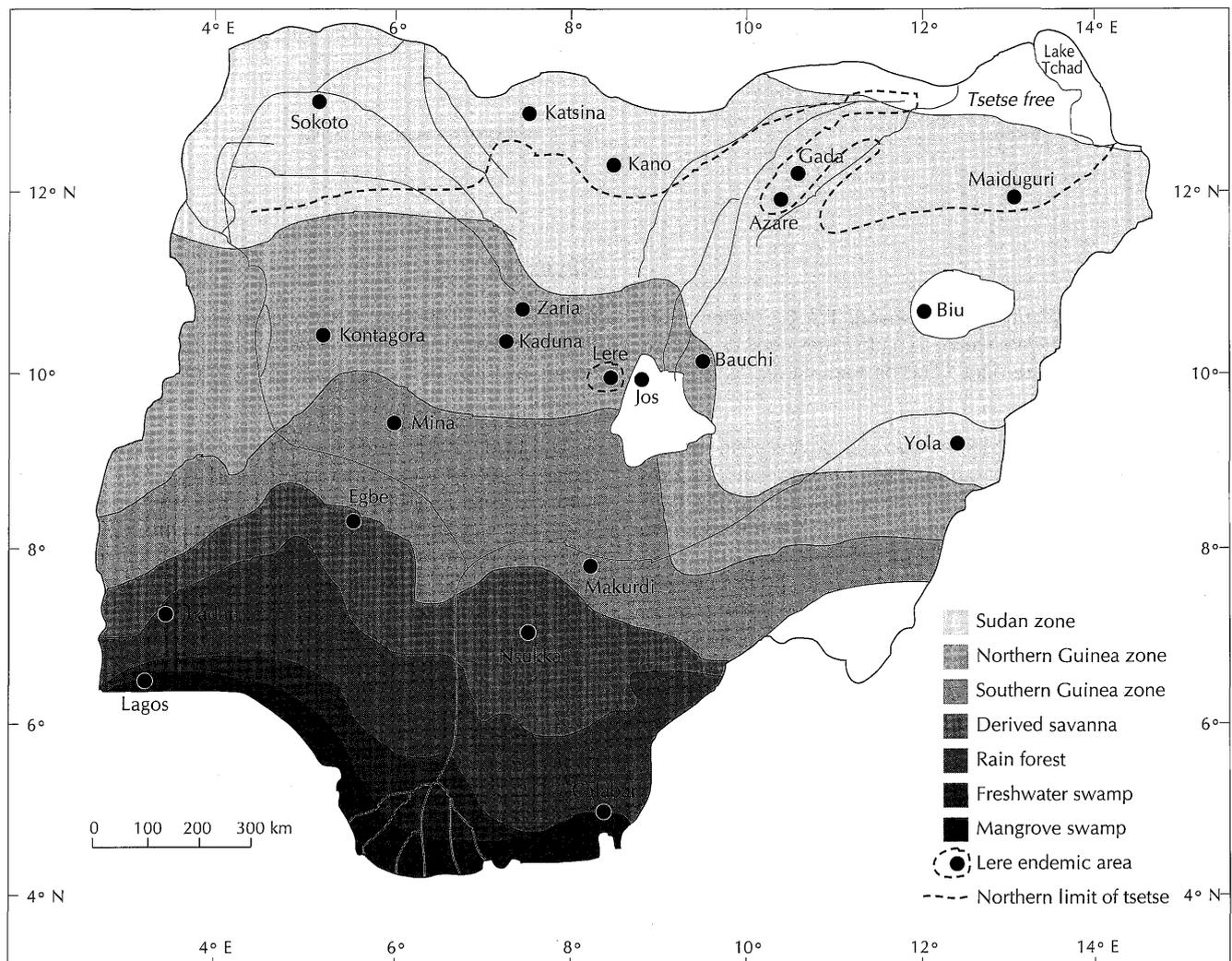


Figure 2: Vegetation map of Nigeria showing Lere endemic area within the Northern Guinea zone.

■ CONCLUSION

Animal trypanosomosis is a major obstacle to livestock production in Lere districts. Since Lere LGA lies within the tsetse belts, it therefore appears appropriate that chemotherapeutic and chemoprophylactic as well as tsetse control programs should be extended to the area in order to curtail the menacing effects of the disease and arrest the flight from the area of the seminomadic Fulanis during the rains. Similar trypanosomosis situations are likely to exist in other parts of Southern Kaduna State as evidenced by Agu et al. (1), and in the Southern Guinea savannah of Nigeria. These findings call for concerted and sustained efforts in the control of the disease.

Acknowledgments

We are grateful to Late Mr Marcus Maikaje for technical assistance and to the Director General, NITR, Kaduna, Dr Ibrahim Halid, for funding the study.

REFERENCES

1. AGU W.E., KALEJAIYE J.O., OLATUNDE A.O., 1989. Prevalence of bovine trypanosomosis in some parts of Kaduna and Plateau States, Nigeria. *Bull. Anim. Health Prod. Afr.*, **37**: 161-166.
2. DANIEL A.D., JOSHUA R.A., KALEJAIYE J.O., DADA A.J., 1994. Prevalence of trypanosomosis in sheep and goats in a region of Northern Nigeria. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **47**: 295-297.
3. DEHAAN C., BEKURE S., 1991. Animal health services in sub-Saharan Africa: initial experiences with new approaches. Washington, DC, USA, World Bank, 88 p.
4. DUGGAN A.J., 1962. A survey of sleeping sickness control in Northern Nigeria from the earliest time to the present day. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **55**: 439-480.

5. ENWEZOR F.N.C., UKAH J.C.A., 2000. Advanced trypanosomiasis (sleeping sickness) in a child: Case report. *Niger. J. Parasitol.*, **21**: 143-146.
6. ESURUOSO G.O., 1974. The epizootiology, prevalence and economic aspects of bovine trypanosomiasis in Nigeria. *Proc. Am. Anim. Health Assoc.*, **27**: 160-175.
7. HOARE C.A., 1972. The trypanosomiasis of animals, 1st Edn. London, UK, Blackwell Scientific.
8. HURSEY B.S., SLINGENBERGH J., 1995. The tsetse fly and its effects on agriculture in sub-Saharan Africa. *Revue mond. Zootech.*, **84**: 67-73.
9. LOSOS G.J.B., 1986. Trypanosomiasis. Infectious tropical disease of domestic animals. Harlow, Essex, UK, Longman Scientific and Technical, p. 183-318.
10. MACLEAN K.J.R., 1970. In: Mulligan H.W. Ed., The epizootiology of trypanosomiasis. London, UK, George Allen and Unwin/ODA, p. 751-765.
11. MAIKAJE D.B., 1998. Some aspects of the epidemiology and drug sensitivity of bovine trypanosomiasis in Kaura LGA of Kaduna State. PhD Thesis, Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria, p. 147.
12. MICHAEL J.F., DRAY S., DE LA ROCQUE S., DESQUESNES M., SOLANO P., DE WISPELAERE G., CUISANCE D., 2002. Modelling bovine trypanosomiasis spatial distribution by GIS in an agro-pastoral zone of Burkina Faso. *Prev. vet. Med.*, **56**: 5-18.
13. MURRAY M., MURRAY P.K., MCINTYRE W.I.M., 1977. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **71**: 325-326.
14. NITR, 1968. Annual report on sleeping sickness control in Northern Nigeria. Kaduna, Nigeria, NITR, p. 21-48.
15. OMOOGUN G.A., DIPEOLU O.O., AKINBOADE O.A., 1991. The decline of a *Glossina morsitans submorsitans* belt in the Egbe area of the derived savanna zone, Kwara State, Nigeria. *Med. vet. Entomol.*, **5**: 43-50.
16. ONYIAH J.A., 1997. African animal trypanosomosis: An overview of the current status in Nigeria. *Trop. Vet.*, **15**: 111-116.

Reçu le 18.12.2003, accepté le 02.09.2004

Résumé

Abenga J.N., Enwezor F.N.C., Lawani F.A.G., Osue H.O., Ikemereh E.C.D. Prévalence de trypanosomes chez des bovins dans la région de Lere dans l'Etat de Kaduna au centre nord du Nigeria

La prévalence de trypanosomes chez des bovins a été estimée en août 2001 dans des fermes sélectionnées dans les trois communes de la zone administrative de Lere, située dans l'Etat de Kaduna au centre nord du Nigeria. Cette étude a été consécutive à des rapports sur la présence de foyers de trypanosomose ayant causé des mortalités chez les bovins et ayant ainsi provoqué des migrations annuelles des Fulanis seminomades hors de cette zone, pendant les pluies en particulier. Des échantillons sanguins de 526 bovins ont été prélevés au hasard et examinés pour la recherche de trypanosomes en utilisant la technique du *buffy coat* et les frottis sanguins par coloration de Giemsa. En tout, 48 animaux se sont révélés infectés : 39 (81 p. 100) par *Trypanosoma vivax*, 7 (15 p. 100) par *T. congolense* et 2 (4 p. 100) par *T. brucei*. Les taux d'infection chez les bovins jeunes et adultes ont été non significatifs ($P > 0,05$) : respectivement 6 et 10 p. 100. Cette étude a montré que la trypanosomose continuait d'être un obstacle important à la production de bétail et son taux d'incidence était semblable chez les jeunes comme chez les animaux adultes.

Mots-clés : Bovin – *Trypanosoma* – Morbidité – Nigeria.

Resumen

Abenga J.N., Enwezor F.N.C., Lawani F.A.G., Osue H.O., Ikemereh E.C.D. Prevalencia de la tripanosomosis en ganado en los distritos de Lere, estado de Kaduna, centro norte de Nigeria

En agosto de 2001, se estimó la prevalencia de la tripanosomosis en ganado, en fincas seleccionadas en tres distritos de Lere, del área de gobierno local del estado de Kaduna, centro norte de Nigeria. El estudio fue subsecuente a reportes de brotes de tripanosomosis, los que resultaron en muertes de ganado que llevaron a una migración anual de Fulanis seminómadas fuera del área, especialmente durante las lluvias. Las muestras de sangre fueron recolectadas al azar en 526 animales fueron examinadas para la presencia de tripanosomas mediante el método de *buffy coat* y frotis finos de sangre con Giemsa. Se encontraron en total 48 animales infectados: 39 (81%) con *Trypanosoma vivax*, 7 (15%) con *T. congolense* y 2 (4%) con *T. brucei*. Las tasas de infección en ganado joven y adulto fueron de 6 y 10% respectivamente, lo cual no fue significativo ($P > 0,05$). A partir de este estudio, es claro que la tripanosomosis es aún un obstáculo mayor para la producción de ganado y la tasa de incidencia es similar en animales jóvenes y adultos.

Palabras clave: Ganado bovino – *Trypanosoma* – Morbosidad – Nigeria.

Macrolides antiparasitaires : propriétés pharmacologiques générales et recommandations d'usage dans le contexte vétérinaire africain

T. Bengone-Ndong¹ M. Alvinerie^{2*}

Mots-clés

Parasitisme – Médicament vétérinaire – Propriété pharmacologique – Efficacité – Afrique.

Résumé

Les macrolides antiparasitaires, ou endectocides, représentent la classe d'antiparasitaires la plus récente. Cette classe est homogène en raison du mode d'action unique et spécifique, glutaminergique, et de ses propriétés pharmacologiques. Ces substances ont un spectre d'activité étendue à de nombreux nématodes ainsi qu'à de nombreux insectes et acariens et, du fait de leur structure et des formulations galéniques associées, présentent également une importante rémanence. Les endectocides sont malheureusement commercialisés sur le marché africain le plus souvent sans aucune procédure d'enregistrement. De plus, l'introduction des formulations génériques a facilité un usage massif et répétitif susceptible de contribuer à des échecs thérapeutiques. Il convient de donner à ces antiparasitaires les meilleures conditions pour exercer leur action en milieu tropical africain, en prenant en compte notamment les particularités des races locales et les contraintes environnementales. Parmi les moyens à mettre en œuvre, la sélection de la voie d'administration la plus performante constitue le premier élément à prendre en compte. De même, les différences observées entre les espèces animales cibles ainsi que les particularités physiologiques doivent conduire à une utilisation mieux adaptée.

INTRODUCTION

Le développement de l'élevage dans les pays d'Afrique de l'Ouest et du Centre est limité par des contraintes alimentaires et sanitaires, et la lutte contre les maladies parasitaires reste l'un des défis à relever. La part des antiparasitaires avoisine déjà 50 p. 100 des médicaments vétérinaires dans la plupart de ces pays (2). Les macrolides endectocides constituent dans ce cadre la classe thérapeutique la plus largement utilisée en raison tant de leur spectre d'action que de leur efficacité remarquable. Comme tous les médicaments vétérinaires, ces endectocides sont généralement

commercialisés sur le marché africain après une procédure sommaire d'enregistrement dans le meilleur des cas.

Des actions doivent être menées dans ces pays pour sensibiliser les responsables sur la nécessité d'accorder un intérêt particulier à la qualité et à l'efficacité des macrolides endectocides importés et dont les études sont réalisées sur des espèces occidentales. Les actions à mener sont d'autant plus indispensables que de nombreux problèmes (résistance) associés à la défaillance de cette famille thérapeutique commencent à émerger à travers le monde et proviennent essentiellement de leur emploi excessif et de choix de traitement erronés. Il convient de donner aux antiparasitaires endectocides les meilleures conditions pour exercer leur action en milieu tropical africain en prenant en compte notamment les particularités des races locales et les contraintes environnementales.

Dans cet article, les auteurs ont réalisé une synthèse de données générales sur les macrolides endectocides. Par la suite, est proposée une analyse des facteurs impliqués dans l'efficacité de ces endectocides pouvant faire l'objet d'une évaluation pharmacocinétique. L'intérêt de l'outil pharmacocinétique repose sur le fait

1. Ecole inter-Etats des sciences et médecine vétérinaires, BP 5077, Dakar Fann, Sénégal

2. Laboratoire de pharmacologie – toxicologie, Inra, 180 chemin de Tournefeuille, BP 3, 31931 Toulouse Cedex 09, France

* Auteur pour la correspondance

Tél. : +33 (0)5 61 28 51 37 ; fax : +33 (0)5 61 28 53 10
E-mail : michel.Alvinerie@toulouse.inra.fr

(généralement admis) que l'activité anthelminthique des endectocides est liée en partie à la présence effective du principe actif sur le site d'action en termes de concentration et de durée. Cette analyse a amené les auteurs à formuler des recommandations pour une meilleure utilisation des antiparasitaires endectocides dans le contexte vétérinaire africain.

■ PROPRIETES GENERALES DES MACROLIDES ENDECTOCIDES

Historique

Les recherches sur les antiparasitaires ont été orientées, à partir de 1975, vers des substances d'origine naturelle novatrices, radicalement différentes de celles qui étaient alors utilisées en thérapeutique vétérinaire. Ces recherches ont conduit à un vaste programme de criblage aléatoire des microorganismes telluriques collectés dans le monde entier et analysés en laboratoire.

En 1979, les premiers résultats ont été obtenus grâce à un bouillon de fermentation provenant d'un échantillon de sol collecté à Kawana (Ito City, Japon) par l'institut Kitasato. Celui-ci montra une activité antiparasitaire remarquable dans un test *in vivo* sur des souris infestées par *Nematospiroides dubius*, un nématode dont certains isolats sont résistants aux anthelminthiques classiques, notamment aux benzimidazoles (24, 37, 59). Un agent inconnu fut alors isolé et son fort potentiel fut mis en évidence par son activité naturelle dans des proportions infimes : 1 µg par gramme de nourriture distribuée, soit 1 ppm de la ration. Cette activité s'est révélée très supérieure à celle des autres anthelminthiques connus (24).

Le nom de cette nouvelle famille de composés découla de ses propriétés acaricide, insecticide et nématocide : avermectines (a : anti ; verm : ver ; ect : ectoparasite) (62). De cette capacité à éliminer les endoparasites (nématodes) et les ectoparasites (arthropodes) est apparu le concept nouveau d'« endectocide ».

Les milbémycines constituent le deuxième groupe d'endectocides. Ce sont des composés acaricides et insecticides qui ont été découverts en 1973 mais dont le potentiel anthelminthique n'a été réalisé que lors de l'avènement des avermectines (62).

Les avermectines et les milbémycines sont issues de la culture de bactéries filamenteuses du genre *Streptomyces* ; elles ont été introduites en thérapeutique vétérinaire en 1981 (ivermectine) et ont succédé à la phénothiazine, au thiabendazole et à divers autres benzimidazoles, en particulier chez les bovins. Leur activité s'exerce avec une dose faible (0,2 mg/kg) par comparaison avec la phénothiazine (600 mg/kg), le thiabendazole (50 mg/kg) et l'oxfendazole (5 mg/kg). Elles constituent à ce jour la classe thérapeutique la plus largement utilisée dans la lutte contre les parasites des bovins.

Structure des avermectines et des milbémycines

Les avermectines et les milbémycines présentent une même structure générale de lactone macrocyclique. La différence structurale majeure entre les deux groupes consiste au groupement disaccharidique (substituant *bisoleandrosyloxy*) sur le carbone numéro 13 des avermectines. Les milbémycines en sont dépourvues ; ce sont donc des avermectines déglycosylées (aglycones des avermectines) (figures 1 et 2).

Avermectines

Les avermectines (figure 1) sont issues de la culture de *Streptomyces avermitilis*. Huit composés naturels ont été isolés : A_{1a}, A_{1b}, A_{2a}, A_{2b}, B_{1a}, B_{1b}, B_{2a} et B_{2b}. Les composés A possèdent un groupement méthoxyle sur le carbone numéro 5, alors que les

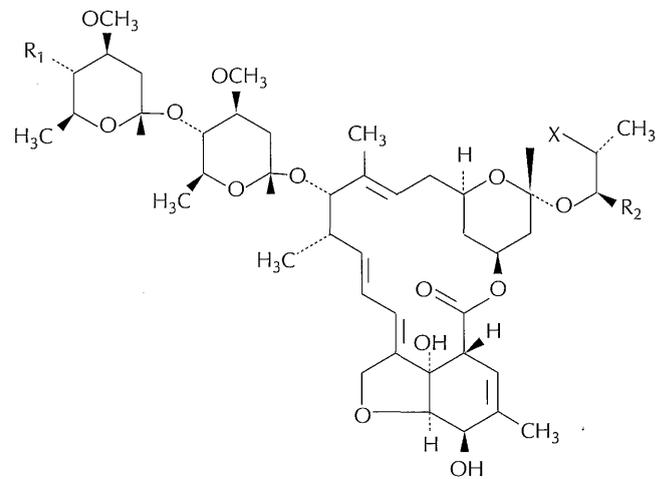


Figure 1 : structure chimique des principales avermectines.
 1) Ivermectine : mélange de plus de 80 % de B_{1a} et moins de 20 % de B_{1b}. Composant B_{1a} : R₁ = OH ; R₂ = CH(CH₃)CH₂CH₃ ; X = -CH₂CH₂-. Composant B_{1b} : R₁ = OH ; R₂ = CH(CH₃)₂ ; X = -CH₂CH₂-.
 2) Abamectine : mélange de plus de 80 % de B_{1a} et moins de 20 % de B_{1b}. Composant B_{1a} : R₁ = OH ; R₂ = CH(CH₃)CH₂CH₃ ; X = -CH=CH-. Composant B_{1b} : R₁ = OH ; R₂ = CH(CH₃)₂ ; X = -CH=CH-.
 3) Eprinomectine : mélange de plus de 80 % de B_{1a} et moins de 20 % de B_{1b}. Composant B_{1a} : R₁ = NHCOCH₃ ; R₂ = CH(CH₃)CH₂CH₃ ; X = -CH=CH-. Composant B_{1b} : R₁ = NHCOCH₃ ; R₂ = CH(CH₃)₂ ; X = -CH=CH-.
 4) Doramectine : R₁ = OH ; R₂ = cyclohexyle ; X = -CH=CH-.

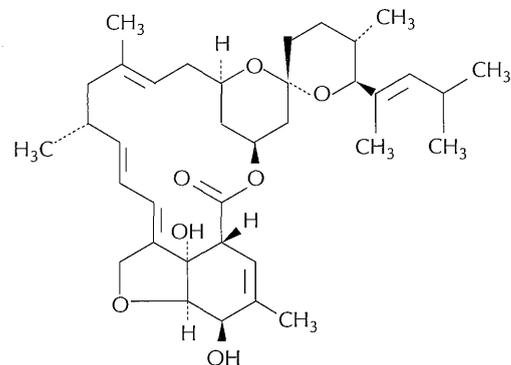


Figure 2 : structure chimique de la moxidectine (famille des milbémycines).

composés B portent un groupement hydroxyle. La liaison entre les atomes de carbone 22 et 23 est double dans le cas des composés 1 ; elle est simple dans la structure des composés 2. Enfin, les composés a possèdent un substituant butyle en position 25 alors qu'il s'agit d'un isopropyle dans le cas des composés b. Les homologues a et b ont une activité presque identique. Leur séparation au cours de la fermentation à grande échelle est difficile et sans intérêt, de sorte que, dans la littérature, l'on ne considère quelques fois que quatre types d'ivermectines : A₁, A₂, B₁ et B₂.

L'ivermectine (22,23-dihydro-ivermectine B₁) a été la première ivermectine commercialisée (15, 25). Elle est obtenue par hydrogénation sélective de la double liaison 22-23 de l'ivermectine B₁. Au plan structural, il s'agit d'un intermédiaire entre B₁ et B₂. Elle possède, au plan biologique, un excellent potentiel antiparasitaire

Tableau I

Efficacité des avermectines naturelles
contre six espèces de nématodes chez le mouton
(Shoop et coll., 1995, *Vet. Parasitol.*)

Structure	Dose (mg/kg)	Hc	Oc	Ta	Tc	Csp	Oec
Avermectine A ₁	0,1	2	2	0	0	2	0
Avermectine A ₂	0,1	3	3	3	3	0	3
Avermectine B ₁	0,1	3	3	3	3	3	3
Avermectine B ₂	0,1	3	3	3	3	2	3

Hc : *Haemonchus contortus* ; Oc : *Teladorsagia circumcincta* ;
Ta : *Trichostrongylus axei* ; Tc : *Trichostrongylus colubriformis* ;
Csp : *Cooperia* spp. ; Oec : *Oesophagostomum columbianum*.

Code efficacité

0 : < 50 % ; 1 : 50-74 % ; 2 : 75-90 % ; 3 : > 90 %

(proche de B₁), avec une sécurité d'emploi (s'approchant de B₂). Sa DL₅₀ est estimée à 30 mg/kg chez la souris (15). Compte tenu de son ancienneté, elle possède le plus large spectre d'activité reconnu par les autorisations de mise sur le marché car de nombreux travaux ont été réalisés en vue d'explorer le maximum de cibles possibles.

L'abamectine (avermectine B₁) est aussi un produit de fermentation de *S. avermitilis*. Sa production est plus simple que celle de l'ivermectine. Elle est plus active sur les nématodes que l'ivermectine mais un peu moins efficace sur quelques arthropodes, bien que son utilisation en protection des cultures soit en relation avec son activité acaricide et insecticide (24).

La doramectine (25-cyclohexyl-avermectine B₁) est un produit de fermentation d'une souche mutante de *S. avermitilis* en présence de l'acide cyclohexanecarboxylique. Son spectre d'activité se rapproche de celui de l'ivermectine B₁, ce qui s'explique par leurs structures très proches qui ne diffèrent que par un radical cyclohexyle en position 25. Celui-ci serait très lipophile et ferait que la demi-vie tissulaire de la doramectine soit beaucoup plus longue (29).

L'éprinomectine [4'-(épiacétylamino)-4'-désoxy-avermectine B₁] est issue de la fermentation *S. avermitilis*, comme l'ivermectine et l'abamectine. Elle a été sélectionnée parmi plus de 500 lactones macrocycliques en vue d'obtenir le spectre et la marge de sécurité les plus larges avec, en particulier, les concentrations les plus faibles dans le lait, permettant ainsi son emploi chez les vaches laitières en production (7, 64, 65).

Milbémycines

Les milbémycines naturelles (figure 2) sont issues de la fermentation de *Streptomyces hygroscopicus* et *Streptomyces cyaneogriseus*. On distingue également dans ce groupe des composés A (groupement méthoxyle en position 5) et des composés B (groupement hydroxyle en position 5). La liaison entre les atomes de carbone 22 et 23 est toujours une liaison simple, comme dans le cas des avermectines 2. Le carbone 25 porte un groupement méthyle, éthyle ou une chaîne latérale substituée (14, 66).

La moxidectine (dérivé méthoxime de la milbémycine) contient un cycle lactonique semi-synthétique. Son mode d'action est comparable à celui de l'ivermectine, mais des différences existent entre les deux molécules. L'effet rémanent est très nettement plus long pour la moxidectine que pour l'ivermectine. La moxidectine n'est pas toxique pour les chiens de race Colley ; elle est active sur les *Chorioptes* et permet donc la guérison des bovins atteints par cet acarien ; elle n'a pas d'action sur les microfilaries chez le chien contrairement à l'ivermectine. Ces particularités montrent qu'il s'agit bien d'un produit différent tout en ayant des points communs avec les avermectines.

Relation « structure-activité »

Toutes les avermectines et les milbémycines ont un large spectre d'action, mais il existe des variations d'une série à une autre, ce qui indique que l'activité est en étroite relation avec la structure. Des huit composés naturels obtenus à partir de *Streptomyces avermitilis*, seulement trois sont produits en quantité lors de la fermentation : A_{2a}, B_{1a} et B_{2a} ; ils ont fait l'objet de nombreux travaux. Des études des relations entre la structure et l'activité des différentes molécules ont montré que l'homologue B₁ possède le meilleur potentiel et spectre d'action contre les nématodes, alors que B₂ présente une meilleure sécurité d'emploi (tableau I). Chez la souris, la DL₅₀ du composé B₁ est estimé à 15 mg/kg alors que celle de B₂ est de 30 mg/kg (63). On comprend dès lors que la plupart des avermectines et milbémycines disponibles sur le marché du médicament aient été développées à partir de ces deux homologues.

Spécialités vétérinaires disponibles

Le succès de l'ivermectine en thérapeutique a engendré le développement des études sur la relation structure-activité des endectocides. Les essais sur des analogues structuraux se sont multipliés et ont eu pour but la recherche de la molécule la plus performante. Chaque composé provenant d'une modification structurale des molécules parentales est original de par son spectre et sa sécurité d'emploi (37).

Cinq principaux macrolides endectocides sont actuellement présents sur le marché des médicaments vétérinaires : l'ivermectine, l'abamectine, la doramectine, l'éprinomectine et la moxidectine. Ils sont constitués le plus souvent de mélanges racémiques de molécules parentales naturelles ou de synthèse (figure 1). Ces molécules présentent la faculté d'être facilement associées à plusieurs formes galéniques : préparations orales, formes injectables, formes orales, *pour-on*, diffuseurs. L'association des propriétés intrinsèques des macrolides antiparasitaires à celle des excipients permet l'obtention d'une action persistante. Celle-ci assure une extension du spectre d'activité et une protection des animaux vis-à-vis des réinfestations (tableau II). Les formulations galéniques ne présentent pas toutes les mêmes indications antiparasitaires et ne sont pas toutes destinées aux mêmes animaux. Il est donc nécessaire, pour envisager l'utilisation des macrolides antiparasitaires, de distinguer les animaux traités et les formulations employées.

Les doses administrées dépendent des espèces cibles et de la voie d'administration (tableau III). D'une façon générale, la posologie des endectocides dans leur forme injectable est de 0,2 mg/kg et de 0,5 mg/kg pour les formulations *pour-on* chez les herbivores. Le bolus intraruminal d'ivermectine utilise 8,6 mg/kg. Ces quantités permettent d'assurer un large spectre sur les nématodes chez les espèces animales cibles.

Mode d'action

L'action des endectocides est lente et reliée à la fois à l'action intrinsèque du médicament sur le parasite cible et à la présence de concentrations significatives en termes de niveau et de durée sur le site d'action. De nombreuses études ont permis d'établir un mode d'action unique pour l'ensemble des macrolides endectocides. Ce mode d'action fait intervenir le système glutaminergique.

Les macrolides endectocides agissent sur la transmission nerveuse. Ils se fixent sur un récepteur au glutamate, au niveau des canaux

Tableau II

Exemple de rémanence d'activité des endectocides

Molécule	Rémanence d'activité		Référence
	<i>Ostertagia ostertagi</i>	<i>Dictyocaulus viviparus</i>	
Abamectine	10-14 jours	21 jours	Dobson et coll., 2001, <i>Aust. vet. J.</i>
Ivermectine	7-14 jours	14-21 jours	Williams et Broussard, 1995, <i>Am. J. vet. Res.</i> ; Williams et coll., 1999, <i>Vet. Parasitol.</i>
Doramectine	21-28 jours	> 28 jours	Pitt et coll., 1997, <i>Vet. Parasitol.</i> ; Vercruyssen et coll., 1998, <i>Vet. Rec.</i> ; Wardhaugh et coll., 2001, <i>Aust. vet. J.</i> ; Williams et coll., 1999, <i>Vet. Parasitol.</i>
Eprinomectine	28 jours	28 jours	Pitt et coll., 1997, <i>Vet. Parasitol.</i> ; Vercruyssen et coll., 1998, <i>Vet. Rec.</i> ; Wardhaugh et coll., 2001, <i>Aust. vet. J.</i> ; Williams et coll., 1999, <i>Vet. Parasitol.</i>
Moxidectine	35 jours	35 jours	Abbott et coll., 1995, <i>Aust. vet. J.</i> ; Kerboeuf et coll., 1995, <i>Vet. Rec.</i> ; Wardhaugh et coll., 2001, <i>Aust. vet. J.</i> ; Williams et Broussard, 1995, <i>Am. J. vet. Res.</i> ; Williams et coll., 1999, <i>Vet. Parasitol.</i>

Tableau III

Principaux antiparasitaires endectocides utilisés en médecine vétérinaire

Endectocide	Nom commercial	Dose	Voie d'admin.	Espèce cible	
Ivermectine	Ivomec®	0,2 mg/kg	Sous-cutanée	Bovin, ovin, porcine, caprin *	
	Ivomec®	0,5 mg/kg	Pour-on	Bovin	
	Ivomec® (bolus)	8,6 mg/kg	Orale	Bovin	
	Oramec®	Ivomec®	0,2 mg/kg	Orale	Ovin, caprin *
	Eqvalan®, Furexel®	0,2 mg/kg	Orale	Equin	
Abamectine	Enzec®	0,2 mg/kg	Sous-cutanée	Bovin	
Doramectine	Dectomax®	0,2 mg/kg	Sous-cutanée	Bovin, ovin, caprin *	
Eprinomectine	Eprinex®	0,5 mg/kg	Pour-on	Bovin	
Moxidectine	Cydectine®	0,5 mg/kg	Sous-cutanée	Bovin, ovin, caprin *	

* Pas d'autorisation de mise sur le marché spécifique

chlore, à proximité d'un récepteur Gaba (acide gamma amino butyrique) et d'un récepteur aux benzodiazépines. Cette fixation provoque un blocage des canaux chlore en position ouverte et donc un flux entrant d'ions chlore au sein des cellules nerveuses des parasites (la glutamase n'ayant aucune action sur les avermectines et milbémycines). Il s'ensuit une hyperpolarisation cellulaire qui bloque toute activité nerveuse et entraîne une paralysie flasque (9, 13, 35, 38). Une action semblable est obtenue avec un neuromédiateur inhibiteur Gaba. Les macrolides endectocides ont ainsi été considérés comme ayant un effet Gaba-ergique (libération accrue de Gaba associée peut-être à une potentialisation de son action). Mais leur effet pourrait être en fait Gaba-mimétique (68).

Ce système neuromédiateur faisant intervenir différents récepteurs dont celui du Gaba est très important chez les invertébrés, arthropodes et nématodes, montrant ainsi le spectre d'activité des macrolides endectocides. Les structures concernées sont retrouvées au niveau de la jonction interneuronale chez les nématodes et au niveau de la jonction neuromusculaire chez les arthropodes. L'action des endectocides se manifeste donc par une inhibition de l'activité électrique des cellules nerveuses des nématodes et des

cellules musculaires des arthropodes, entraînant une paralysie flasque et irréversible (9, 13, 35, 38).

Ces molécules sont en revanche inactives sur les plathelminthes (trématodes et cestodes). Les vers plats ont en effet un système nerveux moins développé et ne possèdent pas de récepteurs au glutamate similaires à ceux des nématodes et des arthropodes sur lesquels se fixent les macrolides antiparasitaires (18, 42, 62, 63). Chez les mammifères, ce type de récepteurs ne sont présents qu'au niveau du système nerveux central et sont protégés par la *multidrug-resistance-P-glycoprotéine* (MDR-P-glycoprotéine). La MDR-P-glycoprotéine est une protéine membranaire présente dans de nombreuses cellules de l'organisme qui, par un mécanisme de capture et d'excrétion active, participe au maintien de l'intégrité de l'organisme vis-à-vis des xénotoxiques ; elle est majoritairement présente au niveau de la barrière hémato-encéphalique (61, 77). En cas de dysfonctionnement de la MDR-P-glycoprotéine, l'accès aux récepteurs Gaba n'est plus protégé, ce qui pourrait être à l'origine d'une toxicité accrue pour l'organisme. Il a également été montré que la sensibilité particulière du chien Colley à l'ivermectine était liée à une mutation sur le gène MDR₁ codant pour une MDR-glycoprotéine. Il est donc possible de

détecter, par un test génétique, les animaux porteurs de cette mutation et donc sensibles à l'ivermectine (60).

En plus de leur effet majoritairement paralysant, les endectocides peuvent avoir des effets sur la reproduction et le cycle des parasites. On peut noter dans le cas de l'ivermectine une action relativement délétère sur les fonctions de reproduction des tiques : inhibition de la ponte pour les femelles adultes et de la mue pour les stades nymphaux. Une inhibition des récepteurs au glutamate des muscles des organes reproducteurs femelles a été signalée chez *Ascaris suum* (27).

Spectre d'activité

Les lactones macrocycliques présentent une grande efficacité à l'égard de nombreux parasites internes et externes des animaux domestiques et leur activité s'exerce à de nombreux stades parasitaires. Elle comprend une action anthelminthique et une action insecticide acaricide.

Action sur les nématodes digestifs et respiratoires

Les endectocides sont actifs sur la majorité des nématodes parasites à localisation digestive et respiratoire. Ils sont particulièrement indiqués contre les strongles digestifs (*Haemonchus*, *Ostertagia*, *Teladorsagia*, *Trichostrongylus*, *Cooperia*, *Nematodirus*, *Bunostomum*, *Oesophagostomum*, *Trichuris*), les strongles respiratoires (*Dictyocaulus*, *Protostrongylus*, *Muellerius*), les anguillules (*Strongyloides*) et les trichures, chez les ruminants. Parmi ces nématodes, certains constituent des espèces limitantes car naturellement moins sensibles que d'autres. Il s'agit des *Cooperia* spp. et de *Nematodirus* spp. (12, 57, 75).

Les endectocides ont une action adulticide, larvicide et, dans certains cas, sont actifs sur les larves de strongles entrant en hypobiose, notamment celles du genre *Teladorsagia*. Il existe des niveaux de sensibilité différents selon la nature du parasite.

Ces molécules sont inactives sur les vers plats (trématodes et cestodes), en raison de leur mode d'action, mais présentent une activité sur les souches de nématodes résistantes aux benzimidazoles.

Action sur les parasites externes

Les macrolides endectocides sont utilisés dans le traitement des ectoparasitoses des ruminants. Les formulations injectables sont actives sur les poux piqueurs (*Haematopinus*, *Linognathus* et *Solenopotes*), les mélanophages (*Melaphagus ovinus*) et les agents de gales du genre *Sarcoptes* ou *Psoroptes* (34, 39, 65). Les pour-on, avec une distribution à la fois systémique et superficielle, ont un spectre d'activité élargi aux poux broyeur (*Bovicola* syn. *Damalinia*) et aux agents de gales du genre *Chorioptes*. Une seule administration est généralement suffisante chez les bovins pour contrôler une phthiriose ou une gale. Les présentations orales sont insuffisamment actives sur les parasites externes et ne sont employées que pour une vermifugation des animaux.

Distribution et élimination dans le lait

Les endectocides sont fortement lipophiles ; ils sont distribués dans tous les tissus. Le stockage dans le tissu adipeux est particulièrement important ; ce dernier agit comme un réservoir ; il est à l'origine de la longue rémanence dans l'organisme. Leur métabolisation est faible et la quasi-totalité de la dose atteignant la circulation générale est éliminée dans les matières fécales sous forme du principe actif inchangé.

L'excrétion dans le lait constitue une caractéristique majeure de ces composés (l'ivermectine, la moxidectine et la doramectine sont éliminées dans le lait). La concentration de l'ivermectine dans

le lait est équivalente à la concentration plasmatique et, au total, 5 p. 100 (chez la vache) et 15 p. 100 (chez la chèvre) de la dose totale administrée sont excrétés dans le lait. Cette importante élimination dans le lait justifie l'interdiction de leur usage chez les femelles en production lactée.

L'éprinomectine présente une élimination bien plus faible dans le lait ; le rapport lait/plasma est de 0,1 chez la vache et cette élimination ne met en jeu que 0,1 p. 100 de la dose totale administrée (7). Cette particularité autorise l'obtention d'un délai d'attente nul pour le lait.

■ FACTEURS MODULANT L'EFFICACITÉ DES ENDECTOCIDES

Relation entre la pharmacocinétique et l'efficacité des endectocides

La pharmacocinétique envisage l'action de l'organisme sur le médicament et son rôle dans l'estimation de l'efficacité des endectocides repose sur l'hypothèse selon laquelle le profil plasmatique reflète le profil de concentration du principe actif au niveau du site d'action. Il est de fait généralement admis que l'effet antiparasitaire d'un médicament est plus étroitement lié à la concentration plasmatique (mesurée par l'aire sous la courbe temps versus concentration) qu'à la dose administrée.

De récents travaux montrent l'étroite corrélation qui relie les concentrations plasmatiques aux concentrations observées au niveau de sites d'action tels que la peau ou le mucus abomasal (49). En effet, non seulement les profils d'évolution sont parallèles, mais, de plus, les concentrations dans les tissus cibles sont supérieures à celles observées dans le plasma (figure 3).

A titre d'exemple, chez les bovins, après administration sous-cutanée de moxidectine à la dose thérapeutique de 0,2 mg/kg, les valeurs des AUC sont respectivement de 159 ng/j/ml et 371 ng/j/ml pour le plasma et le mucus abomasal, ce qui traduit un taux d'exposition deux fois supérieur pour le mucus. En revanche, le temps moyen de résidence (Mrt) présente une valeur identique dans les deux compartiments (8,60 et 8,90 jours), ce qui reflète une disposition cinétique parallèle.

Des résultats similaires ont été obtenus pour la doramectine et l'ivermectine (50). Dès lors, on peut considérer que, dans le cas des endectocides, les paramètres plasmatiques sont pertinents pour prédire l'activité anthelminthique au niveau du site d'action.

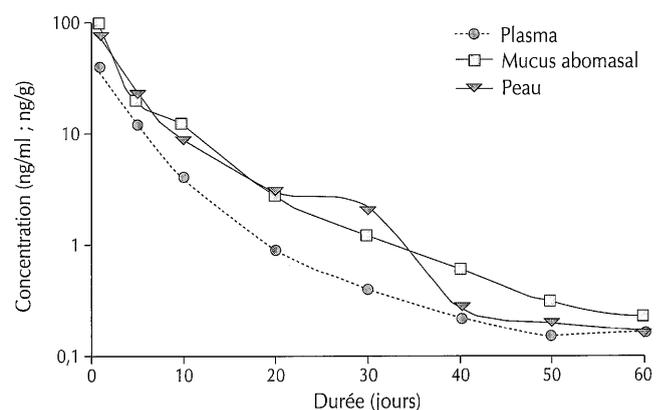


Figure 3 : relation entre les concentrations plasmatiques et les concentrations au niveau des tissus cibles après administration sous-cutanée de moxidectine à la dose de 0,2 mg/kg chez les bovins (Lifschitz et coll., 1999, J. vet. Pharmacol. Ther.).

Influence du principe actif et de sa formulation

Une comparaison du profil pharmacocinétique des trois endectocides majeurs (ivermectine, doramectine, moxidectine) administrés par voie sous-cutanée, dans le cadre d'une étude standardisée, a révélé un profil similaire pour l'ivermectine et la doramectine tandis que la moxidectine se caractérisait par un processus d'absorption plus rapide et une rémanence plus longue (48). Cette différence est la résultante d'une formulation différente (aqueuse) pour la moxidectine et d'un stockage plus intense au niveau graisseux.

Cet effet de la formulation sur le processus d'absorption a été longuement documenté tant pour l'ivermectine (51) que pour la doramectine (73). Cela a justifié le choix d'une formulation huileuse par Pfizer (doramectine) et Merck (ivermectine), tandis que Fort-Dodge (moxidectine), en raison du caractère lipophile plus marqué de la moxidectine, retenait un excipient aqueux afin de ne pas majorer l'importante rémanence résultant du stockage au niveau de la graisse.

Influence de la voie d'administration

La voie d'administration est un déterminant majeur à prendre en compte dans la recherche d'une efficacité optimale des endectocides. Dans le cas de l'ivermectine, une comparaison des différentes voies d'administration chez les bovins permet d'illustrer l'importance du mode de traitement (tableau IV). Les niveaux d'exposition engendrés par les différents types de traitement sont directement liés à la quantité d'ivermectine utilisée mais ne sont pas proportionnels. En effet, la mise en jeu du principe actif 2,5 fois supérieur dans le cas du *pour-on* n'engendre pas d'exposition supérieure (mais inférieure) à celle générée par une administration par voie sous-cutanée (6).

Par ailleurs, l'usage de la voie *pour-on* génère plusieurs biais inhérents à ce type d'application : l'absorption percutanée est faible (biodisponibilité de 19 ± 5 p. 100) (47) ; le léchage des animaux eux-mêmes ou entre eux engendre une absorption du principe actif par voie orale qui augmente largement la biodisponibilité de la formulation (biodisponibilité de 33 ± 18 p. 100) mais qui est aussi à l'origine d'une très grande variabilité (47).

Dès lors, on peut considérer que la voie *pour-on* n'est pas une voie aussi performante qu'une administration sous-cutanée en termes de retour sur la dose mise en jeu. Elle présente le risque d'engendrer des niveaux de concentration subthérapeutiques chez de nombreux animaux traités (28) et des résidus inattendus chez des animaux non traités.

Dans le cas de la moxidectine, une comparaison des voies d'administration sous-cutanée et orale chez le mouton montre une

équivalence en termes d'exposition révélée par la similitude des AUC (98,89 ng/j/ml pour la voie orale et 112,33 ng/j/ml pour la voie sous-cutanée) (6). Néanmoins, pendant la période de 5 à 33 jours après l'administration, la voie sous-cutanée permet le maintien d'une concentration plasmatique de moxidectine qui est le double de celle obtenue par la voie orale (figure 4). Cette différence de rémanence est bien corrélée par les observations des parasitologues qui décrivent une persistance d'activité plus longue pour la voie sous-cutanée (21, 44).

L'ensemble des éléments précédemment rapportés montrent la prévalence de la voie d'administration sous-cutanée sur les autres voies d'administration (orale et *pour-on*) ; il s'agit d'un argument pharmacologique majeur qui mérite d'être pris en compte par les thérapeutes.

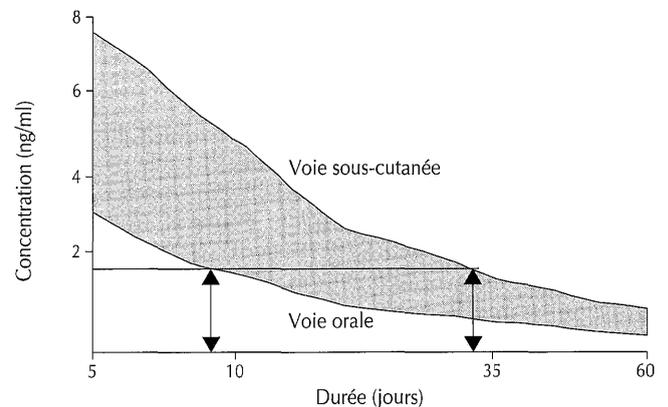


Figure 4 : comparaison entre la voie sous-cutanée et la voie orale (Alvinerie, 1998, Vet. Res.).

Différences entre espèces animales cibles

Des études comparées des niveaux d'exposition et de rémanence ont été réalisées chez de nombreuses espèces (vache, mouton, chèvre, cheval) ; elles montrent la grande variabilité de ces paramètres chez les différentes espèces (5, 36). A titre d'exemple, l'exposition à la doramectine générée par une administration sous-cutanée (0,2 mg/kg) est respectivement trois et six fois inférieure chez le mouton et la chèvre par rapport à celle obtenue chez la vache (figure 5). Des variations similaires sont décrites pour l'ensemble des lactones macrocycliques et interrogent sur

Tableau IV

Effet de la voie d'administration de l'ivermectine chez les bovins.

Administration	Paramètres			Référence
	AUC (ng/jour/ml)	C _{max} (ng/ml)	Biodisp. rel. – V _{sc} ¹ (%)	
Sous-cutanée (0,2 mg/kg)	459	42,8	100	Lanusse et coll., 1997, <i>J. vet. Pharmacol. Ther.</i>
<i>Pour-on</i> (0,5 mg/kg)	168	12,2	14,6	Gayrard et coll., 1999, <i>Vet. Parasitol.</i>
Orale (8,6 mg/kg)	2 476	28,5	12,5	Alvinerie et coll., 1998, <i>Vet. Res.</i>

¹ Biodisponibilité relative par rapport à la voie sous-cutanée

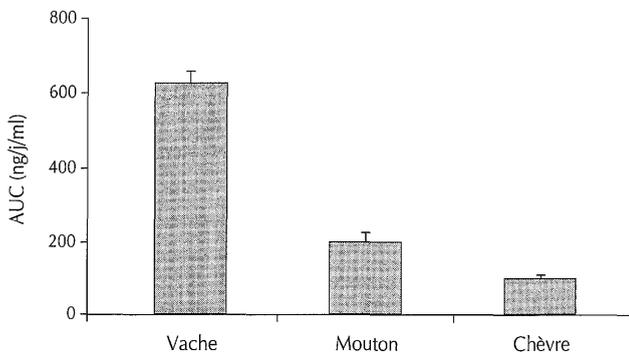


Figure 5 : exposition à la doramectine générée par une administration sous-cutanée de 0,2 mg/kg chez trois espèces de ruminants (Barber et coll., 2003, J. vet. Pharmacol. Ther. ; Escudero et coll., 1998, Res. vet. Sci. ; Lanusse et coll., 1997, J. vet. Pharmacol. Ther.).

la pertinence de la transposition de la dose sélectionnée chez la vache aux autres espèces.

L'exposition dramatiquement faible observée chez la chèvre après administration sous-cutanée et surtout orale (5) pourrait être corrélée à l'émergence plus précoce de parasites résistants aux endectocides chez cette espèce. Cet exemple illustre parfaitement tout le danger des concentrations subthérapeutiques.

Des travaux plus récents conduits expérimentalement sur l'usage de l'éprinomectine chez la chèvre ont montré l'efficacité suboptimale de la formulation *pour-on* à la dose de 0,5 mg/kg, tandis qu'une dose double (1 mg/kg) satisfait tant aux exigences d'efficacité qu'à celles de la sécurité de la production laitière (22). L'ensemble de ces éléments devrait conduire la firme à déposer un dossier d'enregistrement pour l'usage de l'éprinomectine chez la chèvre avec une dose spécifique à cette espèce.

RECOMMANDATIONS D'USAGE PROPRES AU CONTEXTE AFRICAIN

Les données publiées sur l'efficacité et la pharmacologie des anti-parasitaires endectocides dans le contexte vétérinaire africain sont rares bien que ces molécules soient déjà largement utilisées par les éleveurs et les vétérinaires dans de nombreux pays d'Afrique de l'Ouest et du Centre. Une adaptation des schémas thérapeutiques tenant compte des particularités d'ordre physiologique et pharmacologique des différentes races et des contraintes environnementales est nécessaire étant donné l'importance de cette classe thérapeutique dans la lutte contre les parasites du bétail. Les facteurs à prendre en compte dans cette stratégie pouvant faire l'objet d'une évaluation pharmacocinétique sont multiples ; l'accent doit être mis sur quelques uns d'entre eux.

Particularité de l'infestation parasitaire dans le contexte africain

L'appréciation de l'effet du parasitisme et notamment d'une infection par des nématodes gastro-intestinaux sur la productivité du bétail et le développement de mesures de lutte appropriées et durables nécessitent une bonne connaissance de leur inventaire, leur épidémiologie et leurs effets pathologiques. Les régions intertropicales d'Afrique présentent une gamme très étendue de milieux : forêts denses équatoriales, savanes arborées, steppes sahéliennes, grandes étendues dunaires des zones sahariennes. De nombreux parasites sont présents dans ces milieux et ont développé des

adaptations très performantes pour leur survie et leur maintien dans des zones aussi déshéritées que le Sahel ou le Sahara (3, 17, 19, 41, 46). La zone tropicale humide offre des conditions favorables à l'évolution des stades libres pendant toute l'année. La zone soudano-sahélienne, en revanche, ne permet plus cette évolution que quatre ou cinq mois par an. Cette période favorable est réduite à deux mois en zone sahélo-sahélienne (32).

Des études épidémiologiques, bien que peu abondantes, ont révélé que la quasi-totalité des ruminants sont porteurs de nématodes gastro-intestinaux et d'ectoparasites. Les espèces prédominantes sont *Haemonchus* sp., *Cooperia* spp., *Oesophagostomum radiatum* et *Bunostomum phlebotomum* (16, 52, 55, 69, 70). La charge parasitaire suit une évolution saisonnière et 80 p. 100 de cette charge est observée pendant la saison des pluies. Les réinfections sont négligeables pendant la saison sèche en zone sahélienne (8, 78). *Haemonchus* sp. survit presque exclusivement en tant que larve hypobiotique (stade inhibé dans la muqueuse de la caillette) pendant la longue saison sèche en zone sahélo-sahélienne (40, 41, 43, 53, 54). En revanche, *Cooperia* spp. et *O. radiatum* survivent partiellement en tant qu'adultes hypométaboliques avec une fécondité réduite et partiellement en tant que larves dans la muqueuse intestinale (43, 52, 55). La contamination des pâturages recommence avant le début de la saison des pluies surtout par la réactivation des larves hypobiotiques (43).

Particularités physiologiques des zébus africains

La physiologie de l'organisme animal hôte conditionne très largement le devenir du médicament, sa concentration au niveau de la cible parasitaire et, *in fine*, son efficacité. Des travaux en cours ont permis de mettre en évidence des différences importantes en terme de biodisponibilité des endectocides entre le zébu Gobra du Sénégal et les autres bovins (figure 6). L'administration de l'ivermectine à la dose de 0,2 mg/kg génère chez le zébu Gobra une AUC 2,3 fois plus faible que celle obtenue dans les mêmes conditions chez les taurins. De même, l'administration de l'éprinomectine par la voie percutanée à la dose de 0,5 mg/kg se traduit par une disponibilité encore plus faible et par de très grosses variations individuelles. Ces différences sont vraisemblablement la conséquence de différences physiologiques et métaboliques entre le zébu Gobra et les autres bovins. Malgré un manque général de performances, les races africaines sont bien adaptées pour survivre et se reproduire dans leur environnement. En effet, elles sont bien connues pour leur résistance et leur tolérance aux différents stress environnementaux : sous-alimentation, chaleurs, humidité, maladies (4, 30, 31, 58). Les contraintes alimentaires sont à l'origine d'un niveau d'engraissement faible ;

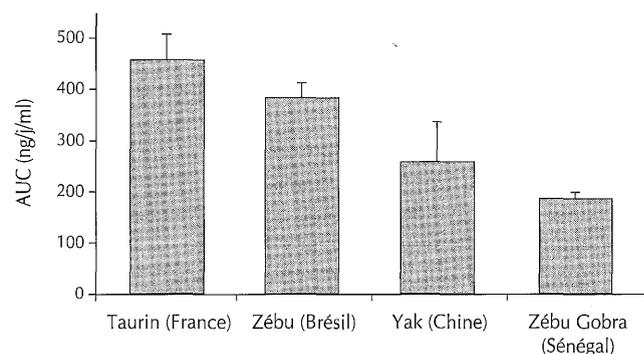


Figure 6 : exposition de différents bovidés à l'ivermectine après administration sous-cutanée à la dose de 0,2 mg/kg (Bengone et coll., 2004, Vet. Parasitol. (in press) ; Dupuy et coll., 2003, Vet. Parasitol. ; Lanusse et coll., 1997, J. vet. Pharmacol. Ther.).

elles pourraient expliquer les différences observées au plan pharmacocinétique entre le zébu Gobra et les autres bovins, qui sont de nature à affecter les propriétés pharmacologiques des endectocides. Des études complémentaires sont sans aucun doute nécessaires pour préciser l'efficacité des différentes doses d'endectocides sur les nématodes et les ectoparasites dans le contexte africain afin d'envisager une adaptation posologique.

Formulations et problématique des génériques sur le marché africain

L'importance de la formulation des endectocides a été discutée dans la deuxième partie de cette synthèse. Il convient cependant de souligner son intérêt particulier dans le contexte africain avec notamment l'usage assez répandu des formulations génériques et la circulation des médicaments issus de la contrefaçon. Les contrefaçons et les malfaçons des médicaments sont un fait courant dans les pays en développement. Ce phénomène a été décrit en Afrique de l'Ouest aussi bien pour les médicaments humains que pour les médicaments vétérinaires (67). Il est probablement lié à des systèmes d'approvisionnement et de distribution mal réglementés.

Les actions de sensibilisation sur le bon usage des médicaments vétérinaires sont cependant en cours dans certains de ces pays ; le séminaire sur la qualité des médicaments vétérinaires en Afrique francophone tenu à Dakar en décembre 1999 a adopté un certain nombre de recommandations visant à pallier les carences existant en matière de contrôle des médicaments vétérinaires (2). Les travaux réalisés au sein du laboratoire de contrôle des médicaments vétérinaires de l'École inter-Etats des sciences et médecine vétérinaires (Eismv) de Dakar doivent être encouragés. Dans le cas particulier des endectocides, il est impératif que ces travaux assurent en terme la distribution de produits de qualité dont la bioéquivalence aura été montrée par des études appropriées de biodisponibilité.

■ CONCLUSION

L'arsenal antiparasitaire a évolué, plus particulièrement dans les années 1980 avec l'apparition des macrolides endectocides. Les cinq molécules actuellement sur le marché présentent un intérêt majeur dans la lutte contre les parasites externes et internes des animaux. La chimiothérapie est, et restera sans doute longtemps, la pierre angulaire de la stratégie antiparasitaire, surtout en l'absence de méthodes alternatives. Le risque de défaillance des endectocides dans l'avenir prendra pour origine un emploi excessif et/ou un choix erroné dans les doses ou les voies d'administration utilisées. L'utilisation optimale du traitement anthelminthique dans une démarche de gestion du risque parasitaire dans les élevages africains nécessite :

- de développer une bonne connaissance des parasites dans chaque milieu ;
- de connaître en tout temps l'état de l'infestation et d'évaluer le niveau du risque ;
- de mettre en place des mesures préventives ;
- de disposer de plusieurs moyens curatifs ;
- d'évaluer l'efficacité des différents antiparasitaires afin de chercher l'harmonie et l'efficacité des interventions ;
- d'être en mesure de vérifier les impacts et l'efficacité des mesures ;
- d'adapter les interventions curatives et la stratégie de lutte en fonction de la situation.

Il s'agit d'un véritable défi pour l'avenir de la thérapeutique antiparasitaire et le développement de l'élevage dans les pays africains ; il doit résulter d'une meilleure coopération entre les différents partenaires impliqués dans la mise en œuvre des traitements.

Remerciements

Ce travail a bénéficié du soutien de l'Agence universitaire de la francophonie (AUF), bureau Afrique de l'Ouest. Les auteurs remercient particulièrement M. Bonaventure Mvé Ondo pour ses encouragements, ainsi que le Pr Josef Vercruyse pour ses conseils pertinents.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABBOTT K.A., COBB R.M., GLASS M.H., 1995. Duration of the persistent activity of moxidectin against *Haemonchus contortus* in sheep. *Aust. vet. J.*, **72**: 408-410.
2. ABIOLA F.A., 2000. Un laboratoire de contrôle des médicaments vétérinaires à l'Eismv de Dakar. In : Actes 4^e Séminaire sur les médicaments vétérinaires en Afrique, Dakar, Sénégal, 6-10 décembre 1999. Paris, France, OIE.
3. ACHI Y.L., ZINSSTAG J., YAO K., YEO N., DORCHIES P., JACQUIET P., 2003. Host specificity of *Haemonchus* spp. for domestic ruminants in the savanna in northern Ivory Coast. *Vet. Parasitol.*, **116**: 151-158.
4. AKINBAMIJO O.O., BENNISON J.J., ROMNEY D.L., WASSINK G.J., JAITNER J., CLIFFORD D.J., DEMPFLER L., 1997. An evaluation of food intake, digestive, physiology and live-weight changes in N'dama and Gobra zebu bulls following experimental *Trypanosoma congolense* infection. *Anim. Sci.*, **65**: 151-158.
5. ALVINERIE M., 1997. Comparative pharmacokinetic properties of ivermectin and moxidectin in different animal species. *J. vet. Pharmacol. Ther.*, **20**: 74-76.
6. ALVINERIE M., ESCUDERO E., SUTRA J.F., GALTIER P., 1998. The pharmacokinetics of moxidectin after oral and subcutaneous administration to sheep. *Vet. Res.*, **29**: 113-118.
7. ALVINERIE M., SUTRA J.F., GALTIER P., MAGE C., 1999. Pharmacokinetics of eprinomectin in plasma and milk following topical administration to lactating dairy cattle. *Res. vet. Sci.*, **67**: 229-232.
8. ANKERS P., ZINSSTAG J., PFISTER K., 1994. Quasi-absence de réinfestation par les strongles du bétail gambien en saison sèche. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **47**: 201-205.
9. ARENA J.P., LIU K.K., PARESS P.S., FRAZIER E.G., CULLY D.F., MROZIK H., SCHAEFFER J.M., 1995. The mechanism of action of avermectins in *Caenorhabditis elegans*: correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current, membrane binding, and biological activity. *J. Parasitol.*, **81**: 286-294.
10. BARBER S., BOWLES V., LESPINE A., ALVINERIE M., 2003. The comparative serum disposition kinetics of subcutaneous administration of doramectin, ivermectin and moxidectin in the Australian Merino sheep. *J. vet. Pharmacol. Ther.*, **26**: 343-348.
11. BENGONE NDONG T., BA M.A., KANE Y., SANE I., SUTRA J.F., ALVINERIE M., 2004. Pharmacokinetics of ivermectin in zebu Gobra (*Bos indicus*). *Vet. Parasitol.* (in press)
12. BISSET S.A., VLASSOF A., MCMURTRY L.W., ELLIOTT D.C., COBB R.M., KIERAN P.J., WOOD I.B., 1992. An evaluation of an oral administration of moxidectin against selected anthelmintic-resistant and susceptible strains of nematodes in lambs. *N. Z. vet. J.*, **40**: 97-100.
13. BLOOMQUIST J., 2003. Chloride channels as tools for developing selective insecticides. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.*, **54**: 145-156.
14. CARTER G.T., NIETSCHKE J.A., BORDERS D.B., 1987. Structure determination of LL-F28249 α , β , γ and λ , potent antiparasitic macrolides from *Streptomyces cyaneogriseus* spp. *noncyanogenus*. *J. chem. Soc. Chem. Commun.*, **6**: 402-404.
15. CHABALA J.C., MROZIK H., TOLMAN R.L., ESKOLA P., LUSI A., PETERSON L.H., WOODS M.F., FISHER M.H., 1980. Ivermectin, a new broad-spectrum antiparasitic agent. *J. Med. Chem.*, **23**: 1134-1136.
16. CHARTIER C., BUSHU M., KAMWENGA D., 1991. Les dominantes du parasitisme helminthique chez les bovins en Ituri (Haut-Zaïre). III. Répartition géographique et prévalence des principaux helminthes. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **44**: 61-68.
17. CHOLLET J.Y., JACQUIET P., CARDINALE E., NDAMKOU-NDAMKOU C., DIOP C., THIAM A., DORCHIES P., 2000. *Cooperia pectinata* and *C. punctata*, parasites of the abomasum of cattle in northern Cameroon (Central Africa). *Vet. Parasitol.*, **88**: 135-138.

18. COURTNEY C.H., SHEARER J.K., PLUE R.E., 1985. Efficacy and safety of clorsulon used concurrently with ivermectin for control of *Fasciola hepatica* in Florida USA beef cattle. *Am. J. vet. Res.*, **46**: 1245-1246.
19. DIA M.L., JACQUIET P., CHOLLET J.Y., DIOP C., THIAM A., AMINETOU M., AHMED SALEM C.B., MREZIG A., DIALLO B.C., 2000. Ten years of research activities on tropical parasitology of dromedaries, cattle, and small ruminants in Mauritania. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **916**: 404-409.
20. DOBSON R.J., BESIER R.B., BARNES E.H., LOVE S.C., VIZARD A., BELL K., LE JAMBRE L.F., 2001. Principles for the use of macrocyclic lactones to minimise selection for resistance. *Aust. vet. J.*, **79**: 756-761.
21. DORCHIES P., CARDINAUD B., FOURNIER R., 1996. The persistence of efficacy of moxidectin as a 1% injectable solution and a 0.1% oral drench against nasal bots, pulmonary and gastro-intestinal nematodes in sheep. *Vet. Parasitol.*, **65**: 163-168.
22. DUPUY J., CHARTIER C., SUTRA J.F., ALVINERIE M., 2001. Eprinomectin in dairy goats: dose influence on plasma and excretion in milk. *Parasitol. Res.*, **87**: 294-298.
23. DUPUY J., YIN H., LUO J.X., YANG D.Y., GUAN G.Q., MA M.L., SUTRA J.F., LESPINE A., BOULARD C., ALVINERIE M., 2003. Pharmacokinetics of ivermectin in the yak (*Bos grunniens*). *Vet. Parasitol.*, **117**: 153-157.
24. EGERTON J.R., OSTLIND D.A., BLAIR L.S., EARY C.H., SUHAYDA D., CIFELLI S., RIEK R.F., CAMPBELL W.C., 1979. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: efficacy of the B_{1a} component. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **15**: 372-378.
25. EGERTON J.R., BIRNBAUM J., BLAIR L.S., CHABALA J.C., CONROY J., FISHER M.H., MROZIK H., OSTLIND D.A., WILKINS C.A., CAMPBELL W.C., 1980. 22,23-dihydroavermectin B₁, a new broad-spectrum antiparasitic agent. *Br. vet. J.*, **136**: 88-97.
26. ESCUDERO E., CARCELES C.M., DIAZ M.S., SUTRA J.F., GALTIER P., ALVINERIE M., 1998. Pharmacokinetics of mixodectin and doramectin in goats. *Res. vet. Sci.*, **67**: 177-181.
27. FELLOWES R.A., MAULE A.G., MARTIN R.J., GEARY T.G., THOMPSON D.P., KIMBER M.J., MARKS N.J., HALTON D.W., 2000. Classical neurotransmitters in the ovjector of *Ascaris suum*: localization and modulation of muscle activity. *Parasitology*, **121**: 325-336.
28. GAYRARD V., ALVINERIE M., TOUTAIN P.L., 1999. Comparison of pharmacokinetic profiles of doramectin and ivermectin pour-on formulations in cattle. *Vet. Parasitol.*, **81**: 47-55.
29. GOUDIE A.C., EVANS N.A., GRATION K.A.F., BISHOP B.F., GIBSON S.P., HOLDOM K.S., KAYE B., WICKS S.R., LEWIS D., WEATHERLEY A.J., BRUCE C.I., HERBERT A., SEYMOUR D.J., 1993. Doramectin – a potent novel endectocide. *Vet. Parasitol.*, **49**: 5-15.
30. GRIMAUD P., RICHARD D., KANWE A., DURIER C., DOREAU M., 1998. Effect of undernutrition and refeeding on digestion in *Bos taurus* and *Bos indicus* in a tropical environment. *Anim. Sci.*, **67**: 49-58.
31. GRIMAUD P., RICHARD D., VERGERON M.P., GUILLERET J.R., DOREAU M., 1999. Effect of drastic undernutrition on digestion in Zebu cattle receiving a diet based on rice straw. *J. Dairy Sci.*, **82**: 974-981.
32. GUEYE A., MBENGUE M., DIOUF A., 1994. Tiques et hémoparasitoses du bétail au Sénégal. VI. La zone soudano-sahélienne. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* **47** : 39-46.
33. HEINZE-MUTZ E.M., PITT S.R., BAIRDEN K., BAGGOT D.G., ARMOUR J., BARTH D., CRAMER L.G., 1993. Efficacy of abamectin against nematodes in cattle. *Vet. Rec.*, **132**: 35-37.
34. HEINZE-MUTZ E.M., BARTH D., CRAMER L.G., CROSS S.J., VISSER M., 1993. Efficacy of abamectin against ectoparasites of cattle. *Vet. Rec.*, **132**: 455-457.
35. HEJMADI M.V., JAGANNATHAN S., DELANY N.S., COLES G.C., WOLSTENHOLME A.J., 2000. L-glutamate binding sites of parasitic nematodes: an association with ivermectin resistance? *Parasitology*, **120**: 535-545.
36. HENNESSY D.R., ALVINERIE M., 2002. Pharmacokinetics of the macrocyclic lactones: conventional wisdom and new paradigms. In: Vercruysse J., Rew R.S. Eds, *Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy*. Cambridge, MA, USA, CABI Publishing, p. 97-123.
37. HOTSON I.K., 1982. The avermectins: a new family of antiparasitic agents. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, **53**: 87-90.
38. IKEDA T., 2003. Pharmacological effects of ivermectin, an antiparasitic agent for intestinal strongyloidiasis: its mode of action and clinical efficacy. *Folia Pharmacol. Jpn*, **122**: 527-538.
39. JACKSON H.C., 1989. Ivermectin as a systemic insecticide. *Parasitol. Today*, **5**: 146-156.
40. JACQUIET P., HUMBERT J.F., COMES A.M., CABARET J., THIAM E., CHEIKH D., 1995. Ecological, morphological and genetic characterization of sympatric *Haemonchus* spp. parasites of domestic ruminants in Mauritania. *Parasitology*, **110**: 483-492.
41. JACQUIET P., CABARET J., THIAM E., CHEIKH D., 1998. Experimental and natural *Haemonchus* spp. cross infections of domestic ruminants in Sahelian West Africa. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **849**: 465-469.
42. JOHNSON E.G., 1991. Effects of liver flukes on feedlot performance. *Agri-Pract.*, **12**: 33-34.
43. KAUFMANN J., PFISTER K., 1990. The seasonal of gastrointestinal nematodes in N'Dama cattle in the Gambia. *Vet. Parasitol.*, **43**: 157-170.
44. KERBOEUF D., HUBERT J., CARDINAUD B., BLOND-RIOU F., 1995. The persistence of efficacy of injectable or oral moxidectin in experimentally injected sheep. *Vet. Rec.*, **137**: 399-401.
45. KOHLER P., 2001. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *Int. J. Parasitol.*, **31**: 336-345.
46. KOMOIN-OKA C., ZINSSTAG J., PANDEY V.S., FOFANA F., N'DEPO A., 1999. Epidémiologie des parasites des ovins de la zone sud forestière de la Côte d'Ivoire. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **52** : 39-46.
47. LAFONT C.M., ALVINERIE M., BOUSQUET-MELOU A., TOUTAIN P.L., 2001. Licking behaviour and environmental contamination arising from pour-on ivermectin for cattle. *Int. J. Parasitol.*, **31**: 1687-1692.
48. LANUSSE C., LIFSCHITZ A., VIRKEL G., ALVAREZ L., SANCHEZ S., SUTRA J.F., ALVINERIE M., 1997. Comparative plasma disposition kinetics of ivermectin, moxidectin and doramectin in cattle. *J. vet. Pharmacol. Ther.*, **20**: 91-99.
49. LIFSCHITZ A., VIRKEL G., IMPERIALE F., GALTIER P., LANUSSE C., ALVINERIE M., 1999. Moxidectin in cattle: correlation between plasma and target tissues disposition. *J. vet. Pharmacol. Ther.*, **22**: 266-273.
50. LIFSCHITZ A., VIRKEL G., SALLOVITZ J., SUTRA J.F., GALTIER P., ALVINERIE M., LANUSSE C., 2000. Comparative distribution of ivermectin and doramectin to parasite location tissues in cattle. *Vet. Parasitol.*, **87**: 327-338.
51. LO P.K., FINK D.W., WILLIAMS J.B., BLODINGER J., 1985. Pharmacokinetic studies of ivermectin: effect of formulation. *Vet. Res. Commun.*, **9**: 251-268.
52. NDAO M., BELOT J., ZINSSTAG J., PFISTER K., 1995. Epidémiologie des nématodes gastro-intestinaux des ruminants dans la zone syvo-pastorale au Sénégal. *Vet. Res.*, **26** : 132-139.
53. NDAO M., PANDEY V.S., ZINSSTAG J., PFISTER K., 1995. Helminth parasites and hypobiosis of nematodes in N'Dama cattle during the dry season in the Gambia. *Vet. Parasitol.*, **60**: 161-166.
54. NDAO M., PANDEY V.S., ZINSSTAG J., PFISTER K., 1995. Effect of a single dry season anthelmintic treatment of N'Dama cattle on communal pastures in the Gambia. *Vet. Res. Commun.*, **19**: 205-213.
55. NDAO M., BELOT J., ZINSSTAG J., PFISTER K., 1995. Epidémiologie des nématodes gastro-intestinaux des bovins dans la zone syvo-pastorale au Sénégal. *Vet. Res.*, **146** : 129-134.
56. PITT S.R., LANGHOLFF W.K., EAGLESON J.S., REHBEIN S., 1997. The efficacy of eprinomectin against induced infections of immature (fourth larval stage) and adult nematode parasites in cattle. *Vet. Parasitol.*, **73**: 119-128.
57. RANJAN S., TRUDEAU C., PRICHARD R.K., VON KUTZLEBEN R., CARRIER R., 1992. Efficacy of moxidectin against naturally acquired nematode infections in cattle. *Vet. Parasitol.*, **41**: 227-241.
58. RICHARD D., GUERIN H., FALL S.T., 1989. Feeds in the dry tropics. In: Jarrige R. Ed., *Ruminant nutrition. Recommended allowance and feed tables*. Paris, France, INRA, p. 345-357.
59. ROBIN B., 1983. Ivermectine : 22, 23 dihydroavermectine B₁ : un nouvel antiparasitaire à très large spectre. *Revue Méd. vét.*, **134** : 495-498.
60. ROULET A., PUEL O., GESTA S., LEPAGE J.F., DRAG M., SOLL M., ALVINERIE M., PINEAU T., 2003. MDR1-deficient genotype in Collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin. *Eur. J. Pharmacol.*, **460**: 85-91.

61. SCHINKEL A., WAGENAAR E., MOL C., DEEMPTER L.V., 1996. P-glycoprotein in the blood-brain barrier of mice affects brain penetration and pharmacological activity of many drugs. *J. clin. Invest.*, **97**: 2517-2524.
62. SHOOP W.L., MROZIK H., FISHER M.H., 1995. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. *Vet. Parasitol.*, **59**: 139-156.
63. SHOOP W.L., OSTLIND D.A., ROHRER S.P., MICKLE G., HAINES H.W., MICHAEL B.F., MROZIK H., FISHER M.H., 1995. Avermectins and milbemycins against *Fasciola hepatica*: *in vivo* drug efficacy and *in vitro* receptor binding. *J. Int. Parasitol.*, **25**: 923-927.
64. SHOOP W.L., DEMONTIGNY P., FINK D.W., 1996. Selection of a novel avermectin for use as a topical endectocide for cattle. *Int. J. Parasitol.*, **26**: 1227-1235.
65. SHOOP W.L., EGERTON J.R., EARY C.H., HAINES H.W., MICHAEL B.F., MROZIK H., ESKOLA P., FISHER M.H., SLAYTON L., OSTLIN D.A., SKELLY B.J., FULTON R.K., BARTH D., COSTA S., GREGORY L.M., CAMPBELL W.C., SECARD R.L., TURNER M.J., 1996. Eprinomectin: a novel avermectin for use as a topical endectocide for cattle. *Int. J. Parasitol.*, **26**: 1237-1242.
66. TAKIGUCHI Y., MISHIMA H., OKUDA M., TERAO M., 1980. Milbemycins, a new family of macrolide antibiotics: fermentation, isolation and physico-chemical properties. *J. Antibiot.*, **33**: 1120-1127.
67. TEKO-AGBO A., BIAOU C., AKODA K., FAURE P., ABIOLA F.A., 2003. Contrefaçons et malfaçons des trypanocides à base de diminazène et d'anthelminthiques contenant de l'albendazole au Bénin et au Togo. *RASPA*, **1**: 39-47.
68. TURNER M., SHAEFFER J., 1989. Mode of action of ivermectin. In: Campbell W. Ed., Ivermectin and abamectin. New York, USA, Springer-Verlag, p. 73-88.
69. VASSILIADES G., 1978. Les affections parasitaires dues à des helminthes chez les bovins du Sénégal. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **31**: 157-163.
70. VASSILIADES G., 1984. Parasitisme gastro-intestinal chez le mouton du Sénégal. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **34**: 169-177.
71. VERCRUYSSSE J., CLAEREBOUET E., DORNY P., DEMEULENAERE D., AGNEESSENS J., SMETS K., 1998. Persistence of the efficacy of doramectin against *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* in cattle. *Vet. Rec.*, **143**: 443-446.
72. WARDHAUGH K.G., MAHON R.J., AHMAD H.B., 2001. Efficacy of macrocyclic lactones for the control of larvae of the Old World screw-worm fly (*Chrysomya bezziana*). *Aust. vet. J.*, **79**: 120-124.
73. WICKS S.R., KAYE B., WEATHERLEY A.J., SMITH D.G., 1993. Effect of formulation on the pharmacokinetics and efficacy of doramectin. *Vet. Parasitol.*, **49**: 17-26.
74. WILLIAMS J.C., BROUSSARD S.D., 1995. Persistent anthelmintic activity of ivermectin against gastrointestinal nematodes of cattle. *Am. J. vet. Res.*, **56**: 1169-1175.
75. WILLIAMS J.C., STUEDEMANN J.A., BAIRDEN K., KERBOEUF D., GIODIA H., HUBERT J., BROUSSARD S.D., PLUE R.E., ALVA-VALDES R., BAGGOTT D.G., PINKALL N., EAGLESON J.S., 1997. Efficacy of a pour-on administration of eprinomectin (MK-397) against nematode parasites of cattle with emphasis on inhibited early fourth-stage larvae of *Ostertagia* spp. *Am. J. vet. Res.*, **58**: 379-383.
76. WILLIAMS J.C., LOYACANO A.F., DEROSA A., GURIE J., CLYMER B.C., GUERINO F., 1999. A comparison of persistent anthelmintic efficacy of topical formulations of doramectin, ivermectin, eprinomectin and moxidectin against naturally acquired nematode infections of beef calves. *Vet. Parasitol.*, **85**: 277-288.
77. ZHANG M., WANG G., SHAPIRO A., ZHANG J., 1996. Topological folding and proteolysis profile of P-glycoprotein in membranes of multidrug-resistant cells: implication for the drug-transport mechanism. *Biochemistry*, **35**: 9728-9736.
78. ZINSSTAG J., NJIE M., KAUFMANN J., PFISTER K., 1994. Prolonged suppression of trichostrongyle egg output of N'Dama cattle by a single larvicidal treatment. *Acta trop.*, **58**: 99-103.

Reçu le 24.08.2004, accepté le 19.11.2004

Summary

Bengone-Ndong T., Alvinerie M. Antiparasitic Macrolides: General Pharmacological Properties and Usage Instructions in the African Veterinary Context

Antiparasitic macrolides (or endectocides) represent the most recent class of antiparasitic drugs. This class is homogeneous because of its unique and specific, glutaminergic, mode of action, and its pharmacological properties. These drugs have a spectrum of action directed against many nematodes, as well as many insects and mites. Their structures and associated galenic formulations also enable them to have a high remanent potential. Unfortunately, endectocides are generally used in African countries without any recording procedure. Moreover, the introduction of generic formulations facilitated massive and repetitive uses that have led to therapeutic failures. These drugs should be given a good set-up to be effective in an African tropical environment, in particular by taking into account the characteristics of local breeds and environmental constraints. The first element to consider is the choice of the most potent route of administration. At the same time, the differences observed between animal species targets as well as physiological peculiarities must lead to a better adapted use.

Key words: Parasitism – Veterinary drugs – Medical properties – Efficiency – Africa.

Resumen

Bengone-Ndong T., Alvinerie M. Macrólidos antiparasitarios: propiedades farmacológicas generales y recomendaciones de uso en el contexto veterinario africano

Los macrólidos antiparasitarios, o endectocidas, representan la clase de antiparasitarios más reciente. Esta clase es homogénea debido a su modo de acción único y específico, glutaminérgico, y a sus propiedades farmacológicas. Estas sustancias tienen un espectro de actividad que se extiende a numerosos nemátodos, así como a numerosos insectos y ácaros, debido a su estructura y formulación galénica asociadas, representan igualmente una importante remanencia. Los endectocidas son desgraciadamente a menudo comercializados en el mercado africano sin ningún procedimiento de registro. Aún más, la introducción de las fórmulas genéricas ha facilitado el uso masivo y repetitivo, susceptible de contribuir a los fracasos terapéuticos. Conviene dar estos antiparasitarios en las mejores condiciones, para que ejerzan su acción en el medio tropical africano, teniendo en cuenta principalmente las particularidades de las razas locales y los inconvenientes del medio ambiente. Entre las medidas que se deben poner en marcha, la selección de la vía de administración más eficaz constituye el primer elemento a considerar. Igualmente, las diferencias observadas entre las especies animales que se enfocan, así como las particularidades fisiológicas deben conducir a una utilización mejor adaptada.

Palabras clave: Parasitismo – Medicamento veterinario – Propiedad medicinal – Eficacia – Africa.

Séroépidémiologie de la babésiose bovine à *Babesia divergens* en Tunisie

A. Bouattour^{1*} M. Ghammam¹ M. Darghouth²
S. Touil³ M. Tahri⁴ F. Ben Hamouda¹

Mots-clés

Bovin – *Babesia divergens* –
Babésiose – *Ixodes ricinus* –
Immunofluorescence – Tunisie.

Résumé

La mise en évidence de *Babesia divergens* chez un bovin autochtone en Tunisie est récente. Une étude sérologique et parasitaire effectuée dans sept différentes localités à biotope favorable à *Ixodes ricinus* a permis de confirmer la présence de cette *Babesia* dans plusieurs troupeaux. Au total, 307 bovins de différents âges, répartis dans ces zones, ont été testés par immunofluorescence indirecte en utilisant comme antigène les globules rouges de la gerbille (*Meriones unguiculatus*) infectés par *B. divergens*. La prévalence globale de l'infection avec des sérums dilués à 1/80 a été de 44,6 p. 100. Cette prévalence a été variable en fonction de la localité, du troupeau et de la catégorie d'âge. L'examen des frottis confectionnés à partir de sang hépariné de ces bovins a révélé la présence de piroplasmes de petite taille chez 28,3 p. 100 des animaux. L'inoculation de 46 prélèvements aux gerbilles a permis d'isoler deux souches de *B. divergens*. Ces résultats montrent que *B. divergens*, considérée jusqu'à présent comme se cantonnant à l'Europe, est présente en Afrique du Nord sous forme de foyers et qu'une endémie stable s'est établie entre cet hémoparasite et les bovins de race locale (*Bos taurus*).

■ INTRODUCTION

Les babésioses bovines dues à la multiplication dans les hématies d'un protozoaire du genre *Babesia* constituent un facteur limitant au développement de l'élevage dans plusieurs pays des régions tropicales et subtropicales. Au Maghreb, deux espèces de *Babesia* ont été décrites chez les bovins au début du siècle. Il s'agit de

B. bigemina et *B. bovis* qui sont transmises par *Boophilus annulatus* et *Rhipicephalus bursa* (8, 26). Récemment, Bouattour et Darghouth (4) ont décrit la présence de *B. divergens* chez un taureau au nord-ouest de la Tunisie. Cette espèce de *Babesia*, transmise par la tique *Ixodes ricinus*, est largement distribuée en Europe. Elle constitue encore un obstacle à l'expansion et à l'amélioration de l'élevage bovin à cause de son caractère pathogène marqué et de sa grande prévalence notamment en Irlande (14) et en France (6). En Tunisie, aucune étude épidémiologique permettant d'évaluer la prévalence et l'impact de cette maladie chez les bovins n'a été réalisée jusqu'à présent.

Dans ce travail, les investigations épidémiologiques ont concerné l'étude de la prévalence de *B. divergens* chez les bovins dans les régions favorables au développement du vecteur *I. ricinus*. Parmi les nombreux tests sérologiques permettant la détection des anticorps anti-*Babesia* (28), pour cette enquête a été choisi le test le plus fréquemment utilisé : l'immunofluorescence indirecte (1, 10, 27).

1. Unité d'Entomologie médicale, Institut Pasteur, BP 74, 1002 Tunis, Tunisie

2. Laboratoire de parasitologie, école de médecine vétérinaire de Sidi Thabet, 2020, Tunisie

3. SA circonscription Amdoun, CRDA Béja, Tunisie

4. SA circonscription Nefza, CRDA Béja, Tunisie

* Auteur pour la correspondance

Fax : 216 71 791 833 ; e-mail : ali.bouattour@pasteur.rns.tn

MATERIEL ET METHODES

Sites de l'étude

L'enquête a concerné les bovins élevés dans les zones favorables au développement d'*Ixodes ricinus* (3, 5, 30). Ainsi, les élevages ont été choisis dans l'étage bioclimatique méditerranéen humide (pluviométrie de 800 à 1 500 mm/an). Dans cet étage, les prélèvements ont été effectués dans six localités. Ain Draham (36° 58' de lat. N, 8° 52' de long. E, altitude 850 m), Fernana (36° 40' de lat. N, 8° 42' de long. E, altitude 650 m) et El Jouza (36° 86' de lat. N, 8° 68' de long. E, altitude 500 m) sont situées dans la forêt de chêne liège (*Quercus suber*) et de chêne zeen (*Quercus faginea*). A Zouaraa (37° 02' de lat. N, 8° 57' de long. E, altitude 200 m) la végétation correspond à un maquis dense où prédominent *Olea europaea*, *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis* avec des pins et des acacias plantés. Dans la station de Sejnane (37° 03' de lat. N, 09° 14' de long. E, altitude 200 m), la forêt de chêne liège est très dégradée. Enfin, la localité de Teskraya (37° 15' de lat. N, 9° 48' de long. E, altitude 150 m) se caractérise par un maquis à végétation xérophile. Deux stations ont également été choisies dans l'étage bioclimatique subhumide : Jbel Zaghouan (36° 22' de lat. N, 10° 07' de long. E, altitude 600 m), caractérisée par un taillis dégradé où poussent quelques chênes verts (*Quercus ilex*), et Oued el Abid (36° 40' de lat. N, 10° 44' de long. E, altitude 150 m) à proximité du littoral, correspondant à une garrigue dense à *Quercus coccifera* et *Pistacia lentiscus*. Enfin, trois élevages ont été étudiés à Jbel Kesra (36° 04' de lat. N, 9° 22' de long. E, altitude 810 m) dans l'étage bioclimatique semi-aride où se développe une pinède (*Pinus halepensis*) avec, en sous-bois, un taillis de *Quercus ilex* (13).

Choix des élevages

Dans ces régions en majorité montagneuses, l'élevage est de type traditionnel. Les bovins sont largement répartis entre les paysans. Cependant, ces derniers s'associent par famille pour former un troupeau. Pour cette enquête, 35 élevages ont été choisis dans les différentes localités (tableau I). La majorité de ces exploitations familiales groupent les bovins pour bénéficier d'un gardiennage commun lors du pâturage dans le maquis ou dans les bois. Les élevages étudiés ont été essentiellement à base de bovins de races locales (88 p. 100) avec quelques têtes de races Frisonnes ou Schwitz (8 p. 100) et de races croisées (4 p. 100). Les animaux ont été regroupés en trois catégories selon leur âge. Entre octobre et

Tableau I

Répartition des bovins par localité et par classe d'âge

Localité	Nb. d'exploitations	Nb. de bovins examinés	<1 an	1-2 ans	>2 ans
Ain Draham	6	37	5	9	23
Fernana	3	38	6	8	24
Jbel el Jouza	7	64	9	20	35
Zouaraa	3	33	3	4	26
Sejnane	2	20	3	1	16
Teskraya	2	14	0	3	11
Jbel Zaghouan	4	44	3	17	24
Oued el Abid	5	34	3	7	24
Jbel Kesra	3	23	2	4	17
Total	35	307	34	73	200

mars, 307 bovins ont fait l'objet de prélèvements sanguins dans deux tubes différents : un tube sec pour le sérum et un autre hépariné pour l'étude parasitologique.

Test d'immunofluorescence indirecte

Les sérums ont été récupérés par centrifugation (3 000 t/min pendant 5 min), puis dilués au 1/80 dans du PBS (*phosphate buffered saline* à 7,2 pH), dilution retenue comme seuil de positivité pour la détermination de la prévalence de l'infection (15). Pour chaque réaction, ont été utilisés, d'une part, un sérum positif obtenu à partir d'un veau splénectomisé, puis infecté par une souche de *B. divergens* (4), et, d'autre part, un sérum négatif prélevé chez un veau de trois mois en provenance d'une ferme indemne de babésiose.

Meriones unguiculatus, gerbille réceptive à l'infection par *B. divergens* (19), a été inoculé par voie intrapéritonéale par une souche isolée à partir d'un taurillon en Tunisie et conservée dans de l'azote liquide (4). Lorsque la parasitémie a atteint 13 p. 100, la gerbille a été sacrifiée, les globules rouges infectés ont été récupérés, lavés trois fois dans du PBS (PCV 20 p. 100), puis répartis sur des lames à immunofluorescence indirecte (IFI) à raison de 5 µl par puits (15). Les lames ont été séchées, fixées pendant 5 min dans de l'acétone, puis conservées à -20 °C jusqu'à leur utilisation comme antigène pour le test IFI. Pour la révélation du complexe antigène-anticorps, ont été utilisées des antigammaglobulines bovines de lapin marquées à l'isothiocyanate de fluorescéine (Laboratoire Nordic) diluées au 1/80 dans du PBS.

Dissection des Ixodes pour la détection de Babesia

Dans la localité d'El Jouza, les auteurs ont procédé au début du mois de décembre à la collecte des *Ixodes* par la technique de la drague qui a consisté à traîner sur le tapis herbacé, formé essentiellement de fougères (*Pteridium aquilinum*) et de graminées, un morceau de tissu blanc (1,5 m x 1,5 m). Ce tissu a été fixé sur une baguette de bois et l'ensemble a été tiré derrière un chercheur par une ficelle. Au laboratoire, seules les femelles d'*Ixodes ricinus* ont fait l'objet de dissection selon la technique décrite par Purnell et Joyner (25). La tique vivante a été fixée sur sa face ventrale dans une boîte de Petri remplie de paraffine. Sous une loupe, cette tique couverte de PBS a été disséquée à l'aide d'un bistouri. Les glandes salivaires ont été dégagées, puis prélevées à l'aide d'une pince et étalées sur une lame porte-objet. Après séchage, ces glandes ont été colorées par le vert de méthyl et la pyronine (VMP) (29). Les glandes salivaires infectées ont présenté, au niveau des cellules type III des acini, des noyaux hypertrophiés entourés par les masses parasitaires. Ces dernières ont été colorées soit en rouge violacé en présence de sporoblastes, soit en vert lorsque les masses parasitaires étaient mûres.

Identification de Babesia

Pour la détection de *Babesia* sp., les auteurs ont eu recours à l'examen microscopique de frottis sanguins confectionnés à partir du sang prélevé sur les tubes héparinés de 307 bovins, puis colorés au Giemsa (Merck). Parmi ces prélèvements héparinés, 46 en provenance de bovins ayant présenté, selon les propriétaires, des signes de suspicion d'une babésiose (anémie, urine de couleur anormale, perte d'appétit...) ont été injectés par voie intrapéritonéale aux gerbilles afin d'isoler *B. divergens*.

Analyses statistiques

Le test du Chi-2 installé sur le logiciel Epi info, version 6 04/Cfr/1999, a été utilisé pour comparer les séroprévalences.

■ RESULTATS

Prévalence de *Babesia divergens* dans les élevages choisis

Parmi les 307 bovins qui ont fait l'objet de prélèvements sanguins dans les 35 élevages des neuf localités du nord de la Tunisie, 137 sérums, testés par l'IFI, se sont révélés positifs. La séroprévalence globale a été de 44,6 p. 100 (tableau II). Une variation significative a été observée selon la catégorie d'âge des animaux (χ^2 2 dd1, $p = 0,003$). Les jeunes âgés de moins d'un an ont eu une séroprévalence de 23,5 p. 100 ; elle a été de 37 p. 100 chez les animaux de 1 à 2 ans et de 51 p. 100 chez les bovins adultes. Cette séroprévalence a varié selon les localités de 0 p. 100 (Fernana) à 82 p. 100 (Zouaraa) (tableau III). Dans sept des 35 exploitations (98 bovins), des anticorps anti-*B. divergens* n'ont pas été décelés. Trois de ces élevages étaient situés à Fernana et trois autres à Zaghouan.

Examen direct des frottis sanguins

L'observation microscopique de 307 frottis sanguins a permis de déceler la présence de piroplasmes chez 87 bovins (28,3 p. 100). Parmi ces piroplasmes, 86 p. 100 étaient de forme annulaire ou en forme de poires. Cependant, leur morphologie n'a pas permis de les identifier avec certitude comme étant *B. divergens*.

Isolement de *Babesia divergens*

Au total 46 prélèvements de sang de bovins ont été inoculés aux gerbilles. Deux seulement ont présenté, au niveau des globules

rouges, des *B. divergens* (tableau III). Ces souches isolées sur ces gerbilles ont été conservées dans de l'azote liquide.

Recherche de sporoblastes dans les glandes salivaires des Ixodes

Les auteurs ont récolté sur la végétation de la forêt d'El Jouza, par la technique de la drague, 421 *Ixodes ricinus*, 6 *Haemaphysalis sulcata* et 2 *H. punctata*. Parmi les 230 femelles d'*I. ricinus* disséquées et colorées au vert de méthyl et la pyronine, cinq seulement (2,2 p. 100) ont présenté des masses parasitaires au niveau de leurs glandes salivaires.

■ DISCUSSION

En Europe, la babésiose bovine à *B. divergens* peut être à l'origine de problèmes pathologiques. De nombreuses études sérologiques menées dans différentes régions de ce continent montrent que cette parasitose est fréquente chez les bovins (1, 14, 22, 27).

En Afrique du Nord, les travaux concernant l'épidémiologie des babésioses remontent à 1945 (26) mais ils ne font pas allusion à la babésiose à *B. divergens*. Cette dernière a été isolée, pour la première fois dans cette région, en 1996 (4). L'enquête parasitaire menée dans ce travail vient confirmer la présence de *B. divergens* au nord de la Tunisie.

Le test utilisé ici pour la recherche des anticorps anti-*B. divergens* a été l'IFI. Ce test permet de détecter des anticorps qui apparaissent précocement (2). Ces anticorps témoignent d'une infection récente ou ancienne (17) par *B. divergens*. Ainsi la séroprévalence globale chez les 307 bovins prélevés a été de 44,6 p. 100.

Selon L'Hostis (21) et L'Hostis et coll. (23), le nombre de bovins séropositifs en Sarthe (France) est variable selon la saison. Il est de 50 p. 100 en automne, il décroît en hiver, puis augmente de nouveau au printemps. En Suisse, Gern et coll. (12) rapportent la même observation et constatent que le taux d'animaux séropositifs augmente de 33,9 à 90,6 p. 100 durant la saison de pâturage. En Suède, 41,7 p. 100 des bovins deviennent séropositifs en fin de saison de pâturage (7). En France, la séroprévalence est observée au printemps et en automne, périodes correspondant aux saisons d'activité du vecteur *I. ricinus* (20). Dans la présente enquête, les prélèvements sérologiques ont été effectués au cours de la saison d'activité des adultes d'*I. ricinus* qui parasitent en Tunisie essentiellement les bovins (3, 5).

Tableau II

Prévalence globale de l'infection par *Babesia divergens* en fonction de l'âge

Catégorie d'âge	Nb. testé	Positif (%)
> 2 ans	200	102 (51)
1-2 ans	73	27 (37)
< 1 an	34	8 (23,5)
Total	307	137 (44,6)

Tableau III

Séroprévalence de l'infection, examen des frottis et inoculation aux gerbilles selon le site

Localité	Nb. de bovins examinés	Séroprévalence (%)	Bovins avec piroplasmes	Nb. de prélèvements inoculés aux gerbilles	Gerbilles positives
Ain Draham	37	70,2	8	10	1
Fernana	38	0	4	2	0
Jbel el Jouza	64	54,7	21	8	1
Zouaraa	33	82	19	4	0
Sejnane	20	55	8	8	0
Teskraya	14	35,7	4	5	0
Jbel Zaghouan	44	6,8	2	0	0
Oued el Abid	34	79,4	17	3	0
Jbel Kesra	23	13	4	6	0
Total	307	44,6	87	46	2

Dans toutes les localités étudiées, à l'exception de celle de Fernana, des anticorps anti-*B. divergens* ont été décelés avec une séroprévalence variant de 6,8 à 82 p. 100 selon la localité (tableau III). Or il a été montré que la séroprévalence chez les bovins était fonction de la pression d'infestation par *I. ricinus*, vecteur de cette *Babesia* (20). Par conséquent, la différence observée entre les prévalences de chaque localité peut être essentiellement attribuée aux taux d'infestation des bovins par *I. ricinus*, vecteur de *B. divergens* en Tunisie (3). En effet, les troupeaux de ces localités pâturent en général dans les maquis ou les sous-bois de chêne liège. Les bovins sont par conséquent exposés à l'infestation par les *Ixodes*, mais à un taux de parasitisme variable en raison des différences de densité d'*I. ricinus* observées dans ces localités (Bouattour, résultats non publiés). Ces différences sont dues aux conditions biogéographiques, essentiellement le couvert végétal, l'humidité et la présence d'hôtes appropriés pour les *Ixodes*. C'est ainsi qu'à Fernana, située à 20 km au sud d'Aïn Draham, les bovins testés ont été choisis parmi ceux qui pâturaient dans le sous-bois de chêne liège.

Malgré cela, les auteurs n'ont pas trouvé de porteurs d'anticorps dirigés contre *B. divergens*. Dans cette localité, le surpâturage a provoqué la disparition de toute la strate herbacée et a dénudé le sol provoquant ainsi la disparition des conditions de survie des stades libres d'*I. ricinus*. D'ailleurs, les auteurs n'ont jamais enregistré la présence de cette tique sur les animaux de cette localité (3). Par ailleurs, des différences dans la prévalence de l'infection à *B. divergens* ont été également observées entre les élevages de la même localité. Le nombre de fermes où des bovins étaient séropositifs a été de 25, soit 80,6 p. 100 des exploitations concernées par l'enquête. Ce résultat, qui rejoint les observations de L'Hostis en France (20), est en faveur du caractère endémique à foyer très localisé des babésioses d'une façon générale (6). C'est ainsi qu'à Aïn Draham, la séroprévalence a varié de 16,5 à 80 p. 100 selon les troupeaux. Cette différence pourrait être attribuée à la conduite de l'élevage. En effet, les troupeaux à faible séroprévalence étaient formés en majorité de bovins de races importées (Frisonne ou Schwitz). En raison de leur exploitation dans la production de lait, les vaches de ces troupeaux ne sortaient pas dans la forêt ou le maquis. Les exploitants se contentaient de les faire pâture dans les alentours du *douar* pour les ramener facilement au moment de la traite. Par ailleurs, les jeunes bovins de moins d'un an ne partaient qu'exceptionnellement avec le troupeau au pâturage ; par conséquent, les risques de leur contact avec *I. ricinus* et donc leur infection par *Babesia* étaient faibles.

Ceci explique la différence significative dans la prévalence de l'infection par *Babesia* retrouvée chez les trois catégories d'âge des bovins étudiés ($p = 0,003$; tableau II). En effet, chez les bovins de plus de 2 ans, la séroprévalence (51 p. 100) a été plus importante que celle des animaux de 1 à 2 ans (37 p. 100) et encore plus élevée que celle des jeunes de moins d'un an (23,5 p. 100). La mise au pâturage expose l'animal à l'infestation par les *Ixodes* et à l'infection par *Babesia*. Ceci engendre chez ces animaux l'apparition d'anticorps anti-*Babesia* qui vont persister pendant une longue période (17). La présence de ces anticorps peut être maintenue par les infections répétées chaque saison lors des infestations par les *Ixodes*. Mais la persistance des anticorps pourrait être attribuée aussi à la présence du parasite dans l'organisme du bovin (20). Ceci confère à l'animal un état de prémunition. Cependant, malgré sa spécificité le test IFI, considéré comme très convenable pour déceler la présence d'une infection à *Babesia* dans un troupeau (2, 18), peut être à l'origine de réactions croisées avec les autres espèces de *Babesia* (11), notamment *B. bovis* et *B. bigemina* dont les vecteurs, *Rhipicephalus bursa* et *Boophilus annulatus*, en Tunisie, sont présents dans les mêmes biotopes qu'*I. ricinus* (3, 5).

Le recours à l'examen des frottis sanguins des bovins étudiés ne peut en aucun cas résoudre ce problème, et ce, en raison des

similitudes morphologiques essentiellement entre *B. divergens* et *B. bovis*. *Theileria annulata*, endémique dans ces régions, mais avec une faible séroprévalence (3, 9), peut également présenter des formes de petite taille similaires à celles de ces deux dernières babésioses. En revanche, *B. bigemina*, plus long, en forme de poires à angle obtus plus typiques, est distinguable des deux autres babésioses rencontrées dans ces régions.

Afin d'isoler *B. divergens*, 46 prélèvements choisis d'une manière aléatoire ont été inoculés à *M. unguiculatus*, animal de laboratoire réceptif à ce parasite. Deux gerbilles seulement ont présenté *B. divergens* dans leurs hématies. Ce résultat confirme donc la circulation de ce parasite dans les régions où *I. ricinus* a été récolté (3, 5), mais il ne concorde ni avec la séroprévalence ni avec le pourcentage des porteurs de gamétocytes retrouvés lors de cette enquête, ni avec les résultats rapportés par L'Hostis et coll. (22). Ceci pourrait être attribué à plusieurs raisons. D'une part, le choix des bovins dont le sang a été inoculé aux gerbilles était aléatoire, basé uniquement sur les déclarations des propriétaires. Or ces derniers n'observaient leurs bovins que très rarement car ils partaient le matin au pâturage et ne revenaient que le soir. D'autre part, certaines babésioses pouvaient être altérées avant l'injection de sang aux gerbilles, après les quelques jours d'acheminement du tube au laboratoire. Enfin, il est connu que le test d'IFI indique que le bovin a été en contact avec le parasite mais il ne permet pas de savoir quand cette infection a été contractée (15).

Ces résultats peuvent suggérer que les bovins de ces troupeaux étaient en état de prémunition. D'ailleurs, selon les vétérinaires praticiens dans ces régions, il est exceptionnel qu'ils observent un cas clinique de babésiose. En Europe, il est connu que les cas de babésiose clinique surviennent dans des exploitations où la pression parasitaire par *I. ricinus* est importante ; une pression d'infestation faible semble suffisante pour maintenir une prévalence sérologique importante (21, 23). D'autre part, dans les zones à *Ixodes*, les babésioses cliniques sont rares et leur incidence reste très faible, variant de 0,4 à 4,9 p. 100 selon les études (7, 14, 22). Or dans la majorité des localités étudiées en Tunisie, le parasitisme des bovins par les *Ixodes* ne semble pas être très important. De même, le taux d'infection de ces tiques par *B. divergens*, déterminé après dissection, a été de 2,2 p. 100. Cette prévalence reste dans la fourchette des valeurs trouvées en Europe qui varient de 1 à 5 p. 100 (20).

La coloration au VMP utilisée pour déterminer la prévalence de *B. divergens* chez *I. ricinus* a présenté l'avantage de pouvoir étudier un grand nombre de tiques à des coûts relativement faibles. Cependant, si elle a mis en évidence la présence de masses parasitaires au niveau des glandes salivaires, elle n'a pas permis de différencier entre les espèces. Mais grâce à l'analyse de l'ADN de ces sporoblastes par la technique du *reverse line blotting* développée par Gubbels et coll. (16), les auteurs ont pu confirmer qu'il s'agissait de *B. divergens* (3).

Le faible parasitisme des bovins par les *Ixodes* dont la prévalence de l'infection par *B. divergens* est faible fait que les bovins dans le nord de la Tunisie sont soumis à une faible pression d'infection mais répétée chaque année. Ceci permet aux animaux autochtones de race locale, qui peuvent montrer une résistance, d'acquérir une immunité sans développer de babésiose clinique. Par conséquent, on peut supposer que la situation endémique pour *B. divergens* dans les troupeaux de ces régions est stable bien que du point de vue sérologique cette situation ne réponde pas aux critères établis par Mahony (24). Néanmoins, la nouvelle orientation de l'Etat tunisien qui vise à encourager l'élevage dans ces régions, avec l'introduction de nouvelles races améliorées, pourrait engendrer l'apparition d'une nouvelle situation épidémiologique avec des cas cliniques sévères.

■ CONCLUSION

L'isolement de *B. divergens* chez un taurillon autochtone en Tunisie a amené les auteurs à étudier la présence de l'infection des bovins par ce protozoaire. L'enquête sérologique et parasitaire a montré que *B. divergens* circulait dans les troupeaux bovins qui pâturaient dans les sous-bois des forêts de chêne liège et des maquis favorables à la survie d'*I. ricinus*. La prévalence de l'infection a été variable selon les troupeaux, ce qui a confirmé la distribution en mosaïque des foyers de babésioses. Si les cas cliniques semblaient rares parmi ces bovins de races locales, il serait judicieux de bien suivre l'évolution épidémiologique de cette maladie après l'introduction de nouvelles races importées dans ces zones. Des études épidémiologiques approfondies sont nécessaires pour définir les facteurs de risque.

La mise en évidence de *B. divergens* chez un bovin autochtone en Tunisie est récente. Une étude sérologique et parasitaire effectuée dans sept différentes localités à biotope favorable à *Ixodes ricinus* a permis de confirmer la présence de ce parasite dans plusieurs troupeaux. Au total, 307 bovins de différents âges, répartis dans ces zones, ont été testés par immunofluorescence indirecte à la dilution 1/80 à la recherche d'anticorps *B. divergens*. La prévalence globale de l'infection a été de 44,6 p. 100. Cette prévalence a été variable en fonction de la localité, du troupeau et de la catégorie d'âge. L'examen des frottis confectionnés à partir de sang hépariné de ces bovins a révélé la présence de piroplasmes de petite taille chez 28,3 p. 100 des animaux. L'inoculation de 46 prélèvements aux mérions a permis d'isoler deux souches de *B. divergens*. Ces résultats montrent que *B. divergens*, considérée jusqu'à présent comme se cantonnant à l'Europe, est présente en Afrique du Nord sous forme de foyers.

Remerciements

Ce travail a reçu le support de l'Union européenne (RTD projet contrat n° : ICAS-CT2000-30009) et du secrétariat d'Etat à la Recherche scientifique et à la Technologie de Tunisie. Nous tenons à remercier également Dr G. Uilenberg pour avoir accepté de relire notre manuscrit et Sassi Limam (Enmvt) pour son assistance technique.

BIBLIOGRAPHIE

- ADAM K.M.G., BLEWETT D.A., 1978. A serological survey for *Babesia* in cattle in Scotland. II. The occurrence of antibody in the population and the distribution of infected herds. *Ann. trop. Med. Parasitol.*, 5: 417-428.
- BIDWELL D.E., TURP P., JOYNER L.P., PAYNE R.C., PURNELL R.E., 1978. Comparisons of serological tests for *Babesia* in British cattle. *Vet. Rec.*, 103: 446-449.
- BOUATTOUR A., 2001. Les tiques de Tunisie. Rôle de *Hyalomma detritum* dans la transmission de *Theileria annulata*. Thèse Doct. Sci., faculté des Sciences de Tunis, Tunisie, 253 p.
- BOUATTOUR A., DARGHOUTH M.A., 1996. First report of *Babesia divergens* in Tunisia. *Vet. Parasit.*, 63: 161-165.
- BOUATTOUR A., DARGHOUTH M.A., DAOUD A., 1999. Distribution and ecology of ticks (Acari: Ixodidae) infesting livestock in Tunisia: an overview of eight years field collections. *Parassitologia*, 41 (Suppl.): 5-10.
- BOURDOISEAU G., L'HOSTIS M., 1995. Les babésioses bovines. *Point vét.*, 27: 125-131.
- CHRISTENSSON D.A., ENFORS E., 1987. An outbreak of babesiosis (*B. divergens*) in a dairy herd comprising different age groups of cattle. *Acta vet. Scand.*, 28: 125-126.

- COTTIER M.H., 1936. Les affections à hématozoaires endoglobulaires en Afrique du Nord. *Off. int. Epizoot.*, n° 78: 1-16.
- DARGHOUTH M., BOUATTOUR A., KILANI M., 1999. Tropical theileriosis in Tunisia: epidemiology and control. *Parassitologia* 41 (Suppl.): 33-36.
- DONNELLY J., JOYNER L.P., CROSSMAN P.J., 1972. The incidence of *Babesia divergens* infection in a herd of cattle as measured by the indirect immunofluorescent antibody test. *Res. vet. Sci.*, 13: 511-514.
- FUSINAGA T., MINAMI T., ISHIHARA T., 1980. Serological relationship between a large *Babesia* found in Japanese cattle and *Babesia major*, *B. bigemina* and *B. bovis*. *Res. vet. Sci.*, 29: 230-234.
- GERN L., KINDLER A., BROSSARD M., 1988. Annual evolution of cattle immunity against *Babesia divergens* in Northern Switzerland. *Prev. vet. Med.*, 6: 9-16.
- GOUNOT M., SCHOENENBERGER A., 1967. Notice détaillée de la carte phytoécologique de la Tunisie septentrionale, échelle 1/200 000; feuille II : Bizerte - Tunis; feuille III : Tabarka - Souk el Arba. *Ann. IRAT*, 40: 1-340.
- GRAY J.S., HARTE L.N., 1985. An estimation of the prevalence and economic importance of clinical bovine babesiosis in the republic of Ireland. *Irish vet. J.*, 39: 75-78.
- GRAY J.S., KAYE B., 1991. Studies on the use of gerbil-derived *Babesia divergens* antigen for diagnosis of bovine babesiosis. *Vet. Parasitol.*, 39: 215-224.
- GUBBELS J.M., DE VOS A.P., VAN DER WEIDE M., VISERAS J., SCHOULS L.M., DE VRIES E., JONGEJAN F., 1999. Simultaneous detection of bovine *Theileria* and *Babesia* species by reverse line blot hybridization. *J. clin. Micro.*, 37: 1782-1789.
- JOYNER L.P., DONNELLY J., PAYNE R., 1972. The indirect fluorescent antibody test for the differentiation of infections with *Babesia divergens* or *Babesia major*. *Res. vet. Sci.*, 13: 515-518.
- LEEFLANG P., PERIE N.M., 1972. Comparative immunofluorescent studies on four *Babesia* species of cattle. *Res. vet. Sci.*, 13: 342-346.
- LEWIS D., WILLIAMS H., 1979. Infection of the Mongolian gerbil with the cattle piroplasm *Babesia divergens*. *Nature*, 278: 170-171.
- L'HOSTIS M., 1994. *Babesia divergens* en France : épidémiologie descriptive et analytique. Thèse Doct., université de Montpellier, France, 76 p.
- L'HOSTIS M., 1998. Aspects vétérinaires des maladies transmises par les tiques : exemple de la babésiose bovine à *Babesia divergens*. *Méd. Mal. infect.*, 28 (n° spécial): 359-362.
- L'HOSTIS M., CHAUVIN A., VALENTIN A., MARCHAND A., GORENFLOT A., 1995. Large-scale survey of *Babesia divergens* bovine babesiosis in France. *Vet. Rec.*, 136: 36-38.
- L'HOSTIS M., CHAUVIN A., VALENTIN A., PERIGOUT E., GORENFLOT A., 1997. A survey of *Babesia divergens* antibody kinetics in cattle in Western France. *Vet. Res.*, 28: 481-488.
- MAHONEY D.F., 1977. *Babesia* in domestic animals. In: Kreier J.P. Ed., Parasitic protozoa, Vol. IV. New York, USA, Academic Press, p. 1-52.
- PURNELL R.E., JOYNER L.P., 1968. The development of *Theileria parva* in the salivary glands of the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. *Parasitology*, 58: 725-732.
- SERGEANT E., DONATIEN A., PARROT L., LESTOQUARD F., 1945. Etudes sur les piroplasmoses bovines. Alger, Algérie, Institut Pasteur, 816 p.
- TAYLOR S.M., KENNY J., STRAIN A., 1982. The distribution of *Babesia divergens* infection within the cattle population of Northern Ireland. *Br. vet. J.*, 138: 384-392.
- TODOROVIC R.A., CARSON C.A., 1981. Methods for measuring the immunological response to *Babesia*. In: Ristic M., Hreier J.P. Eds, Babesiosis. New York, USA, Academic Press, p. 381-410.
- WALKER A.R., MCKELLER S.B., BELL L.J., BROWN C.G.D., 1979. Rapid quantitative assessment of *Theileria* infection in ticks. *Trop. Anim. Health Prod.*, 11: 21-26.
- YOUNSI H., POSTIC D., BARANTON G., BOUATTOUR A., 2001. High prevalence of *Borrelia lusitanae* in *Ixodes ricinus* ticks in Tunisia. *Eur. J. Epidemiol.*, 17: 53-56.

Reçu le 20.01.2004, accepté le 20.08.2004

Summary

Bouattour A., Ghammam M., Darghouth M., Touil S., Tahri M., Ben Hamouda F. Seroepidemiology of Bovine Babesiosis due to *Babesia divergens* in Tunisia

Babesia divergens was recently isolated in Tunisia from a bovine of local breed. A serological and parasitic survey was conducted in seven sites, where biotopes were favorable to *Ixodes ricinus*. Results confirmed the presence of *Babesia* in several herds. Serum samples were collected from 307 cattle of various ages, spread out throughout the sites. All sera were tested by the indirect immunofluorescence test using *B. divergens*-infected red cells of gerbils (*Meriones unguiculatus*) as an antigen. At 1/80 dilution, the prevalence of infection by *B. divergens* was 44.6%. The prevalence varied according to the site, the herd and the age class of cattle. Direct examination of thin blood smears of these bovines showed intraerythrocytic piroplasms in 28.3% samples. After inoculation of 46 collected samples to gerbils, two *B. divergens* strains were isolated. The present study shows that *B. divergens*, which was thought to be confined in Europe up until now, is also present as foci in North Africa, and that a stable endemic situation appears to be established between the local breed (*Bos taurus*) and this hemoparasite in North Tunisia.

Key words: Cattle – *Babesia divergens* – Babesiosis – *Ixodes ricinus* – Immunofluorescence – Tunisia.

Resumen

Bouattour A., Ghammam M., Darghouth M., Touil S., Tahri M., Ben Hamouda F. Epidemiología serológica de la babesiosis bovina por *Babesia divergens* en Túnez

El descubrimiento de *Babesia divergens* en el bovino autóctono en Túnez es reciente. Un estudio serológico y parasitario, efectuado en siete localidades diferentes con biotopo favorable a *Ixodes ricinus*, permitió la confirmación de la presencia de esta *Babesia* en varios hatos. En total, 307 bovinos de edades diferentes, distribuidos en estas zonas, fueron examinados mediante inmunofluorescencia indirecta, utilizando como antígeno los glóbulos rojos de un jerbo (*Meriones unguiculatus*) infectados con *B. divergens*. La prevalencia global de la infección con sueros diluidos a 1/80 fue de 44,6%. Esta prevalencia fue variable en función de la localidad, del hato y de la categoría de edad. El examen de los frotis realizados a partir de sangre heparinizada de estos bovinos reveló la presencia de piroplasmas de tamaño pequeño en 28,3% de los animales. La inoculación de 46 muestras de los jerbos permitió el aislamiento de dos cepas de *B. divergens*. Estos resultados muestran que *B. divergens*, considerada hasta ahora como recluida a Europa, está presente en África del Norte bajo la forma de focos y que una endemia estable se ha establecido entre este hemoparásito y los bovinos de raza local (*Bos taurus*).

Palabras clave: Ganado bovino – *Babesia divergens* – Babesiosis – *Ixodes ricinus* – Inmunofluorescencia – Túnez.

Distribution et variations d'abondance saisonnières d'*Argas persicus* au Sénégal

A. Guèye¹ M. Sylla¹ A. Diouf¹
I. Touré¹ J.L. Camicas²

Mots-clés

Poulet – *Argas persicus* – Logement des volailles – Borréliose – Sénégal.

Résumé

Les auteurs rapportent les résultats d'une étude sur l'habitat, la distribution et la variation d'abondance saisonnière d'*Argas persicus* (Oken, 1818) au Sénégal. La typologie des poulaillers en milieu traditionnel, gîtes des tiques, a été réalisée à cet effet et divers modèles ont été décrits : le modèle hétéroclite, le modèle à épineux, les modèles en végétaux tressés et les modèles en banco. La distribution établie à l'échelle du degré-carré a montré une présence et une abondance de cette espèce d'*Argas* essentiellement dans la moitié septentrionale du pays, alors qu'elle a été rare dans la partie méridionale. La variation d'abondance saisonnière a fait l'objet d'un suivi au cours de 17 mois en zone sahélienne. Le détiquage de 50 poulets et la collecte des tiques dans 30 poulaillers durant cinq minutes pour chacun de ces abris sur une base mensuelle ont indiqué une activité d'*Argas persicus* dans la basse-cour pendant toute l'année. L'examen de 200 frottis de sang, réalisés à la saison sèche ainsi qu'à la saison des pluies sur des poulets indigènes élevés en zone rurale, n'a pas permis d'observer des hémoparasites. Cependant, les fermes avicoles modernes implantées dans ces mêmes milieux connaissaient des épizooties de spirochétose aviaire.

■ INTRODUCTION

L'aviculture traditionnelle représente 60 à 70 p. 100 de l'offre de la filière avicole au Sénégal (6). La part appréciable de ce sous-secteur de l'élevage dans l'approvisionnement du marché intérieur masque néanmoins beaucoup de contraintes à la production, dont les plus importantes sont d'ordre sanitaire. Les pertes pour l'élevage sont considérables, avec une mortalité de 60 p. 100 en moyenne, taux que l'on trouve dans d'autres pays africains (7). La maladie de Newcastle est généralement désignée comme étant la pathologie majeure en zone rurale (3), bien que des recherches plus approfondies méritent d'être effectuées sur la pathologie aviaire en milieu villageois. L'importance des ectoparasites, particulièrement celle d'*Argas persicus* (Oken, 1818) et son impact sur la productivité de cet élevage avicole, reste encore à préciser.

1. Laboratoire national de l'élevage et de recherches vétérinaires, BP 2057, Dakar, Sénégal

2. IRD, BP 64501, 34394 Montpellier Cedex 5, France

Peu d'études spécifiques ont été réalisées sur cette tique dans la région zoogéographique éthiopienne (5). La présence de la tique au Sénégal a été rapportée par Brumpt (3) et Morel (8). Mais l'habitat d'Argas, qui est confondu avec celui des oiseaux de basse-cour, n'a pas fait l'objet d'une étude systématique. Il en est de même pour sa distribution géographique et sa variation d'abondance en fonction des saisons. En outre, les maladies transmises par cet acarien sont quasi ignorées des praticiens, faute d'investigations soutenues sur le terrain. Cet article présente des travaux qui abordent quelques aspects de l'écologie d'Argas persicus au Sénégal ainsi que les infections transmises à la volaille.

■ MATERIEL ET METHODES

Zones d'études

Le Sénégal est caractérisé par une succession de zones phytogéographiques délimitées grossièrement par le tracé des isohyètes. Ces zones, définies par Trochain (12), sont présentées ci-après, ainsi que la physionomie de leur végétation et certains traits des climats auxquels elles sont soumises.

Le domaine sahélien est composé :

- du secteur sahélo-saharien, avec une steppe contractée et une pluviométrie annuelle comprise entre 200 et 400 mm ;
- du secteur sahélo-soudanien, avec une steppe arbustive de transition et une pluviométrie annuelle comprise entre 400 et 600 mm.

Sur la façade maritime de cette zone se trouvent les Niayes, véritables reliques de la forêt guinéenne.

Le domaine soudanien est composé :

- du secteur eusoudanien ou nord soudanien, caractérisé par une savane boisée et une pluviométrie annuelle comprise entre 800 et 1 000 mm ;
- du secteur soudano-guinéen ou sud soudanien, caractérisé par une forêt claire et une savane boisée, et une pluviométrie annuelle comprise entre 1 000 et 1 200 mm ;
- du secteur nord guinéen, caractérisé par une forêt dense semi décidue et une forêt sèche dense, et une pluviométrie annuelle supérieure à 1 200 mm.

Typologie des habitats des hôtes aviaires

L'étude a consisté à caractériser les modèles de poulaillers mis au point en milieu traditionnel par les ethnies peuplant les diverses zones géographiques du pays. Le type de construction et les matériaux utilisés sont décrits.

Distribution d'Argas persicus

Des prospections ont été effectuées sur l'ensemble du territoire. L'unité utilisée pour établir la carte de distribution a été le degré-carré qui équivaut à la latitude du Sénégal à un carré de 109 km de côté. Pour plus de précision, la localisation des points de collecte a été faite au quart du degré-carré.

Variation d'abondance saisonnière

Pendant 17 mois, de juin 1995 à octobre 1996, une étude de la variation d'abondance saisonnière des populations d'Argas persicus a été effectuée dans les communautés rurales autour de Linguère en zone sahélienne caractérisée par un climat tropical sec du type sahélo-sénégalais (1), où les températures maximales sont élevées et les minimales assez basses (tableau I). Le tableau II indique la pluviométrie enregistrée au cours des années 1995 et 1996, mais les chiffres présentés ne reflètent pas la norme (365,3 mm de 1971 à 2000). La physionomie de la végétation est celle d'une pseudo-steppe arbustive ou d'une savane arbustive en période de pluviométrie normale (9, 13).

Prélèvement des tiques

Au total 50 poulets ont fait l'objet de détiqage à l'aide de pinces et 30 poulaillers ont été visités, chacun durant cinq minutes pour la collecte de tiques adultes et de nymphes cachées dans les fentes et les interstices de ces abris. Les individus récoltés ont été conservés dans de l'alcool à 70 °C contenu dans des flacons. Ces tiques ont ensuite été déterminées et dénombrées au laboratoire en précisant la stase et le sexe.

Etude des hémoparasites

Parallèlement à ces investigations, des recherches sur les hémoparasites ont été menées par confection de frottis de sang fixés au

Tableau II

Pluviométrie (mm) enregistrée à Linguère en 1995 et 1996

	Mai	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.
1995	1,3	36,4	52,7	99,6	150,8	Traces
1996	4,8	55,1	57,1	170,2	125,4	85,8

Tableau I

Températures et humidité relative enregistrées à Linguère en 1995 et 1996

Mois	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O
Année	95	95	95	95	95	95	95	96	96	96	96	96	96	96	96	96	96
Température (°C)																	
Max.	40,2	36,4	33,8	33,8	39,1	38,3	31,5	35,7	37,5	36,9	40,2	41,7	39,8	36,5	34	33,8	39,1
Min.	24,3	25,8	24,8	24,4	23,8	20,7	19,6	17,7	20,3	20,7	21,1	25	24,3	24,9	24,5	24,5	23,2
Humidité relative (%)																	
Max.	82	92	96	95	75	46	66	50	45	60	70	53	80	86	97	98	92
Min.	26	44	57	52	20	13	29	14	12	14	12	14	24	41	58	49	34

méthanol et colorés au Giemsa. Pour apprécier l'effet saison sur l'apparition des parasites du sang chez les volailles en zone sahélienne, des prélèvements ont été effectués sur 200 poulets à la fin de la saison sèche ainsi qu'à la fin de la saison des pluies.

■ RESULTATS

L'habitat traditionnel est caractérisé par une diversité architecturale et une grande variété des matériaux utilisés.

Modèle hétéroclite

Il se distingue par le caractère très sommaire de sa construction et la disparité des éléments employés (figure 1). Des briques, des planches, des morceaux de grillage usagés, des fûts coupés, des feuilles de zinc ou de rônier (*Borassus flabellifer*) peuvent en constituer l'ossature. Ce modèle est très courant en zone sahélienne et sahélo-soudanienne et n'est pas propre à une ethnie ; cependant, c'est le seul que l'on observe en milieu wolof¹.

Modèle à épineux

La charpente est constituée de tiges recouvertes d'une épaisseur de chaume sur laquelle sont déposées des branchages d'épineux (figure 2). Ce type de poulailler se trouve exclusivement chez les Peulhs nomades de la zone sahélienne ; les habitations largement ouvertes sur les steppes n'offrent aucune protection contre les prédateurs.

Modèle en végétaux tressés

La forme est généralement semi-sphérique avec un diamètre souvent inférieur à 1 m (figure 3). Au Sénégal, les espèces végétales utilisées pour le tressage de ces abris varient selon les zones écologiques. Ainsi, en zone soudanienne, le bambou [*Oxytenanthera abyssinica* (A. Rich.) Munro] est très utilisé, tandis qu'en zone soudano-sahélienne et sahélienne, l'emploi des branchages de *Guiera senegalensis* J. F. Gmelin par les populations sérères² et toucouleurs³ est plus courant. Les tiges de mil peuvent aussi entrer dans la confection de ces abris, qui sont d'ordinaire coniques dans ce cas.

Modèles en banco

Il en existe deux sortes : un modèle comparable à une case (figure 4), composé d'une partie circulaire ou cubique en argile sur laquelle repose un toit de chaume, et un modèle entièrement en argile de forme rectangulaire (non montré). Quel que soit le type considéré, les dimensions de ces habitats ne sont pas grandes (1 à 1,5 m environ). Ces modèles architecturaux se trouvent essentiellement en zone soudanienne ; ils sont une expression de la civilisation mandingue⁴.

Distribution d'*Argas persicus*

Elle a concerné toute la zone sahélienne et soudano-sahélienne, comprise entre les isohyètes 300 et 800 mm (figure 5). *Argas persicus* était très abondant dans cette zone écologique. Au-delà de

cette aire, en zone soudanienne délimitée par les isohyètes 800 et 1 200 mm, la présence de la tique a été rare et très localisée. Il en a été de même pour la région des Niayes qui est cette bande côtière de quelques dizaines de kilomètres de large située entre le Cap-Vert et Saint-Louis et qui bénéficie d'un microclimat particulier caractérisé par des températures modérées et une humidité relative assez élevée.

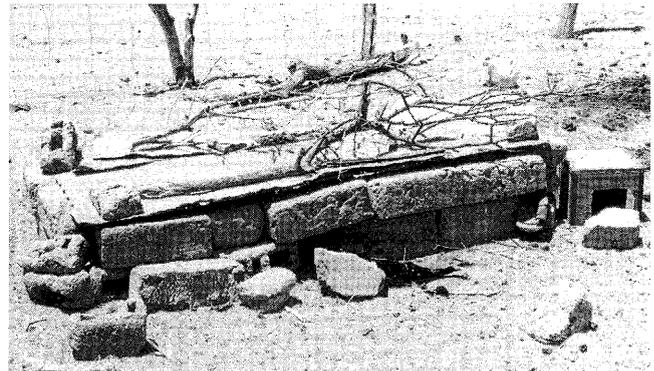


Figure 1 : le modèle hétéroclite.



Figure 2 : le modèle à épineux.



Figure 3 : les modèles en végétaux tressés.

¹ Les Wolofs : ethnie peuplant essentiellement la moitié septentrionale du Sénégal.

² Les Sérères : groupes d'ethnies occupant la partie centrale du territoire et sa façade maritime.

³ Les Toucouleurs : ethnie localisée dans la partie nord-est du pays, le long du fleuve Sénégal.

⁴ La civilisation mandingue : son influence s'étend sur la plupart des pays de l'Afrique de l'Ouest.



Figure 4 : le modèle en banco en forme de case.

Variation d'abondance saisonnière

L'infestation des poulets par les larves d'Argas a été constante durant l'année. La figure 6 montre des amas de larves chez le poulet. L'amorce de la saison des pluies, aux mois de mai et juin, a semblé cependant particulièrement favorable à la prolifération de cette stase sur les oiseaux (tableau III). Les formes libres que sont les nymphes et les imagos ont également été présentes en toute saison dans les poulaillers. A la différence des larves, l'amplitude de la variation des effectifs a été réduite (figure 7). La sex-ratio a été de 1 dans ces populations naturelles.

Etude des hémoparasites

L'examen de 200 frottis de sang réalisés à partir des poulets de la région, à la saison sèche comme à la saison des pluies, n'a pas permis d'observer des parasites chez la volaille locale.

■ DISCUSSION

L'habitat des volailles en milieu traditionnel rural est très varié dans son architecture et par la nature des matériaux mis en œuvre dans la construction. Cependant, on note des traits communs à l'ensemble des modèles de poulailler, comme leur exigüité et leur précarité. Ils offrent en outre des conditions favorables à l'installation et à la prolifération d'Argas par la présence dans leur structure de fentes et d'interstices, abris idéaux pour la tique. Ces particularités expliquent aussi l'abondance inattendue de cet acarien au sein de poulaillers dans des régions où Argas persicus est rare.

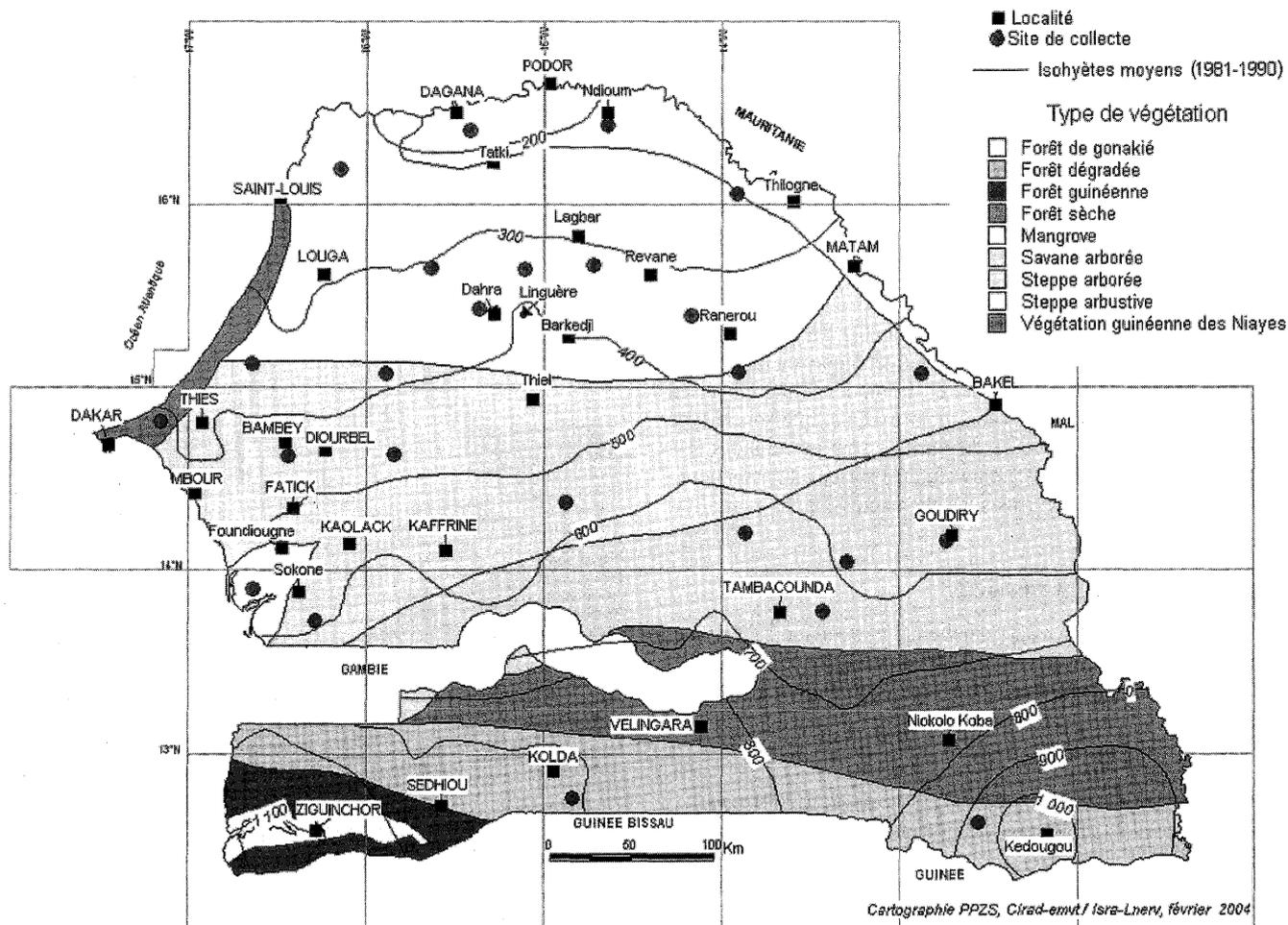


Figure 5 : distribution d'Argas persicus au Sénégal.

Tableau III

Récoltes mensuelles d'*Argas* sur poulets (L = larves)
et dans les abris (N = nymphes ; IM = imagos mâles ; IF = imagos femelles)

Mois Année	J 95	J 95	A 95	S 95	O 95	N 95	D 95	J 96	F 96	M 96	A 96	M 96	J 96	J 96	A 96	S 96	O 96
L	2 548	2 168	557	473	594	296	267	290	337	223	591	1 433	1 983	823	978	487	529
N	742	710	709	529	813	301	247	304	422	222	161	202	672	307	336	308	416
IM	363	236	192	171	378	144	175	221	113	61	110	186	175	102	146	202	214
IF	429	223	384	188	347	207	138	149	67	73	109	130	210	97	133	197	247
Sex-ratio	0,8	1	1	0,9	1	0,6	1,2	1,4	1,7	0,8	1	1,4	0,8	1	1	1	0,9



Figure 6 : amas de larves d'*Argas persicus* sur l'aile d'un poulet.

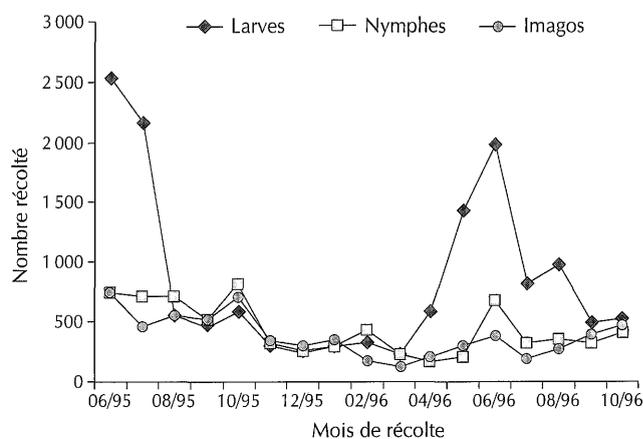


Figure 7 : variation d'abondance saisonnière d'*Argas persicus*.

La distribution de la tique concerne tous les continents et leurs écosystèmes, même ceux dont les conditions climatiques sont les plus extrêmes (5), le transport des volailles lors des voyages étant la cause principale de cette dispersion. La valence écologique élevée d'*Argas persicus* a aussi été corroborée au Sénégal par la répartition géographique de cet acarien ; la tique se trouve ici dans des zones écologiques dont les faciès sont très différents, même s'il faut signaler par ailleurs une différence parfois importante de l'abondance de leurs populations. Bien que située à la latitude de la zone sahélienne, la région côtière dite des Niayes, qui a un microclimat particulier, ne semble pas très propice à une forte présence de la tique, du moins dans les poulaillers traditionnels. Il arrive cependant que soient enregistrés dans cette région des effectifs élevés d'*Argas* dans des fermes avicoles qui disposent de bâtiments en dur (obs. pers.). Au-delà de l'isohyète 800, la tique devient rare ; sa présence a néanmoins été décrite dans des régions méridionales plus humides, en l'occurrence par Tendeiro en Guinée portugaise (10, 11).

Le suivi de l'infestation des poulets par les larves d'*Argas persicus* et l'évaluation de l'abondance du parasite dans les poulaillers ont indiqué une activité de la tique dans la basse-cour durant toute l'année. Ces observations confirment les remarques de Morel (8) sur la biologie de l'espèce, notamment sur l'importance relative de ces populations en toute saison dans les zones tropicales et subtro-

picales. Le niveau d'infestation des abris et le parasitisme des volatiles devenaient quelquefois si préoccupants que les paysans faisaient usage du feu pour se débarrasser de ces poulaillers. En Afrique centrale aussi il est courant de voir les populations lutter contre ces fortes infestations en stérilisant les poulaillers en banco par le feu (7). Les mortalités et les anémies dues aux *Argas* sont bien connues de ces éleveurs.

L'examen des frottis de sang de poulets élevés en zone rurale n'a pas révélé la présence d'hétoparasites. En revanche, des mortalités importantes dues à *Borrelia anserina*, agent de la spirochétose aviaire, ont été enregistrées dans des fermes avicoles de la région des Niayes à Bambylor et en zone sahélienne à Bambey (obs. pers.). La répartition géographique de cette maladie concerne tous les continents, et particulièrement les régions tropicales et subtropicales. Les systèmes d'élevage extensifs sont les plus affectés, selon Barnes (2). Au Sénégal, d'après les observations faites sur le terrain, tout se passe comme si les souches de volaille exotiques moins rustiques et plus sensibles étaient les révélatrices de l'existence de l'infection. Les poulets autochtones bénéficient probablement d'une immunité active résultant d'une exposition précoce à l'agent infectieux transmis par *Argas* et d'une immunité passive transférée auparavant par les mères, comme l'indique Barnes (2) pour ce qui concerne les volailles élevées dans les régions de forte endémicité.

■ CONCLUSION

Argas persicus est présent chez les volailles dans la plupart des zones écologiques du Sénégal ; les zones sèches constituent l'habitat de prédilection de l'espèce. Les hémoparasites transmis par cette espèce sont très peu visibles chez la volaille locale, alors qu'ils s'expriment avec beaucoup de virulence chez les souches aviaires sélectionnées vivant à proximité de leurs congénères issus de l'aviculture traditionnelle. Les poulets indigènes et les tiques constituent certainement dans ce contexte épidémiologique les réservoirs de ces pathogènes.

BIBLIOGRAPHIE

1. AUBREVILLE A., 1949. Climats, forêts et désertification de l'Afrique tropicale. Paris, France, Sociétés d'éditions géographiques maritimes et coloniales, 351 p.
2. BARNES H.J., 1997. Spirochetosis (Borreliosis). In: Calnek B.W. Ed., Diseases of poultry, 10th. Edn. St. Louis, MO, USA, Mosby-Wolf, p. 318-324
3. BRUMPT E.J.A., 1909. Sur une nouvelle spirochétose des poules du Sénégal produite par *Spirochaeta neveuxi* n. sp. *Bull. Soc. Pathol. exot.*, 2 : 285-289.
4. GUEYE E.F., 1999. Ethnoveterinary medicine against poultry diseases in African villages. *World Poult. Sci. J.*, 55: 187-198.

Summary

Guèye A., Sylla M., Diouf A., Touré I., Camicas J.L. Distribution and Seasonal Variations of *Argas persicus* in Senegal

This study reports on the habitat, distribution and seasonal abundance variations of *Argas persicus* (Oken, 1818) in Senegal. Traditional fowl houses – habitat of this tick species – were characterized in rural areas and various models were described: the bits-and-pieces model, thorn-branches model, weaved-plants models, and clay-made models. The distribution based on the square-degree scale indicated that the presence and abundance of *Argas persicus* mainly concerned the northern half of the country, whereas it was rare in the southern part. The seasonal variation of ticks was monitored for 17 months in the Sahelian zone. Tick removing and collecting from 50 fowls were performed every month for five minutes in each of the 30 fowl houses. They showed an all year round activity of *Argas persicus*. Examination of 200 blood smears in indigenous fowls, during the dry as well as the rainy seasons, did not indicate the presence of blood parasites. However, modern poultry production units located in the same areas were faced with epizootics of avian spirochetosis.

Key words: Chicken – *Argas persicus* – Poultry house – Borreliosis – Senegal.

5. HOOGSTRAAL H., 1956. African Ixodidae. Vol. I: Ticks of the Sudan (with special reference to Equatorial province and with preliminary reviews of the genera *Boophilus*, *Margaropus*, and *Hyalomma*). Cairo, Egypt, US Naval Medical Research, Unit No 3, 1101 p.
6. Ministère de l'Élevage du Sénégal, 1998. Plan d'action de l'élevage. Dakar, Sénégal, ministère de l'Élevage, 58 p.
7. MOPATE L.Y., HENDRIKX P., IMADINE M., 1997. Contraintes sanitaires des poulets dans la région du centre-est du Tchad. In: Proc. INFPD Workshop, Mbour, Senegal, 9-13 Dec. 1997, p. 89-95.
8. MOREL P.C., 1976. Etude sur les tiques d'Ethiopie (acariens, ixodidés). Paris, Maisons-Alfort, Iemvt, 326 p.
9. MOSNIER M., 1967. Les pâturages naturels de la région de Gallayel (République du Sénégal). Maisons-Alfort, France, Iemvt, 137 p. (Etude agrostologique n° 18)
10. TENDEIRO J., 1951. Actualidade veterinaria da Guiné Portuguesa. Guiné-Bissau, Centro de Estudos da Guiné Portuguesa, 213 p. (N° 15)
11. TENDEIRO J., 1952. Febre Q. Guiné-Bissau, Centro de Estudos da Guiné Portuguesa, 337 p. (N° 16)
12. TROCHAIN J.L., 1970. Les territoires phytogéographiques de l'Afrique noire francophone d'après la trilogie : climat, flore, végétation. *CR Séances Soc. Biogéogr.*, n° 395-403 : 139-157.
13. VALENZA J., DIALLO A.K., 1972. Etude des pâturages naturels du Nord Sénégal. Maisons-Alfort, France, Gerdat-Iemvt, 311 p.

Reçu le 13.01.2004, accepté le 24.08.2004

Resumen

Guèye A., Sylla M., Diouf A., Touré I., Camicas J.L. Distribución y variaciones en abundancia según las estaciones de *Argas persicus* en Senegal

Los autores presentan los resultados de un estudio sobre el hábitat, la distribución y la variación en la abundancia según las estaciones de *Argas persicus* (Oken, 1818) en Senegal. La tipología de los gallineros en medio tradicional, albergues de garrapatas, fue realizada con este fin; se describen varios modelos: el modelo heteróclito, el modelo espinoso, los modelos en vegetales trenzados y los modelos en banco. La distribución establecida a la escala de un grado al cuadrado mostró una presencia y una abundancia de esta especie de *Argas* esencialmente en la mitad septentrional del país, mientras que fue rara en la parte meridional. La variación de la abundancia estacional fue objeto de un seguimiento durante 17 meses en la zona sahariana. Se eliminaron las garrapatas en 50 pollos y la colecta mensual de garrapatas en 30 gallineros durante cinco minutos para cada uno de estos albergues indicaron una actividad de *Argas persicus* en los gallineros durante todo el año. El examen de 200 frotis de sangre, realizados tanto durante la estación seca, así como la estación lluviosa, en pollos autóctonos criados en zona rural, no permitió la observación de hemoparásitos. Sin embargo, las fincas avícolas modernas, implantadas en estos mismos medios, conocen epizootias de espiroqueta aviar.

Palabras clave: Pollo – *Argas persicus* – Alojamiento para aves – Borreliosis – Senegal.

Distribution of Gill Parasites of the Freshwater Fish *Barbus martorelli* Roman, 1971 (Teleostei: Cyprinidae) and Tendency to Inverse Intensity Evolution Between Myxosporidia and Monogenea as a function of the Host Age

J. Tombi¹ C.F. Bilong Bilong^{1*}

Key words

Barbus martorelli – Myxosporidia – Monogenea – Gills – Morbidity – Cameroon.

Summary

The study of gill parasite fauna from 558 *Barbus martorelli* in a tropical freshwater course near Yaounde (Cameroon) was undertaken to collect data on the distribution of pathogens in a wild population, which is essential to find means of avoiding catastrophic losses often observed in intensive aquaculture. The analysis revealed the presence of two myxosporidian species (*Myxobolus barbi* and *M. njinei*) and eight monogenean species (*Dactylogyrus bopeleti*, *D. insolitus*, *D. simplex*, *D. maillardi*, *Dogielius martorellii*, *Dogielius* sp., one species of Gyrodactylidae and one larva of Polystomatidae). Four individual fish were found without parasites, whereas 24 and 530 presented monospecific and multispecific infections, respectively. Each infested host harbored an average of four parasite species. As the prevalence and mean intensity reduced with the host size for protozoans, the reverse phenomenon was observed for helminths. A sexual effect was observed on the infestation of *B. martorelli* by the myxosporidian *M. njinei* and by most monogenean species; females were thus more infested than males due to the biology of gravid specimens. Finally, the high parasite species richness appeared to reduce the host weight.

■ INTRODUCTION

Several million people in Africa depend on fish for their livelihood: from fishing, processing, transporting, to retailing. Fish represents a very important food source for low-income populations for whom it is often the only source of protein, particularly in towns where large scale animal husbandry is rare. The African mean consumption is approximately 5.5 to 8.5 kg of fish/person/year (7). But the high incidence of fish diseases

remains a major constraint on successful economic development of this activity. Ectoparasites such as gill myxosporidians and monogeneans figure among parameters which are involved in fish diseases. From a pathological point of view, Gyrodactylidae and Dactylogyridae are the main monogeneans that cause severe gill lesions; Myxosporidia cause destruction and necrosis of much of the tissue, leading to hemorrhage and anemia (21). According to Sindermann (33), Myxozoa constitute one of the two phyla that can have the most severe effects on fish hosts. Apart from their respiratory function, the gills are responsible for regulating the exchange of salt and water, and play a major role in the excretion of nitrogenous waste products. Even a slight structural damage could render a fish very vulnerable to osmoregulatory as well as respiratory difficulties (9). The present study dealt with some biological aspects of the gill parasite fauna of *Barbus martorelli*

1. Laboratory of General Biology, Faculty of Science, University of Yaounde I, PO Box 812, Yaounde, Cameroon

* Corresponding Author

Tel: +237 998 65 45

E-mail: bilong_bilong@yahoo.com

Roman, 1971 (Teleostei: Cyprinidae) with the aim to define in the host population concerned the distribution of pathogens (myxosporidians and monogeneans) as a function of the fish sex and size (age). In fact, the gills of *Barbus martorelli* constitute a biotope for several parasite species. Birgi and Lambert (5) and Fomena et al. (11) described for this host five monogenean species (*Dactylogyrus bopeleti*, *D. insolitus*, *D. simplex*, *D. maillardi* and *Dogielius martorellii*) and two myxosporidian species (*Myxobolus barbi* and *M. njinei*), respectively. These authors laid emphasis on the taxonomic aspect with little or no biology (the distribution and possible interactions) of these pathogens. Yet, Gregory and Keymer (14) stressed that "no animal species exists in isolation". Similarly, Barbault (2) indicated that considering only specific richness is an insufficient precise measure of the quantitative composition of a community. He then proposed a community pluralist approach, which implies – apart from the determination of specific richness – taking into account the biology of the species concerned. This research was carried out in view of minimizing the different problems that these pathogens could cause in a fish breeding pond.

■ MATERIALS AND METHODS

B. martorelli is one of the common fish species in Southern Cameroon (36). Highly consumed by rural human populations in this part of the nation, it thus constitutes one of the animal protein sources. It also happened to represent the dominant ichthyological species in the samples of the study. Specimens were caught from February 1998 to August 1999 using a 1 cm by 1 cm mesh gillnet in the Foulou watercourse in Nkolfoulou locality, i.e. in the outskirts of Yaounde, capital of the Republic of Cameroon. In this site, the bottom of the river is sandy and rocky; during the sampling period the depth varied from 0.5 to 1.5 m with an average width of 5 m. The vegetation is made up of mosaic savannah-forest, mesophyllitic forests and preforest savannahs of tall herbs (34). Except in February and March 1998, two samples were collected monthly and an effort was made to obtain a minimum of 30 fish per month. After the catch, the host and their parasites were immediately fixed in 10% formalin. At the laboratory, the size of each specimen was measured and its sex determined. The gills from both sides were dissected and examined with a stereo-microscope. Myxosporidian cysts, present on the filaments or on the bony arch, were counted. The monogeneans were collected and mounted on slides in a drop of hematoxylin (eosin). The different species were identified using a microscope: magnification x 40 and x 100 for Monogenea and Myxosporidia, respectively. All individual hosts were grouped in seven different length classes at 10 mm amplitude. The standard length (SL) hereby corresponds to the length from the extremity of the muzzle to the last vertebra. The prevalence, intensity (I) and mean intensity (Im) of parasites were defined according to Margolis et al. (19). On the prevalence basis and according to Valtonen et al. (35), the parasite species were termed common (prevalence > 50%), intermediate (10 ≤ prevalence ≤ 50%), and rare (prevalence < 10%). These categories may correspond to what other authors such as Hanski in Koskivaara and Valtonen (16) designated as core, secondary, or satellite species, respectively. Considering the intensity, the classification adopted was that of Bilong Bilong and Njiné (4): I < 10 = very low; 10 < I ≤ 50 = low; 50 < I ≤ 100 = medium; I > 100 = high. The χ^2 test was used to compare prevalences, while the Mann Whitney (U) and Kruskal Wallis (K) tests permitted to compare two and more than two mean intensities, respectively. Except for any subsequent indications, the degree of security retained here was 95%, i.e. P < 0.05.

■ RESULTS

A total of 558 *B. martorelli* individuals were caught at a female-to-male sex ratio of 0.9. From the overall sample, two species of Myxosporidia (*Myxobolus barbi* and *M. njinei*), and eight of Monogenea (*Dactylogyrus bopeleti*, *D. insolitus*, *D. simplex*, *D. maillardi*, *Dogielius martorellii*, *Dogielius* sp., polystomatid larva and *Gyrodactylus* sp.) were collected (Table I). *D. bopeleti*, *D. insolitus*, *D. simplex* and *M. barbi* were common, *D. maillardi*, *M. njinei* intermediate, and *Dogielius* sp., *Do. martorellii*, *Gyrodactylus* sp. and the polystomatid larva rather rare (Table I). It was noted that no mature polystomatid parasite was found on *B. martorelli*. Of the 46,056 myxosporidian cysts observed on the different individual hosts, 97.28% were those of *M. barbi* alone. The percentage distribution of 8840 collected worms was as follows: 32.56% *D. bopeleti*, 32.67% *D. insolitus*, 27.68% *D. simplex*, 5.49% *D. maillardi*, 0.7% *Dogielius* sp., 0.02% *Do. martorellii*, 0.49% Gyrodactylidae, 0.4% Polystomatidae. Globally, the mean intensities of the different parasite species were very low except for *M. barbi*, one of the common (or core) species (Table I). In Nkolfoulou host population, all core and intermediate species presented an aggregate distribution ($s^2 > Im$), while the rare ones were dispersed ($s^2 < Im$). In the total host sample, only four specimens were uninfected and 24 others presented a monospecific infection: 23 by core species (*D. bopeleti*, *D. insolitus*, *D. simplex* and *M. barbi*) and 1 by an intermediate species (*D. maillardi*). The remaining 530 fish presented each a multispecific infection (from 2 to 8 parasite species). The overall average number of parasite species per host was about 4 (3.98 ± 1.32) (Figure 1).

It should be noted that the rare species were hereafter excluded from the analysis for their rare occurrence and very low intensities. Concerning the prevalence, only *D. bopeleti* and *D. insolitus* were evenly distributed throughout the length classes (Figure 2: a and b) ($\chi^2 = 3.21$ and 8.68, respectively; df = 6). Moreover, the protozoan prevalences decreased progressively with the host size (Figure 2: e and f), while the reverse phenomenon was observed for helminths (Figure 2: a through d).

The mean intensity of infection by monogeneans and protozoans remained very low for all the length classes, except for *M. barbi*

Table I

Data on *Barbus martorelli* infection during the study period

Parasite species	Prevalence (%)	Im (σ) minV – maxV
Protozoa		
<i>Myxobolus barbi</i> ***	79.03	101.63 (211.73) 1 – 1613
<i>M. njinei</i> **	27.70	8.49 (10.76) 1 – 65
Helminths		
<i>Dactylogyrus bopeleti</i> ***	80.64	6.42 (5.38) 1 – 32
<i>D. insolitus</i> ***	84.41	6.15 (5.01) 1 – 32
<i>D. simplex</i> ***	70.79	6.28 (7.71) 1 – 62
<i>D. maillardi</i> **	33.15	2.60 (2.30) 1 – 20
<i>Dogielius</i> sp.*	9.32	1 (0) 1
<i>Do. martorellii</i> *	0.36	1.18 (0.32) 1 – 2
Polystomatidae (larva)*	5.91	1.06 (0.24) 1 – 2
Gyrodactylidae*	5.55	1.37 (0.75) 1 – 4

Im: mean intensity; σ : standard deviation; minV: minimum value; maxV: maximum value

***, **, *: common, intermediate, and rare species, respectively

for which the mean intensity appeared to be high for relatively shorter individual hosts, i.e. when the host size (SL) was lesser than 8 cm, and it was low when $8 \leq SL < 10$ cm, and very low when $SL > 10$ cm (Figure 3: a through f). In addition, it was noted that *M. barbi* and *M. njinei* each formed cysts on the gill filaments and on the host arch bones, respectively. Concerning gill filament pathogens at the parasite phylum level, the average total number of helminths increased with the host size (Kruskal Wallis statistics $K = 14.26$; $df = 6$) and was associated with a progressive decrease in the number of protozoan cysts ($K = 29.41$; $df = 6$) (Figure 4).

A striking feature of this work was the different behavior of both protozoans and helminths in the colonization of the gill biotope and as a function of the host size. The parasitism of *B. martorelli* by myxosporidians appeared sex dependent only for *M. njinei*, significantly more prevalent in females than in males ($\chi^2 = 56.00$). Concerning monogeneans, the infection rates of *B. martorelli* revealed differences between sexes only for *D. bopeleti* and *D. insolitus* ($\chi^2 = 11.62$ and 15.13 , respectively). Although the mean infection intensity was generally very low, it appeared [except for *D. insolitus* (148.5 ; $P = 0.180$)] significantly greater in females.

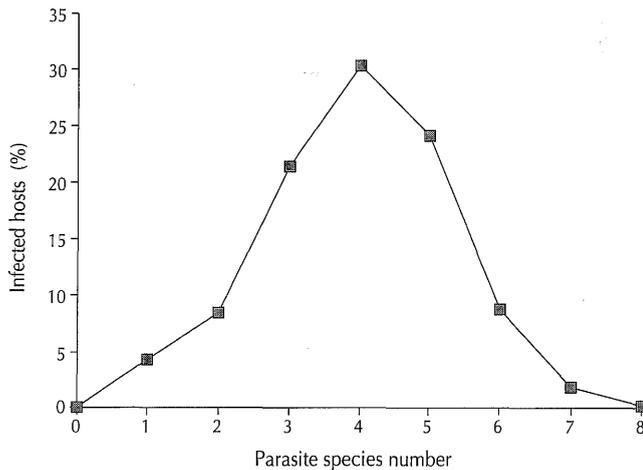


Figure 1: Relative proportion (%) of infected hosts as a function of parasite species number in Foulou.

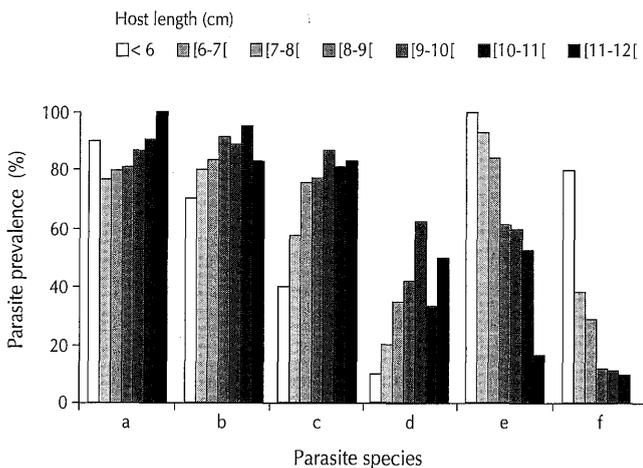


Figure 2: Prevalence (%) of parasite infections of *Barbus martorelli* gills from Foulou as a function of host length classes; a: *Dactylogyrus bopeleti*; b: *D. insolitus*; c: *D. simplex*; d: *D. maillardi*; e: *Myxobolus barbi*; f: *M. njinei*.

Host length (cm)
 □ < 6 ▨ [6-7[▩ [7-8[▪ [8-9[▣ [9-10[▤ [10-11[▥ [11-12[

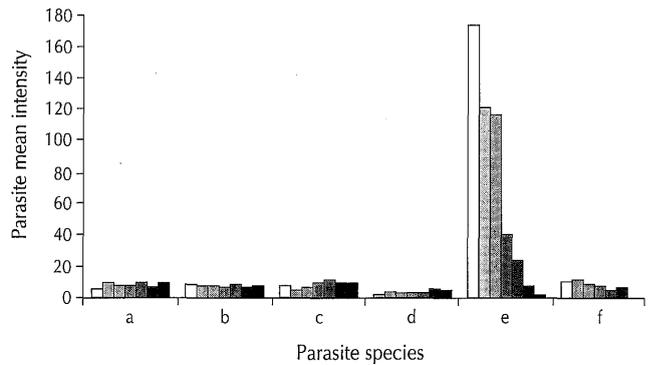


Figure 3: Mean intensity as a function of the host length classes; a: *Dactylogyrus bopeleti*; b: *D. insolitus*; c: *D. simplex*; d: *D. maillardi*; e: *Myxobolus barbi*; f: *M. njinei*.

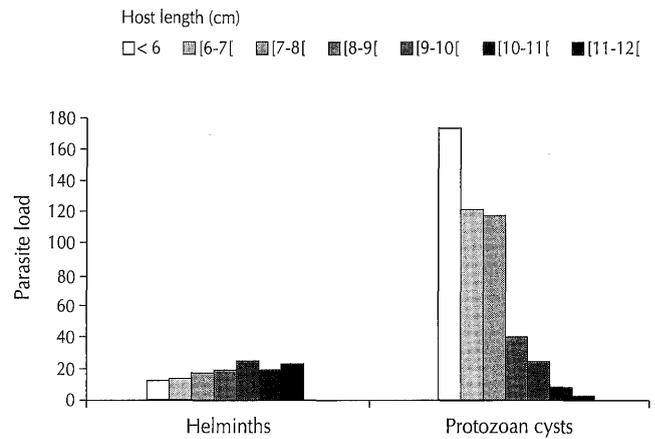


Figure 4: Average total number of helminth and protozoan cysts of the host gill filaments as a function of host length classes.

DISCUSSION

B. martorelli gill parasite fauna was diversified and composed, on the one hand, of two myxosporidian species of the genus *Myxobolus* Bütschli, 1882, and, on the other hand, of eight monogenean species belonging to three families: Dactylogyridae with two genera (*Dactylogyrus* Diesing, 1850 and *Dogielius* Bychowski, 1936), Gyrodactylidae, and Polystomatidae (larva stage). The simultaneous infections by several congeneric species already observed for Dactylogyridae by Birgi and Lambert (5), and for Myxosporidia by Fomena et al. (11), were hereby confirmed. In this component community, there was often an association between any parasite species of either helminth or protozoan with any other protozoan or helminth. It is worth noting that a detailed analysis of the parasite community structure is in the making; nevertheless, some authors like Koskivaara and Valtonen (17) have already reported on the coexistence of three congeneric monogenean species, with one glochidia, one copepod, and one protozoan on the roach *Rutilus rutilus*. Adams (1) also found out that a correlation existed between two monogenean species and

Myxosporidia on the *Fundulus kansae* gills. In Central Finland, Koskivaara et al. (18) reported that Dactylogyridae are common monogenean parasites, which are usually numerous and have a high species density on the gills of cyprinid fishes. In the present study carried out in a tropical zone, the prevalences of *Dactylogyrus* species on *B. martorelli* gills were also high, except for *D. maillardi* (an intermediate species) and for the other rare monogenean species (including some Dactylogyridae). The mean intensities of all helminths remained very low and this could be partly due to the water current velocity. Other parasite community intrinsic or extrinsic factors may change or affect the parasite shelter. Ergens (10) argued that the degree of infection depends on the conditions and density of the hosts; the current is often evoked as a factor limiting the recruitment of infective larva stages, thus reducing the intensity of parasitism (31). In Israel, Paperna (29) also reported that the rate of infection (mainly with ectoparasites) was high in the lake of Galilea, in small water reservoirs, as well as in fish ponds, while fishes in swiftly flowing streams were found to be either free of infection or only slightly infested. According to Gerassev and Staravoitov (13), the water current might have a double effect on monogeneans: it brings their infective larvae on the hosts or it helps these latter get rid of them (infective larvae and mature individuals). Obiekezie (22) also noted that in wild fishes, monogeneans occurred at low intensities and in apparent equilibrium with their hosts, whereas under cultured conditions (in which fishes are concentrated more than they are in nature) these pathogens build up heavy worm burdens which provoke epizootics. Comparatively, in an oligotrophic water course, Bilong Bilong (3) found out that all monogenean species of the *Hemichromis fasciatus* gills were common and occurred in very low mean intensities. While in an eutrophic lake all these parasites remained common except one (*Cichlidogyrus dageti*), which disappeared; their mean intensities also remained very low for all but one (*Onchobdella voltensis*), whose infrapopulations increased slightly (4). These findings tend to illustrate the fact that host confinement may change the parasite status. In the present paper, the *B. martorelli* gill monogeneans from an oligotrophic river revealed to be either common (prevalence > 50%), intermediate ($10 \leq$ prevalence \leq 50%) or rare (prevalence < 10%), whereas their mean intensities were very low (< 10).

In simultaneous infections of *B. martorelli* by protozoans, *M. barbi* was the core species parasitizing its host with a high mean intensity, while *M. njinei* appeared to be an intermediate pathogen species with a very low mean intensity. These data are quite similar to those of Fomena et al. (11), but on a different host sample. These authors were only interested in single prevalences and found 54.68 and 25% of *B. martorelli* parasitized by *M. barbi* and *M. njinei*, respectively.

It has been shown that the average number of cysts decreased while the SL of the host increased. Similar results were obtained in Nigeria by Obiekezie and Enyenihi (23), who pointed out a high prevalence and a high mean intensity of *Henneguya chrysichthysi* in the juveniles of *Chrysichthys nigrodigitatus*. As observed by the previously mentioned authors, the present study confirmed the fact that high rates of infection (and probably high intensities) seem to characterize the parasitism of young teleosts by gill Myxosporidia. In fact, the rapid growth of gill epithelium in this age group favors the development of myxosporidian plasmodia (20). Conversely, low prevalences and low mean intensities of these myxosporidian infections observed in large size hosts could partly be justified by the rupture of old age cysts. In Melen fish pond station (Cameroon), Fomena (12) also frequently observed that old cysts on the *Oreochromis niloticus* gill filaments were split open but without spores. Dykova and Lom in Obiekezie and

Enyenihi (23) argued that elevated ambient temperatures enhancing the immunological response of fish could lead to the destruction of *Henneguya* cysts; whether this applies to *M. barbi* and *M. njinei* in Foulou, where temperatures on the average are below 23°C, is questionable. This work had already shown that the average total helminth load increased with the host size. As a matter of fact, it is likely that the rupture of myxosporidian cysts should also be consecutive to perforations due to monogenean hooks.

The difference in infections of male and female hosts by *M. njinei*, whose cysts seemed not affected by monogenean hooks, could be explained by the host biology. An explanation could be that this myxosporidian species is present on gill arches, whereas worms are present on gill filaments, as observed during the study. In this field study, female *B. martorelli*, in the spawning period (females in gravid stage), formed shoals (of about 10 individuals) and sheltered in small rocky cavities becoming readily accessible to parasites in the actinosporean stage. Kent et al. (15) called to mind that an important discovery in the 1980s, i.e. the life cycle of *Myxobolus cerebralis* requires development of an actinosporean stage in the oligochaete *Tubifex tubifex*, led to the elucidation of the life cycles of several other myxozoans. Furthermore, according to these authors it is admitted that in the course of this cycle, the actinospore attaches to the surface of the fish and injects its sporoplasm, while the fully developed myxospores released from the fish host are ingested by annelids. But the direct fish-to-fish transmission without the requirement of alternate actinosporean development may occur in some species. In comparison, Fomena (12) observed no sex influence on the infestation of *O. niloticus* gill filaments by the different myxosporidian species.

Rohde (30) stated that only in a few cases preference for one sex of host by monogeneans has been demonstrated. In this work, the gravid female sedentary lifestyle and the high host population density also optimized the monogenean infective larva recruitment. Similar behavior observed in a temperate zone during the spawning period of the seabass (*Dicentrarchus labrax*) justified the highest infection intensities of diplectanids on female fishes (31, 32). In the tropical area (Cameroon) no behavioral difference has been noticed between males and females of *Hemichromis fasciatus* (8), for which Bilong Bilong (3) found no sexual preference by these host gill monogeneans.

B. martorelli parasitism displayed a reduction or disappearance of gill epithelium as well as faded filaments and was partly or fully covered with cysts. Inevitably, this caused breathing problems and the host became unfit due to a high parasite load. In this work, some fish specimens were infected by up to 1600 *M. barbi* cysts. Fomena et al. (11) showed that *M. barbi* cysts are often ovoid and spherical and located in secondary gill strips, as observed in this study.

Dactylogyridae monogeneans and, more rarely, Gyrodactylidae and polystomatid parasites were also found in the gills of *B. martorelli*. Gyrodactylidae are fairly common on African fishes (27). They are able to reproduce extremely rapidly if conditions are favorable; their occurrence is epizootic, in a cultured fish population, and is generally a sign of poor husbandry conditions (21). Physical and chemical parameters showed that Foulou water is oligotrophic, meaning that pollution is insignificant (Dr Kengne, pers. commun.); also, the host density was often apparently not high, except in the spawning period. These two factors combined could explain the limited occurrence of gyrodactylids in this study. Moreover, Needham and Wotten (21) noticed that dactylogyrids could be dangerous for hosts, especially for young fishes, even under low intensities. The lethal and sublethal effects of pathogens

(myxozoans, monogeneans, etc.) is well documented (15, 22, 24–28, 30). Rohde (30) sums up the importance of fish parasites as follows: they may reduce population numbers by causing mortalities and sometimes mass mortalities, they may affect the reproductive organs and reduce the number of offsprings and thus the population size, and they may reduce the weight of fish. Combes (6) also stressed that the pathogenic effect is rarely caused by one parasite species. It was hereby shown that *B. martorelli* monogenean community was made up of six species of Dactylogyridae; taking into account all parasite species (protozoa and helminths), infracommunity sizes could be considerable and the sum of pathogenic effects so important that it could cause cases of morbidity or mortality even in a natural environment. In this study, the weight of hosts which harbored less than four parasite species increased as a function of the standard length, while this increase was slightly obvious in fish infested by more than three parasite species (Figure 5).

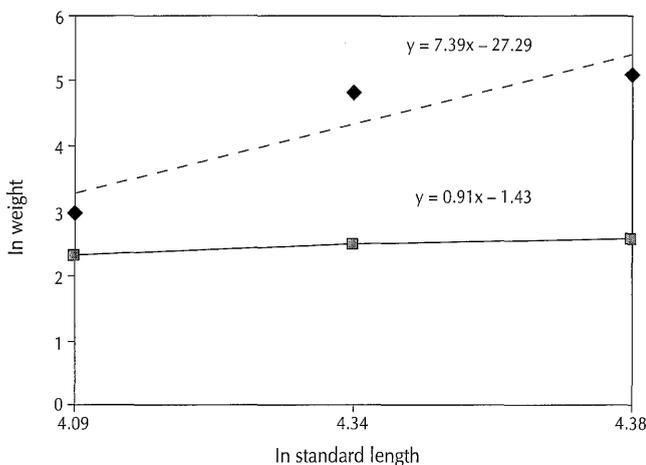


Figure 5: Weight logarithm as a function of standard length logarithm for non infected fish and fish infected by 1 to 3 parasites species ($y = 7.39x - 27.29$), and fish infected by more than 3 parasites species ($y = 0.91x - 1.43$).

CONCLUSION

Owing to the danger these parasites represent to such an important food resource that are fishes in Africa, one can quote these words from Obiekezie et al. (25): "There is no reason to doubt that the same diseases will occur when *B. martorelli* will be kept in culture, probably at still higher prevalences (and intensities) due to dense stocking. An understanding of the causes of temporarily high disease prevalences in the natural stock is essential in order to find ways of avoiding catastrophic losses in planned intensive aquaculture". In this work, it was found that even in a natural environment, the accumulation of many pathogen species in *B. martorelli* was associated with the specimen weight reduction. This fish juveniles were more infected by myxosporeans than by monogeneans. In a culture situation (this teleostean fish has recently been observed in two rural fish ponds in Mandoumba and Mom II villages), cementing the hatching basins, on the one hand, could diminish oligochaete biomass; these organisms are actually considered as reservoirs of actinospores which infect fish hosts. On the other hand, washing the basins periodically could reduce helminth eggs and infective larvae (*Onchomiracidia*).

Acknowledgments

The authors thank Dr E. Biye from the Department of Plant Biology for his technical assistance.

REFERENCES

- ADAMS A.M., 1986. The parasite community on the gills of *Fundulus kansae* (Garman) from the South Platte River, Nebraska (USA). *Acta Parasit. Polonica*, **31**: 47-54.
- BARBAULT R., 1992. *Ecologie des peuplements. Structure, dynamique et évolution*. Paris, France, Masson, 273 p.
- BILONG BILONG C.F., 1995. Les monogènes parasites des poissons d'eau douce du Cameroun : biodiversité et spécificité ; biologie des populations inféodées à *Hemichromis fasciatus*. Thèse Doct., université de Yaoundé I, Yaoundé, Cameroun, 341 p.
- BILONG BILONG C.F., NJINE T., 1998. Dynamique de populations de trois monogènes parasites d'*Hemichromis fasciatus* Peters, 1858 dans le lac municipal de Yaoundé, et intérêt possible en pisciculture intensive. *Ann. Fac. Sci. Univ. Yaoundé I, Sér. Sci. Nat. Vie*, **34** : 295-303.
- BIRGI E., LAMBERT A., 1987. Les Dactylogyridae (plathelminthes, Monogenea) des Cyprinidae du genre *Barbus* du Sud Cameroun. *Revue Hydrobiol. trop.*, **20** : 37-48.
- COMBES C., 1995. *Interactions durables. Ecologie et évolution du parasitisme*. Paris, France, Masson., 524 p. (Coll. d'écologie, n° 26)
- Conserver et transformer le poisson, 1993. Paris, France, ministère de la Coopération/Gret, 286 p. (Coll. Le point sur)
- DAGET J., ILTIS A., 1965. Poissons de Côte d'Ivoire (eaux douces et saumâtres). Dakar, Sénégal, Institut français d'Afrique noire, p. 385. (Mémoire n° 74)
- ELLIS A.E., ROBERTS R.J., TYTLER P., 1978. The anatomy and physiology of teleosts. In: Roberts R.J. Ed., *Fish pathology*. London, UK, Baillière Tindall, p. 13-54.
- ERGENS R., 1983. A survey of the results of studies on *Gyrodactylus katharineri* Malmberg, 1964 (Gyrodactylidae: Monogenea). *Folia Parasit.*, **30**: 319-327.
- FOMENA A., BIRGI E., BOUIX G., 1989. Contribution à l'étude des myxosporidies des poissons d'eau douce du Cameroun. II. Espèces nouvelles du genre *Myxobolus*. *Bull. IFAN*, **46**: 167-192.
- FOMENA A., 1995. Les myxosporidies et microsporidies des poissons d'eau douce du Sud-Cameroun ; étude faunistique, ultrastructure et biologie. Thèse Doct., université de Yaoundé I, Yaoundé, Cameroun, 397 p.
- GERASEV P.I., STARAVOITOV V.K., 1988. Distribution of *Ancyrocephalus paradoxus* (Monogenea) on gills of adult pike perch *Stizostedion lucioperca* in the Courish Bay. *Proc. zool. Inst. Leningrad*, **177**: 89-98.
- GREGORY R.D., KEYMER A.E., 1989. The ecology of host parasite interactions. *Sci. Prog. Oxf.*, **73**: 67-80.
- KENT M.L., ANDREE K.B., BARTHOLOMEW J.L., EL-MATBOULI M., DESSER S.S., DEVLIN R.H., FEIST S.W., HEDRICK R.P., HOFFMANN R.W., KHATTRA J., HALLETT S.L., LESTER R.J.G., LONGSHAW M., PALENZEULA O., SIDDALL M.E., XIAO C., 2001. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. *J. Eukaryot. Microbiol.*, **48**: 395-413.
- KOSKIVAARA M., VALTONEN E.T., 1991. *Paradiplozoon homoion* (Monogenea) and some other gill parasites on roach *Rutilus rutilus* in Finland. *Aqua Fenn.*, **21**: 137-143.
- KOSKIVAARA M., VALTONEN E.T., 1992. *Dactylogyrus* (Monogenea) communities on the gills of roach in three lakes in Central Finland. *Parasitologia*, **104**: 263-272.
- KOSKIVAARA M., VALTONEN E.T., PROST M., 1991. Dactylogyrids on the gills of roach in Central Finland: features of infection and species composition. *Int. J. Parasitol.*, **21**: 565-572.
- MARGOLIS L., ESH G.W., HOLMES J.C., KURIS A.M., SCHAD G.A., 1982. The use of ecological terms in parasitology. Report of an ad hoc committee of the American Society of Parasitologists. *J. Parasitol.*, **68**: 131-133.

20. MCCRAREN J.P., LANDOLT M.L., HOFFMAN G.L., MEYER F.P., 1975. Variation in response of channel catfish to *Henneguya* sp. infections (Protozoa: Myxosporidea). *J. Wild. Dis.*, **11**: 2-7.
21. NEEDHAM T., WOOTTEN R., 1978. The parasitology of teleosts. In: Roberts R.J. Ed., Fish pathology. London, UK, Baillière Tindall, p. 144-182.
22. OBIKEZIE A.I., 1991. The principal pathogens and diseases of cultured fishes in Nigeria. In: Workshop on Research in Aquaculture, Harare, Zimbabwe, 23-27 January 1991, p. 197-207.
23. OBIKEZIE A.I., ENYENIHI U.K., 1988. *Henneguya chrysiichthy* sp. Nov. (Protozoa: Myxozoa) from the gills of estuarine catfish *Chrysiichthys nigrodigitatus* (Lacepède) (Pisces: Bagridae) in Nigeria. *Rev. Zool. J. Af.*, **102**: 33-42.
24. OBIKEZIE A.I., MOLLER H., ANDERS K., 1987. *Kudoa* sp. infection in the musculature of wild tongue sole, *Cynoglossus senegalensis* (Kaup, 1858) from the coast of West Africa. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **7**: 38.
25. OBIKEZIE A.I., MOLLER H., ANDERS K., 1988. Diseases of the African estuarine catfish *Chrysiichthys nigrodigitatus* (Lacepède) from the Cross River estuary, Nigeria. *J. Fish Biol.*, **32**: 207-221.
26. OBIKEZIE A.I., OKAEME A.N., 1990. Myxosporidia (Protozoa) infections of cultured tilapias in Nigeria. *J. Afr. Zool.*, **104**: 77-91.
27. OBIKEZIE A.I., TAEGER M., 1991. Mortalities in hatchery-reared fry of the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell) caused by *Gyrodactylus groschafti* Ergens, 1973. *Bull. Eur. Fish. Pathol.*, **11**: 82-85.
28. OGAWA K., 2002. Impacts of diclidophorid monogenean infections on fisheries in Japan. *Int. J. Parasitol.*, **32**: 373-380.
29. PAPERNA I., 1964. The metazoan parasite fauna of Israel Inland water fish. *Bamidgeh*, **16**: 3-66.
30. ROHDE K., 1993. Ecology of marine parasites. An introduction to marine parasitology, 2nd Edn. Wallingford, UK, CAB International, 298 p.
31. SILAN P., MAILLARD C., 1986. Structures spatiale et temporelle des populations naturelles d'helminthes parasites de poisson : le modèle bar - *Diplectanum*. In : Actes du colloque national du Cnrs sur la biologie des populations.
32. SILAN P., MAILLARD C., 1990. Comparative structure and dynamics of some populations of helminths, parasites of fishes: the sea bass - *Diplectanum* model. *Acta oecol.*, **11**: 857-874.
33. SINDERMANN C.J., 1986. Effects of parasites of fish populations: practical considerations. *Parasit. Quo vadis*: 371-382.
34. SUCHEL J.B., 1987. Les climats du Cameroun. Thèse Doct., université Bordeaux III, France, 1 186 p.
35. VALTONEN E.T., HOLMES J.C., KOSKIVAARA M., 1997. Eutrophication, pollution and fragmentation: effects on parasite communities in roach (*Rutilus rutilus*) and perch (*Perca fluviatilis*) in four lakes in Central Finland. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **54**: 572-585.
36. VIVIEN J., 1991. Faune du Cameroun. Guide des mammifères et poissons. Paris, France, Gicam, 271 p.

Reçu le 14.01.2004, accepté le 31.08.2004

Résumé

Tombi J., Bilong Bilong C.F. Répartition des parasites branchiaux du poisson d'eau douce *Barbus martorelli* Roman, 1971 (Teleostei : Cyprinidae) et tendance à une évolution d'intensité contraire des myxosporidies et des monogènes en fonction de l'âge de l'hôte

L'étude de la parasitofaune branchiale de 558 *Barbus martorelli* a été menée dans un cours d'eau douce aux alentours de Yaoundé (Cameroun) en milieu tropical, afin d'obtenir des informations sur la répartition des agents pathogènes dans une population d'hôtes sauvages ; ces données sont indispensables dans la recherche de moyens pour éviter les pertes énormes souvent observées en pisciculture intensive. Cette analyse a révélé la présence de deux espèces de myxosporidies (*Myxobolus barbi* et *M. njinei*) et de huit espèces de monogènes (*Dactylogyrus bopeleti*, *D. insolitus*, *D. simplex*, *D. maillardi*, *Dogielius martorellii*, *Dogielius* sp., une espèce de Gyrodactylidae et une larve de Polystomatidae). Quatre poissons n'ont pas présenté de parasites, 24 ont présenté une infection monospécifique et 530 une infection plurispécifique. Chaque individu infesté a hébergé en moyenne quatre espèces de parasites. Alors que la prévalence et l'intensité moyenne parasitaire diminuaient avec la taille de l'hôte pour les protozoaires, le phénomène inverse a été observé pour les helminthes. L'effet sexe a été noté dans l'infestation de *B. martorelli* par la myxosporidie *M. njinei* et par la plupart des espèces de monogènes. Les femelles ont ainsi été plus infestées que les mâles en raison de leur biologie en période de frai. Enfin, la richesse des espèces parasitaires a semblé affecter négativement le poids des hôtes.

Mots-clés : *Barbus martorelli* – Myxosporidia – Monogenea – Branchie – Morbidité – Cameroun.

Resumen

Tombi J., Bilong Bilong C.F. Distribución de los parásitos de branquias en el pez de agua dulce *Barbus martorelli* Roman, 1971 (Teleostei: Cyprinidae) y la tendencia a una evolución de intensidad inversa entre Myxosporidia y Monogenea en función de la edad del huésped

Se llevó a cabo un estudio del parásito de branquias a partir de 558 *Barbus martorelli*, en un cauce de agua dulce cerca de Yaoundé (Camerún), con el fin de recolectar datos sobre la distribución de patógenos en una población silvestre, lo cual es esencial para encontrar los medios de evitar las pérdidas catastróficas que a menudo se observan en la acuicultura intensiva. El análisis reveló la presencia de dos especies de mixosporidios (*Myxobolus barbi* y *M. njinei*) y ocho especies monogénicas (*Dactylogyrus bopeleti*, *D. insolitus*, *D. simplex*, *D. maillardi*, *Dogielius martorellii*, *Dogielius* sp., una especie de Gyrodactylidae y una larva de Polystomatidae). Cuatro peces fueron encontrados sin parásitos, mientras que 24 y 530 presentaron infecciones mono específicas y multi específicas, respectivamente. Cada huésped infestado presentó un promedio de cuatro especies parasitarias. Mientras que la prevalencia y la intensidad media se redujeron con el tamaño del huésped para los protozoarios, el fenómeno inverso fue observado para los helmintos. Se observó un efecto sexual en la infestación de *B. martorelli* por el mixosporidio *M. njinei*, así como por la mayoría de las especies monogénicas; las hembras fueron más infestadas que los machos, debido a la biología de las especímenes grávidas. Igualmente, la alta riqueza en especies parasitarias pareció reducir el peso del huésped.

Palabras clave: *Barbus martorelli* – Myxosporidia – Monogenea – Branquia – Morbosidad – Camerún.

Mares de la zone sylvopastorale du Sénégal : tendances évolutives et rôle dans les stratégies de production des populations pastorales

A.T. Diop^{1*} O.T. Diaw¹ I. Diémé²
I. Touré³ O. Sy⁴ G. Diémé⁵

Mots-clés

Etang – Eau disponible – Bilan hydrologique – Qualité de l'eau – Sédimentation – Schistosomose – Sénégal.

Résumé

La zone sylvopastorale du Sénégal, comme la plupart des régions sahéliennes d'Afrique, est une zone où le problème de l'eau se pose avec acuité. Les mares y sont cependant nombreuses. Du début à la fin de la saison des pluies, elles sont fréquentées par une population humaine et animale dont l'importance n'a pas baissé en dépit d'un important programme d'hydraulique basé sur l'exploitation des nappes profondes. Ces mares continuent donc à être utilisées jusqu'à la dernière goutte d'eau par différentes techniques. Mais, de plus en plus, des changements au niveau de leur capacité d'accumulation d'eau ou de la qualité de l'eau sont notés. La prévalence de la schistosomose humaine et animale est pour l'instant faible mais le mollusque, l'hôte intermédiaire, et le parasite sont présents, notamment dans la partie sud de la zone étudiée. Du fait des difficultés de plus en plus importantes notées dans la gestion des ouvrages hydrauliques (forages et puits), les pouvoirs publics ont initié un programme de remise en eau des bassins versants depuis une décennie. Le présent article est une contribution à la mise en œuvre de ce programme dont l'aménagement des mares constitue une activité très importante en zone sylvopastorale.

■ INTRODUCTION

Au Sénégal, la question de l'eau a été abordée dans la zone sylvopastorale (ZSP) en tenant compte surtout des ressources en eaux profondes exploitées par les puits et les forages. De tels ouvrages n'étant pas parvenus à réduire complètement le déficit en eau des populations humaine et animale, les pouvoirs publics ont décidé de remettre en eau les anciennes vallées (vallées fossiles) au travers

de l'Agence nationale de promotion de réseau hydrographique (Anprh).

Dans cette région, les mares constituent des plans d'eau naturels très fréquentés par les populations durant toute leur période de remplissage. Dans le présent article, la dépression en eau est appelée « mare en eau » ou « mare ». Il est aussi question de « mare à sec » pour désigner la dépression susceptible de recueillir l'eau en cas de pluies. Mais même si l'importance de ces mares a été signalée par plusieurs auteurs (3, 5) et quelques unes aménagées, elles n'ont jamais fait l'objet d'une attention dans le sens d'une gestion globale et durable.

C'est dans cette perspective que s'inscrit l'étude de la dynamique des ressources en eau des mares de la ZSP. Elle vise, à partir d'une approche d'études pluridisciplinaires, à analyser l'importance de la fréquentation par les populations en ZSP et à identifier les facteurs à l'origine de la réduction des possibilités de mise en eau des mares et des risques de maladies liés à l'utilisation de celles-ci.

1. Isra/Lnerv, BP 2057, Dakar Hann, Sénégal
2. Bureau de Pédologie/direction de l'Agriculture, Dakar, Sénégal
3. Cirad/Isra/Lnerv, BP 2057, Dakar Hann, Sénégal
4. UCAD/ISE, BP 5005, Dakar Fann, Sénégal
5. UCAD, département de Géographie, BP 5005, Dakar Fann, Sénégal

* Auteur pour la correspondance
Tél. : +221 832 56 15 ; fax : +221 832 36 79
E-mail : amtadiop@sentoos.sn

■ MATERIEL ET METHODES

Cadre général

La zone sylvopastorale est la principale région d'élevage du Sénégal. Elle est communément appelée Ferlo mais, pour les éleveurs de la zone, le Ferlo est la partie orientale de la ZSP, les autres parties étant le Djoloff et le Walo. Du point de vue géomorphologique, le modelé est constitué par une surface plate et monotone qui s'abaisse progressivement vers l'ouest et le nord-ouest. Elle est entaillée par des réseaux de vallées mortes dont les ramifications découpent les plateaux en une série de lanières de superficies très variables et aux contours festonnés (19). Globalement, elle est subdivisée en deux zones, l'une à l'est, dominée par un substrat sableux, et l'autre à l'ouest, dominée par un substrat ferrugineux (23).

La ZSP est soumise à un climat de type tropical sec. La saison des pluies a lieu de juin à octobre. Elle est caractérisée par de faibles précipitations (100 à 600 mm/an) avec un gradient nord-sud et une variabilité spatio-temporelle prononcée. Deux années sur trois, le mois d'août est le plus pluvieux de l'année. De faibles pluies, connues sous le nom de *Heug*, peuvent aussi être notées en saison sèche froide.

La température moyenne annuelle est de 29,6 °C avec une amplitude moyenne annuelle de 7,6 °C (13). Le régime thermique se caractérise par une évolution bimodale, laissant apparaître deux températures maximales (mai et octobre) et deux minimales (janvier et août). La moyenne annuelle de l'humidité relative est de 47 p. 100 et elle est marquée par une évolution unimodale, avec un maximum intervenant au mois d'août (73 p. 100) et un minimum au mois de février (29 p. 100). La quantité d'eau mensuelle évaporée en ZSP (station de Linguère) suit une variation bimodale similaire à celle de l'insolation et de la température. Elle est caractérisée par une hausse entre janvier et mai, avec un maximum de 9,6 mm/jour, et une autre entre septembre et novembre, avec un maximum de 7,8 mm/jour.

Le couvert végétal est composé d'un tapis herbacé à dominante d'espèces annuelles (*Cenchrus biflorus*, *Schoenefeldia gracilis*, *Zornia glochidiata*, etc.), couvrant de façon incomplète le sol, et d'une strate arbustive peu dense dominée par *Balanites aegyptiaca*, *Boscia senegalensis*, *Acacia senegal*, etc., dans la partie sablonneuse, et de *Pterocarpus lucens* dans la partie ferrugineuse (20, 23). La biomasse herbacée est à son maximum à la fin de la saison des pluies. Elle varie selon les années de 100-200 à 2 000-3 000 kg de matière sèche par hectare (7).

Les estimations des services de l'Élevage indiquent que la ZSP compte 22 p. 100 du cheptel bovin sénégalais, 30 p. 100 du cheptel des petits ruminants, 25 p. 100 du cheptel équin et 29 p. 100 du cheptel asin (2). Les bovins de la zone sont dans une large majorité de race zébu Gobra.

La population est composée de Peuls qui constituent l'ethnie dominante, d'Ouloffs, de Maures et de Sérères. Elle est estimée, selon le recensement de 1988, à 836 000 habitants avec une densité moyenne de 16 hab./km². Les plus fortes densités sont enregistrées dans la partie ouest de la zone (parfois 49 hab./km²), ainsi qu'au nord et nord-est. Une diminution de la densité est notée au fur et à mesure que l'on s'éloigne du Walo (zone proche de la vallée du fleuve Sénégal), pour atteindre parfois 1 hab./km² dans la partie ferrugineuse à l'est. Même si l'élevage représente le système de production dominant dans la ZSP, il est associé selon les sous-zones à des activités agricoles comme la culture de mil (*Pennisetum typhoides*), d'arachide (*Arachis hypogaea*), de niébé (*Vigna sinensis*), de sorgho (*Sorghum bicolor*) ou à des activités forestières comme l'exploitation de bois, de la gomme arabique, de

fruits de *Balanites aegyptiaca* et de *Zizyphus mauritiana*. Selon l'importance de ces activités, on peut distinguer cinq sous-systèmes : sylvopastoral, agrosylvopastoral, agropastoral, basse vallée du Ferlo et périurbain (2).

Importance des mares dans les systèmes de production et vie des populations pastorales de la zone sylvopastorale

Les eaux superficielles sont représentées par le lac de Guiers, une dépression naturelle peu profonde (2 à 3,5 m au nord et 1 à 1,5 m au sud couvrant 300 km² à son maximum d'extension) (7). Il se prolonge dans la basse vallée du Ferlo et un réseau de points d'eau temporaires constitue les mares de taille variable. Si certaines ne sont en saison des pluies que des flaques d'eau de quelques dizaines de mètres carrés, d'autres peuvent s'étaler sur des hectares. La topographie de ces mares est en général très plate, et rares sont celles qui, même dans les années de bonne pluviométrie, présentent des fonds d'eau de plus de 1,50 m (18).

Les nappes profondes ont été constituées lors des périodes du continental terminal, de l'éocène et du paléocène, et du maestrichtien. Ces ressources en eau souterraines sont exploitées à partir des puits entre 30 et 50 m de profondeur, et celle de l'éocène et du paléocène entre 20 et 50 m. Les puits fonctionnels dans la zone sont nombreux avec une hauteur d'eau comprise entre 1 et 5 m (14). L'exhaure de l'eau est manuelle pour la plupart d'entre eux mais, de plus en plus, on utilise la traction animale, surtout celle des ânes.

Les forages profonds captent dans la majorité des cas la nappe du maestrichtien qui est atteinte entre 100 et 350 m. Le premier forage de la zone a été réalisé en 1931. Actuellement, leur nombre dépasse 100. Conçu au départ comme de simples points d'eau, ces forages sont devenus par la suite le moteur de la vie, le cœur de toute la zone d'influence. Ils fonctionnent pour la plupart avec des pompes Diesel ; certains sont cependant exploités manuellement ou avec l'énergie animale. Les débits de ces forages peuvent atteindre 75 m³/h. Pour la plupart de ces ouvrages, la durée de fonctionnement est largement dépassée. Des actions sont menées pour remplacer certains équipements, mais elles sont loin d'être suffisantes.

Avant l'installation des premiers forages au début des années 1950, les mares constituaient les seuls points d'abreuvement des populations et du cheptel pendant la saison des pluies (4). Les zones d'habitations étaient organisées, conditionnées même, autour d'une mare ou d'un système de mares. La richesse de la toponymie des populations locales (en majorité des Peuls) indique la diversité et la valeur pastorale de ces mares. Chacune d'elles porte un nom qui permet de la distinguer d'une autre et aussi de la caractériser selon son importance, la végétation qui l'entoure, les animaux particuliers qui la fréquentent, etc. Mais dès l'assèchement de ces mares, quelques semaines après les dernières pluies, la ZSP se vide de sa population et de son cheptel.

Cinquante années plus tard, les ouvrages hydrauliques (puits et forages) ont été multipliés. Mais dès les premières pluies, le cheptel de la ZSP continue à désertter l'ensemble de ces ouvrages pour ne s'abreuver qu'au niveau des mares. Il n'y retourne que lorsqu'elles sont tarées.

La ZSP a une frontière dans sa partie nord avec la vallée du fleuve Sénégal qui connaît à certains endroits un développement de la schistosomose humaine et animale (11, 12). En 1994-1995, certaines mares ont été à l'origine d'une infestation par les schistosomes de troupeaux de petits ruminants, causant de fortes mortalités animales notamment dans le département de Linguère (21). Mais depuis, la situation semble s'être stabilisée.

Les déficits pluviométriques répétés de ces dernières décennies n'ont cependant pas épargné ces mares. Si certaines s'assèchent très tôt ou parfois ne sont pas en eau, d'autres font l'objet de fréquentation par des populations avec leur troupeau qui ne respectent pas toujours les mesures de gestion pour une utilisation durable. Les pouvoirs publics du Sénégal ont aussi, depuis quelques années, opté pour la mise en place d'un programme d'amélioration du disponible en eau de surface. Les mares en constituent un volet important. Certaines ont donc été aménagées (par surcreusement), rendant leur durée de vie plus longue, mais créant ainsi les conditions de multiplication des maladies hydriques, notamment la bilharziose humaine et animale.

Méthodologie

Mise en place d'un dispositif d'enquêtes sur l'ensemble de la zone sylvopastorale

La ZSP a été découpée en cinq sous-zones selon des critères éco-géographiques et les systèmes de production (sous-zone sylvopastorale nord, agrosylvopastorale est, centre, agropastorale ouest, et sud). Au niveau de chaque sous-zone, 15 p. 100 des forages représentant un total de 20 forages ont été retenus, soit 5 au nord, 3 au sud, 4 à l'ouest, 4 au centre et 4 à l'est.

L'unité d'enquêtes a été le *gallé* (concession) et le *jom galle* (chef de concession) a été enquêté. Sur la base de données obtenues précédemment (15), le nombre moyen de *galleeji* (pluriel de *gallé*) par aire de desserte de forage (ensemble des campements dont les animaux fréquentent le forage) a été estimé à 167. Au niveau de chaque forage, 25 *jom galleeji* (soit 15 p. 100) ont été interrogés. Ainsi le nombre des *jom galleeji* enquêtés a été au total de 500 répartis comme suit : 100 à l'ouest, 100 au centre, 100 à l'est, 125 au nord et 75 au sud.

Pour prendre en compte la diversité autour de chaque aire de desserte (ethnie, fraction, taille du troupeau, type d'élevage), l'espace a été découpé en quatre secteurs, selon les quatre points cardinaux. La liste totale des *jom galleeji* a été obtenue selon des enquêtes faites antérieurement au niveau des ces forages ou par entretiens avec les agents des services administratifs en présence de groupes d'éleveurs. Les campements de chaque secteur ont été recensés et classés selon la taille. Le choix du nombre de *jom galleeji* à enquêter était proportionnel au nombre de campements de l'aire de desserte.

Mise en place d'un dispositif de suivi de mares au niveau de deux sous-zones

Sur les cinq sous-zones retenues précédemment, deux ont été choisies, celle située au nord (sylvopastorale) autour du forage de Tatki et celle au sud (agrosylvopastorale) dans la zone de Thiel, Barkédji et Déali (figure 1). Au niveau de chacune d'elles, des réunions regroupant une vingtaine de personnes ont été organisées suivies de visites guidées. Neuf mares au niveau de chaque sous-zone ont fait l'objet d'une localisation géographique par GPS et d'un suivi du bilan hydrologique. Dans la sous-zone de Tatki, deux mares supplémentaires ont été retenues et six dans celle de Thiel pour les investigations sur la schistosomose.

Deux pluviomètres ont été installés au niveau des zones de forage de Tatki et de Thiel en complément de ceux qui s'y trouvaient. Ces relevés ont été complétés par ceux de la station météorologique de Linguère (pluviométrie et évaporation) qui était la station la plus proche.

Au milieu de chaque mare, un jalon a été installé. Des relevés hebdomadaires de hauteur et de diamètre du plan d'eau ont été faits durant toute la saison des pluies 2001.

Mise en place d'un dispositif d'observations parasitologiques

Des informations ont été collectées sur l'existence de la schistosomose au niveau des mares de la zone lors de réunions de groupes.

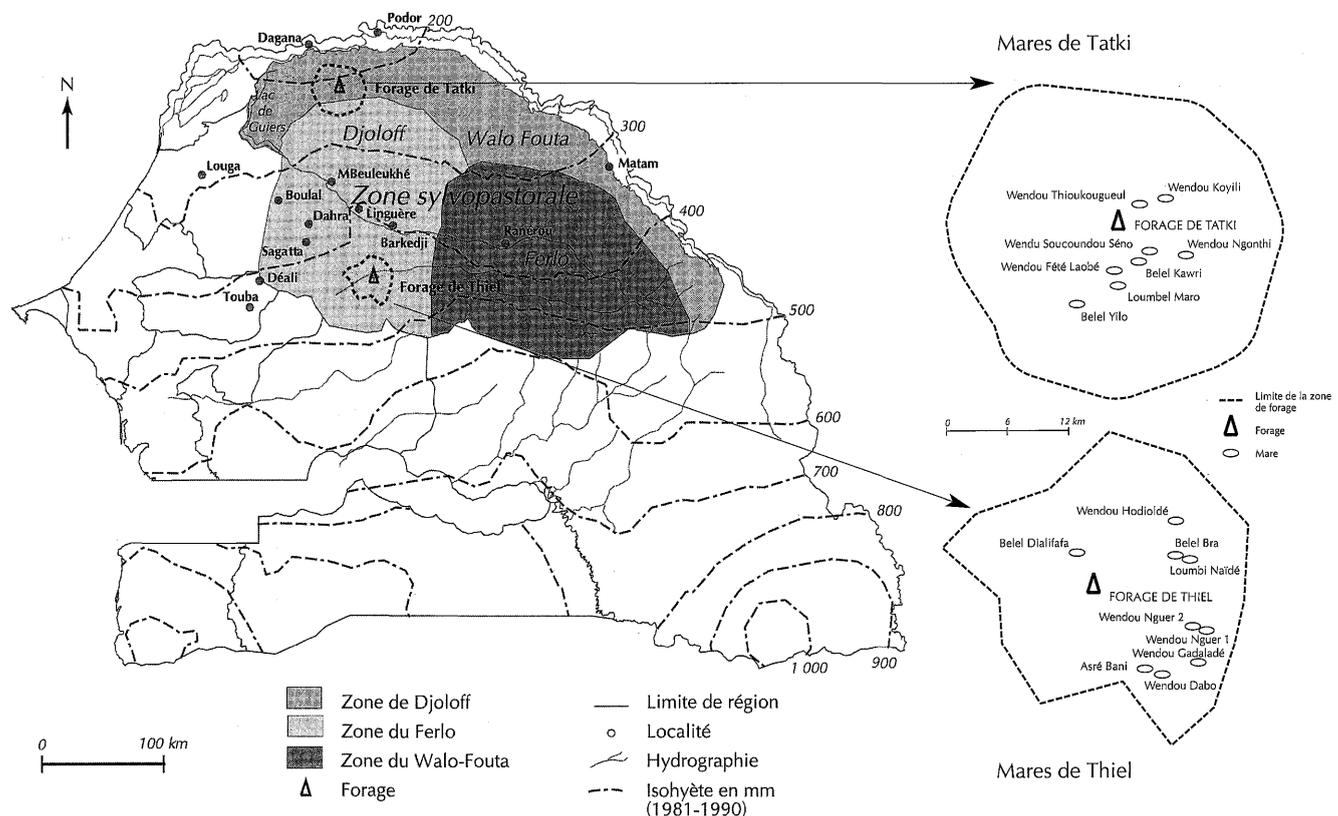


Figure 1 : localisation des mares ayant fait l'objet de suivi de la dynamique de l'eau dans la zone sylvopastorale (Sénégal).

Elles ont été suivies par des rencontres avec les responsables des services de santé humaine (districts et postes de santé) et d'élevage (services départementaux et postes vétérinaires). Ces derniers nous ont aussi permis de consulter leurs rapports d'activités et les registres de consultation.

Des prélèvements de fèces à l'état frais ont été faits chez les bovins et les petits ruminants. La méthode coprologique a été employée pour mettre en évidence les œufs de parasites en utilisant du chlorure de sodium, puis flottaison pour les cestodes et les nématodes, puis par sédimentation pour les trématodes (17, 22).

Des prélèvements de sang ont aussi été faits chez des ovins pour déceler les anticorps de schistosomes par la technique de l'Elisa (1, 9, 10, 22). Les données de parasitologie ont concerné les animaux fréquentant régulièrement les mares suivies et les troupeaux transhumants.

Deux prospections malacologiques (en octobre et en novembre 2002) ont été effectuées. Les mollusques récoltés ont été amenés au laboratoire pour identification, comptage et détermination de la nature et du taux de l'infestation.

Analyse des données

L'analyse diachronique des données sur l'exploitation des ressources en eau a été possible en se basant sur des données collectées en 1988 par le service d'Agrostologie du Laboratoire national de l'élevage de Dakar Hann sur la gestion des ressources naturelles en ZSP.

■ RESULTATS ET DISCUSSION

Les mares, sources principales d'alimentation en eau des populations et du cheptel en saison des pluies

Parmi les points d'eau utilisés actuellement en ZSP pour l'alimentation en eau des populations humaines et animales, les mares continuent d'être les plus fréquentées (figure 2) en saison des pluies. Mais la tendance est légèrement à la baisse comparée à la période d'avant 1970. Les forages, dont le nombre s'est très nettement accru (de 16 à 169 entre 1950 et 2001), constituent le deuxième type de points d'eau. Cependant la fréquentation des puits a nettement baissé dans la plupart des sous-zones au profit des forages.

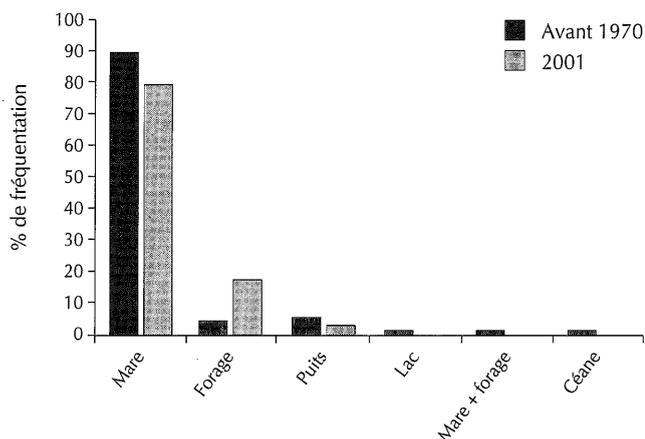


Figure 2 : sources d'alimentation en eau des populations en saison des pluies avant 1970 et en 2001.

Les facteurs à l'origine de l'augmentation de la fréquentation des mares sont, selon les éleveurs, la mobilité durant le *setsellé* (*polindaaji*¹), la tradition, la fatigue liée à la fréquentation des puits et des forages du fait de l'éloignement, l'effort lié à l'exhaure, et l'attente au niveau des abreuvoirs ou des bornes fontaines.

Moins de la moitié (42 p. 100) des personnes enquêtées fréquentent toutes les mares pour leur alimentation en eau. L'importance de la fréquentation est liée à plusieurs facteurs. Lorsqu'ils sont en *polindaaji*, par exemple, la priorité est de sauver les animaux en les conduisant dans des espaces pourvus en pâturages et souvent très éloignés des puits et des forages. A cette période, certains utilisent même des flaques d'eau en début de saison des pluies. Mais cela ne veut pas dire que de telles eaux sont potables. Un bon nombre d'éleveurs habitant non loin d'un forage et dans les zones pastorales proches des centres urbains n'utilisent plus les mares en saison des pluies. Certaines ethnies comme les Ouoloffs les fréquentent moins que les Peuls et les Maures.

L'eau des mares est utilisée pour les travaux ménagers (cuisine, linge, etc.), l'alimentation en eau des hommes et l'abreuvement du cheptel resté au campement. A Tatki (sous-zone nord), il existe, au niveau des campements Peuls, des mares pour l'alimentation en eau des personnes et d'autres pour le linge et le bain. En général, les mares les plus importantes sont réservées pour l'alimentation en eau des hommes et des animaux, et les plus petites pour les autres besoins. Les premières sont celles qui se trouvent éloignées du campement. Si le nombre de mares est restreint (à cause d'un mauvais remplissage), la personne puise de l'eau et se met à l'écart pour le bain ou le linge pour ne pas polluer. La mare en phase d'assèchement est souvent utilisée jusqu'à ses dernières gouttes d'eau. Quand il ne reste que l'eau boueuse, et si nécessaire, des procédés de décantation sont utilisés : écorce de *Boscia senegalensis*, boue de termitière, lait caillé acide, sel, etc. Ces traitements donnent un goût désagréable à l'eau. Mais, selon les éleveurs, le plus important est de pouvoir trouver de l'eau pour les besoins domestiques.

En ce qui concerne l'utilisation des mares en fonction de la période de remplissage, 67 p. 100 des éleveurs en moyenne les fréquentent actuellement dès leur remplissage pour les besoins de leur famille. En 1988, le taux était de 88 p. 100. C'est dire qu'un nombre de personnes de plus en plus important attendent que l'eau des mares soit moins trouble pour s'y rendre pour leur alimentation. La figure 3 indique que ce taux varie selon les sous-zones :

– à l'ouest et au centre, il y a l'influence du phénomène urbain, mais surtout de l'importance des forages et des puits qui fait que les populations utilisent les mares bien après le début de la saison des pluies. Dans des localités comme Boulal et Sagatta, proches des centres urbains, ou comme Mbeuleukhé, à forte composante d'Ouoloffs, on considère qu'elles sont impropres à la consommation. Celles proches des campements sont délaissées car elles constituent des lieux de dépôts de différents corps polluants (ordures ménagères, matières fécales, cadavres d'animaux, etc.) ;

– au nord, la plupart des forages sont fermés en saison des pluies. En effet, la pénibilité des travaux liés à la fréquentation de ces points d'eau et leur coût font que les mares sont utilisées dès leur remplissage, d'autant plus que leur durée de mise en eau est courte du fait des déficits pluviométriques devenus très fréquents ces dernières années ;

– au sud, certains forages et puits peuvent même être fonctionnels, mais les populations sont partagées entre les champs et les animaux.

¹ Mot Peul signifiant la transhumance de début de saison des pluies qui consiste à aller à la rencontre des premières pluies pour faire bénéficier au cheptel des premiers pâturages

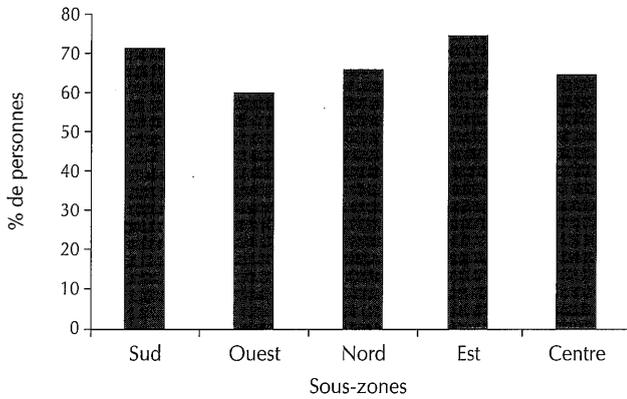


Figure 3 : pourcentage d'éleveurs fréquentant les mares dès le remplissage.

Aussi, un forage comme celui de Thiel, considéré par les éleveurs comme mal géré, est déserté dès les premières pluies, même si la pratique traditionnelle du *comooje* est connue de la plupart d'entre eux (cette pratique consiste à attendre que les mares soient moins chargées en impuretés avant d'utiliser leurs eaux) ;

– à l'est, la capacité d'exhaure des forages est très faible (nombre réduit et système d'exhaure peu performant). Les animaux fréquentent très tôt les mares dont certaines sont de grandes capacités. De plus, comme c'est une zone agrosylvo-pastorale, les activités agricoles mobilisent les populations qui sont ainsi déchargées des tâches d'exhaure et de transport de l'eau.

Lors des déplacements du cheptel, les mares jouent un rôle essentiel. Dans certaines zones de forages où l'activité agricole est importante, comme au sud et à l'est, les troupeaux sont déplacés avec une partie de la famille vers des zones de grandes mares où ils séjournent pendant toute la période de culture. Le réseau, constitué par les grandes mares naturelles comme celles situées le long des vallées fossiles et celles aménagées, détermine l'axe principal de transhumance de certains troupeaux. Ils quittent ces zones dès l'assèchement des mares pour se diriger vers d'autres localités où les mares sont encore en eau.

Perception de l'évolution de la qualité de l'eau des mares

A l'échelle de la ZSP, la plupart des éleveurs considèrent que la qualité de l'eau des mares est restée constante (41 p. 100) ou s'est dégradée (38 p. 100) (figure 4). Les implantations anarchiques de campements (de saison des pluies et de saison sèche) par rapport aux mares et l'augmentation des troupeaux contribuent à la détérioration de la qualité des eaux, même au niveau des mares aménagées. En effet, de plus en plus d'éleveurs venant de l'ancien bassin arachidier (région de Thies et de Diourbel) s'installent à côté des mares sans tenir compte des normes d'utilisation traditionnelles établies par les campements à proximité.

A l'échelle des sous-zones, en dehors de l'ouest où aucune tendance ne se dégage, les éleveurs du sud pensent que l'eau est devenue moins potable, et ceux du centre, du nord et de l'est qu'elle est restée constante (figure 4). L'appréciation négative de la qualité des eaux du sud, où elle atteint 96 p. 100 à Thiargny et 88 p. 100 à Thiel, est liée au fait que, de plus en plus, des transhumants (Sérères en majorité) établissent leurs campements pendant la saison des pluies non loin des mares, favorisant la pollution de l'eau.

Les populations des sous-zones centrale, occidentale et australe sont plus en contact avec les centres urbains (Dahra, Linguère,

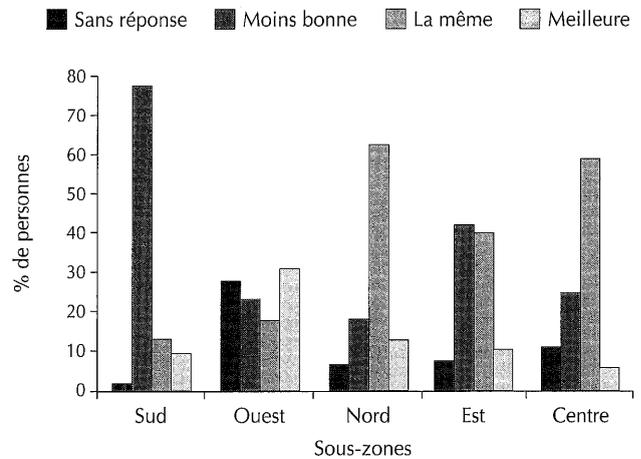
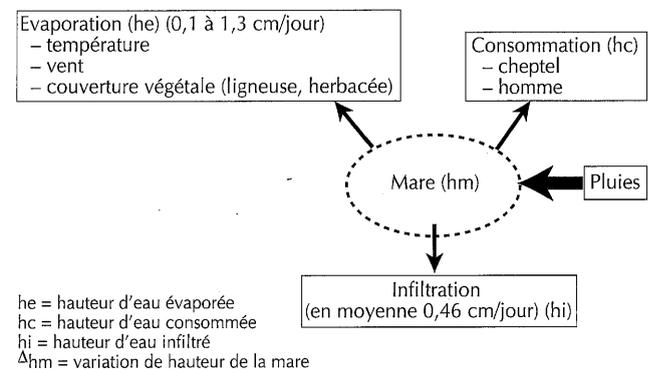


Figure 4 : perception de l'évolution de la qualité de l'eau des mares par les populations.

Louga et Touba) et sont plus sensibilisées aux questions d'environnement, de salubrité et d'assainissement. De même, ces zones ont un maillage hydraulique relativement plus dense. A titre d'exemple, à Sagatta la quasi-totalité des habitants ne fréquentent plus les mares pour leur boisson.

Impact des facteurs environnementaux sur le bilan hydrologique d'une mare

La figure 5 montre les facteurs à l'origine de l'évolution du niveau de remplissage des mares. Les apports proviennent des pluies et les sources de pertes sont de trois ordres : infiltration, évaporation et consommation.



Calcul de h_e au niveau d'une mare non fréquentée par le cheptel ($h_c = 0$)
 $\Delta h_m = h_e + h_i + h_c$
 Si $h_i = 0,46$ cm (par évaluation), et si $\Delta h_m = 1$ cm, on a
 $1 = h_e + 0,46 \Rightarrow h_e = 1 - 0,46 = 0,54$ cm

Figure 5 : facteurs à l'origine de l'évolution du niveau de remplissage des mares en zone sylvo-pastorale du Sénégal.

Remplissage par les eaux de pluies

La figure 6 montre la courbe d'évolution du niveau de remplissage des mares durant la saison des pluies 2002 pour Tatki et Thiel. Au niveau du site de Tatki (nord de la ZSP), une courbe bimodale est notée. En effet, il a été enregistré 165 mm pour 13 jours de pluies. Aussi du 18 août au 25 septembre, la zone n'a reçu que 25 mm.

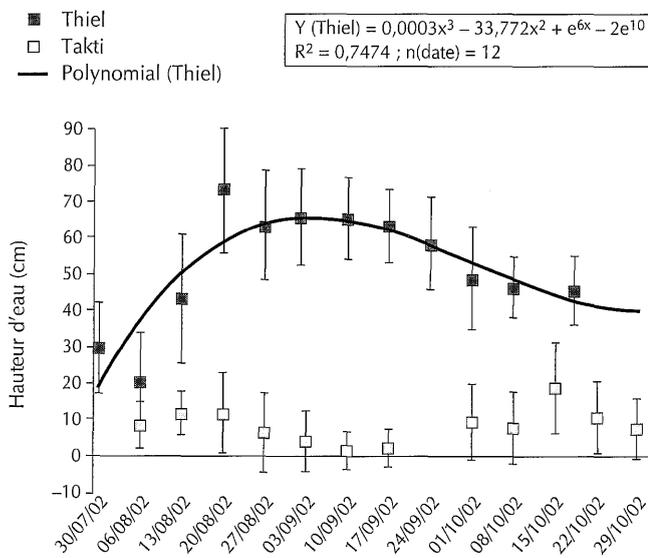


Figure 6 : courbe d'évolution au niveau de remplissage des mares suivies en 2002 en zone sylvopastorale.

Les mares n'ont donc jamais dépassé une hauteur d'eau de 35 cm et la plupart durant toute cette période ont eu moins de 10 cm de profondeur.

La nature de la courbe de remplissage des mares était plus unimodale au niveau de la sous-zone de Thiel (sud de la ZSP). Pour la saison des pluies 2001, une relation de type polynomial ($R^2 = 0,7474$; $n = 12$) existait entre le niveau de remplissage et la période de mise en eau. La zone d'Asré bani a enregistré 230 mm et celle de Silate au nord 169 mm. Le remplissage des mares s'est fait à partir de la mi-août avec des niveaux qui ont dépassé parfois 80 cm.

Pertes en eau dues à l'infiltration

Les mesures d'infiltration dans une mare à sec (16) indiquent qu'au niveau de toutes les mares, les quantités d'eau infiltrées évoluent en fonction de l'état du sol et de la durée de stockage des eaux des mares. Le début de mise en eau de la mare à sec se traduit par une infiltration très rapide qui décroît pour se stabiliser au bout d'une durée fonction des caractéristiques pédologiques de la mare. Cette infiltration diminue du centre à la périphérie de la mare. Outre la teneur en éléments fins des sols, la vitesse d'infiltration dépend donc d'autres facteurs, comme le degré de compaction du sol de la mare, et l'importance et l'état des termitières.

Pertes en eau dues à l'évaporation

Les relevés d'hauteur d'eau totale perdue au niveau de deux mares de Thiel en septembre 2002 indiquent une moyenne de 10 mm/jour pour des mares non fréquentées par le cheptel et les populations. En déduisant de cette valeur la moyenne d'hauteur d'eau infiltrée qui est égale à 4,6 mm/jour, on peut estimer les pertes par évaporation à 5,4 mm/jour. Au niveau de Linguère, l'analyse des données de la station météorologique indique que les hauteurs d'eau évaporée ont varié en octobre 2002 de 1,3 mm/jour à 9,2 mm/jour, avec une moyenne mensuelle de 6,4 mm/jour. Cette perte en eau est fonction de la situation climatique (température de l'air, humidité atmosphérique et vent) et du taux de recouvrement des mares par la végétation ligneuse et herbacée. Une présence plus ou moins importante de végétation herbacée hygrophyte du genre *Azolla* et *Nymphea* est constatée au niveau de certaines mares en plus des ligneux dont le recouvrement varie entre 10 et 45 p. 100 selon les mares (16).

Pertes en eau du fait de la consommation par le cheptel et les hommes

Les résultats de suivi de la fréquentation d'une mare (Asré bani) pendant une journée (de 8 h à 19 h en juillet 2001) ont indiqué un prélèvement d'eau total de 42 m³. Au total, 87 p. 100 de ce volume ont été consommés par un cheptel estimé à 1 650 UBT¹ [bovins (59 p. 100), petits ruminants (37 p. 100), équins (0,5 p. 100) et asins (4 p. 100)], soit une moyenne 22 l/UBT/jour. Le reste, environ 5,5 m³, a été transporté vers les campements.

La fréquentation des mares par la population humaine et animale varie selon la disponibilité d'autres sources d'abreuvement (forages, puits, autres mares, etc.) et la disponibilité de pâturages aux alentours. Les animaux peuvent aussi éviter certaines mares parce qu'elles sont suspectées transmettre certaines maladies (la schistosomose par exemple) ou que l'eau est devenue trouble.

Réduction ou augmentation des possibilités de remplissage des mares en fonction de leur fréquentation par le cheptel

Contrairement à ce qui est indiqué dans la littérature (3, 18), à savoir que l'appellation locale d'une mare est fonction de sa taille (*wendou* : grande mare ; *loubel* : mare moyenne ; *belel* : petite mare), les auteurs ont constaté que les dimensions d'une mare évoluaient essentiellement selon certains facteurs (figure 7). Il est donc possible de voir un *wendou* moins grand qu'un *belel*.

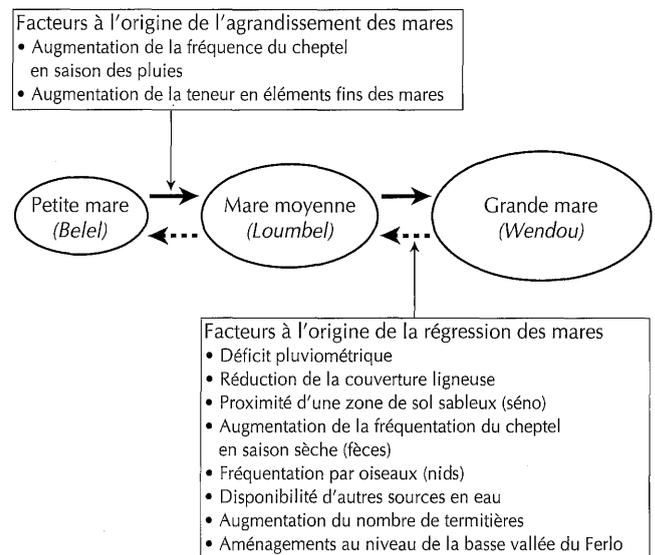


Figure 7 : facteurs d'évolution des mares dans la zone sylvopastorale du Sénégal.

La fréquentation de la mare par le cheptel constitue un élément important de cette dynamique. En saison des pluies, durant la période où elle est en eau, l'augmentation des effectifs animaux contribue à l'agrandissement de son assiette par surcreusement. Ceci peut d'ailleurs être constaté aux abords de certains abreuvoirs de forage (figure 8). Par contre, la diminution des effectifs va favoriser un ensablement qui sera d'autant plus rapide que la mare est proche d'une zone sablonneuse. Ce phénomène de réduction a été constaté au niveau des mares, comme *wendou* Soucoundou séno à Tatki dans la sous-zone nord, et *wendou* Djalifafa et *wendou*

¹ Unité bétail tropical, soit un animal de 250 kg de poids viv

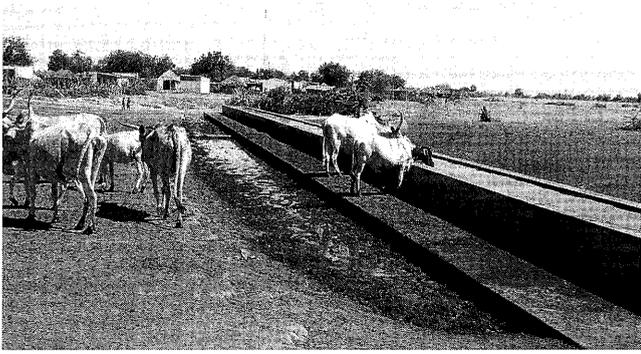


Figure 8 : un abreuvoir au niveau de Ranérou (du fait de la fréquentation par le cheptel, les abords sont surcreusés).

Nguer (figure 9) à Thiel dans la sous-zone sud. L'ensablement de cette dernière est d'ailleurs dû, selon les éleveurs, à un changement de lieu d'abreuvement des troupeaux des campements aux alentours qui sont allés à *belel* Nguer qui s'est agrandi par la suite.

Cependant, pendant les périodes où les mares sont à sec, leur fréquentation par le cheptel pour l'ombrage occasionne d'importants dépôts de fèces. Il en est de même des nids d'oiseaux qui, en tombant dans la zone d'inondation, contribuent à son comblement.



Figure 9 : wendou Nguer (en cours d'ensablement du fait que le bétail va s'abreuver au niveau de bélel Nguer).

Pour un nombre important des personnes enquêtées (44 p. 100), l'étendue des mares et leur nombre sont en train de diminuer. Cette régression est liée essentiellement à la réduction de la fréquentation des mares par le cheptel, à côté de facteurs secondaires comme la sécheresse, l'érosion éolienne dans la zone nord et l'érosion hydrique à l'est. Les phénomènes de comblement du fait de l'ensablement sont plus importants au nord qu'au sud, sous-zone fréquentée par beaucoup de transhumants.

L'analyse des données d'enquêtes selon les sous-zones (figure 10) indique que les mares du sud et de l'est sont en augmentation, celles du nord et du centre ne connaissent pas d'évolution, tandis que celles de l'ouest sont en régression. En effet, les mares du sud sont pour certaines dans la vallée fossile du Sine. Cette vallée constitue la basse vallée du Ferlo, un des grands axes du réseau

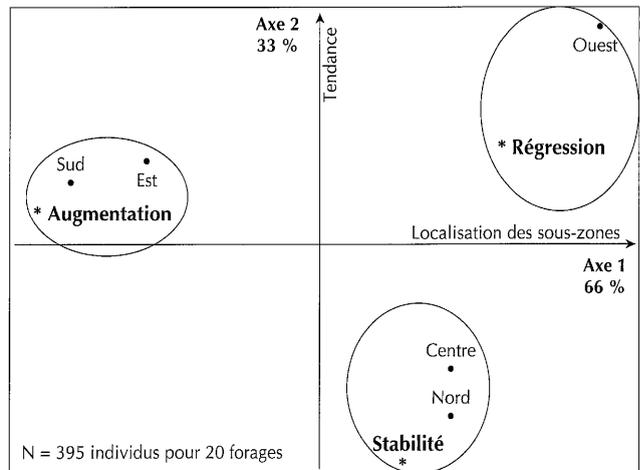


Figure 10 : perception de l'évolution des mares de la zone sylvopastorale selon les sous-zones.

des vallées fossiles qu'on rencontre en ZSP. Elle la traverse dans sa partie sud.

Les pluies dans la sous-zone sud sont aussi plus importantes et la fréquentation en saison des pluies est forte du fait du grand nombre d'animaux transhumants qui viennent s'abreuver dès les premières pluies. A l'est, des pluies parfois très intenses sur un réseau hydrographique relativement développé et des pentes relativement fortes favorisent un ruissellement et un phénomène d'érosion hydrique intense à l'origine d'une augmentation des mares (figure 11).

Au nord et au centre, la durée de vie des mares est faible du fait de l'évaporation mais aussi de leur faible fréquentation par les troupeaux par suite des déficits pluviométriques. Le substrat, pour une large part sablonneux, favorise le comblement des mares en dépit du cheptel qui demeure très important.

A l'ouest, la sécheresse et l'érosion éolienne constituent des facteurs importants de modification des mares. Les défrichements dus à l'avancée des zones de culture entraînent le comblement des mares, principalement par l'absence de brise-vent et l'obstruction des voies d'accès des animaux par les champs.

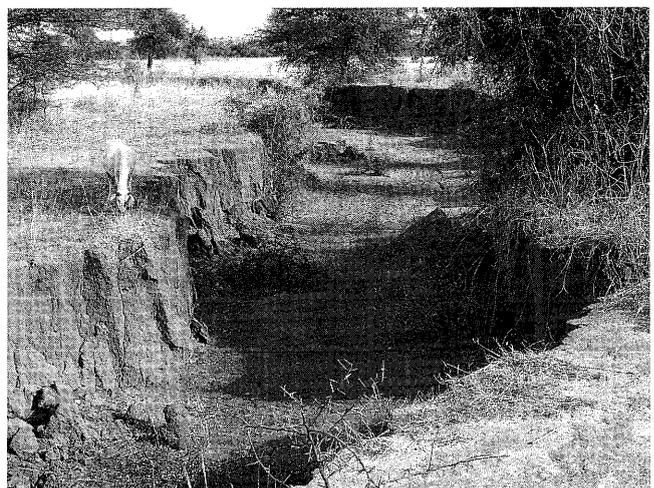


Figure 11 : effets de l'érosion hydrique (entre Linguère et Labgar).

Schistosomose humaine et animale : un risque à prendre en compte dans la gestion des mares

Dans la région nord de la ZSP (Tatki et ses alentours), aucun cas de schistosomose animale et humaine n'a été signalé lors des enquêtes des auteurs par les services de l'élevage et de santé humaine. Les caractéristiques de la pluviométrie n'ont pas permis non plus de faire des prospections malacologiques pour savoir si le mollusque, hôte intermédiaire, était présent.

Dans la région sud (Thiel et ses alentours), des mollusques (*Bulinus senegalensis* et *Bulinus umbilicatus*) ont été identifiés au niveau de dix mares sur les quatorze étudiées. *B. senegalensis*, espèce la plus fréquente, a été rencontré dans huit mares sur les dix. Ces mollusques sont récoltés dans la boue, sur des supports végétaux et souvent sur différents débris existant dans la mare. Sur les deux prospections qui ont été faites, seules les récoltes du mois d'octobre ont été significatives. En novembre, l'ensemble des mares était à sec et peu de mollusques ont été récoltés. Tous ont été testés mais seules des furcocercaires de parasites d'oiseaux ont été identifiées. On peut donc dire qu'ils étaient négatifs pour la schistosomose humaine et animale.

A Barkedji (est du forage de Thiel), la schistosomose a été signalée par les éleveurs et le responsable du poste vétérinaire. Les prospections des mares réputées transmettre la maladie ont été cependant négatives. Mais depuis l'épizootie de 1994-95 (21), elles sont considérées comme des mares à risque et sont évitées par les éleveurs.

Concernant la schistosomose humaine (bilharziose urinaire), plusieurs cas ont été signalés à différentes structures sanitaires : trois cas en 2001 au niveau du poste de santé de Thiel forage et de nombreux cas identifiés dans le district sanitaire de Linguère. Ceci rejoint les fortes prévalences enregistrées ces dernières années au niveau de plusieurs écoles locales par le Programme national de lutte contre la bilharziose.

Les analyses coprologiques n'ont permis d'enregistrer qu'un cas de schistosomose chez les bovins sur 74 prélèvements et un cas chez les petits ruminants sur 54 prélèvements. En ce qui concerne la sérologie, trois cas sur les 42 sérums d'ovins analysés ont été positifs. Les prévalences ont donc été faibles ; mais cela montre que les risques sont là et que le cycle s'entretient car les mollusques et les parasites sont présents.

En se référant aux études faites en 1980 dans la zone (5), il apparaît que la situation épidémiologique de la bilharziose humaine et animale ne semble pas avoir évolué. Au nord, malgré sa proximité avec la vallée du fleuve Sénégal, la prévalence de la maladie demeure quasi nulle, tandis qu'au sud, elle est toujours présente, même si actuellement la situation ne semble pas préoccupante. Selon ces mêmes auteurs, les éleveurs du nord fréquentent plutôt la partie du fleuve (Dagana et Podor) où la maladie sévit à l'état hypo-endémique et ceux du sud peuvent être contaminés dans la région de Matam, d'où ils sont originaires, ou à partir d'un affluent de la vallée du Ferlo. Mais le développement des marchés hebdomadaires et l'allongement de la durée de mise en eau des mares jusqu'à six à sept mois dans la saison sèche constituent des facteurs qui risquent de rendre la situation plus préoccupante.

■ CONCLUSION

Dans la zone sylvopastorale du Sénégal, les mares contribuent à l'alimentation en eau des populations humaines et animales pendant au moins trois mois de l'année pour les mares naturelles et six à sept mois pour celles qui sont aménagées. Avec le déficit pluviométrique

et ses conséquences sur la végétation, on assiste à une réduction de la capacité de remplissage d'un bon nombre d'entre elles, quand bien même il existe toujours des mares de grandes dimensions même au nord (Tatki et ses alentours). La qualité de l'eau de ces mares s'est aussi beaucoup dégradée du fait de la disparition des modes traditionnels de gestion. Parmi les affections d'origine hydrique, la schistosomose animale et humaine constitue de plus en plus une menace. Pour l'instant, sa prévalence est faible au nord mais les risques de développement et d'extension de cette pathologie sont importants au sud du fait des conditions de plus en plus favorables et de la présence de l'hôte dans certaines mares.

Cette situation montre bien la pertinence du programme d'aménagement des mares initié par l'Anprh. Au-delà de l'activité de surcreusement pour l'augmentation des capacités d'abreuvement, il sera nécessaire de restaurer la fonction écologique des mares par la réintroduction d'espèces végétales locales. La mise en place de cadre et de structures de gestion est aussi nécessaire. Toutes les dispositions doivent être prises vis-à-vis des populations (information et éducation sur les dangers de la maladie) et des techniques appliquées (dispositifs évitant aux animaux de s'abreuver directement dans les mares) pour éviter un développement de la schistosomose humaine et animale.

L'étude a été limitée à une seule saison des pluies pour le suivi de la dynamique, avec des spécificités comme d'ailleurs pour la plupart des saisons des pluies en région sahélienne. Il est donc nécessaire de la poursuivre sur deux à trois années pour mieux comprendre la dynamique des ressources en eaux des mares dans cette partie du Sénégal. A cet effet, il serait aussi nécessaire de prendre en compte les mares de la partie ferrugineuse de la ZSP.

Remerciements

Ce travail a été mené dans le cadre des activités du Pôle pastoral en zones sèches (Ppzs), un groupement d'intérêt scientifique regroupant plusieurs instituts de recherches (Isra, Cirad, UCAD, CSE, ENEA). Nous voudrions donc remercier tous nos collègues pour leur contribution dans l'élaboration de la méthodologie de travail. Nos remerciements vont aussi au Dr G. Gintzburger du Cirad-emvt pour ses suggestions dans la finalisation de l'article, à Mme I. de Zborowski du Cirad-emvt pour l'appui en cartographie, et au Conseil africain de la recherche africaine (Coraf) (Dakar, Sénégal) pour avoir contribué au financement des activités.

BIBLIOGRAPHIE

1. AMBROISE T.P., DESGEORGES P.T., BOUTTAZ M., 1980. Le diagnostic immuno-enzymologique de la fasciolose humaine et bovine. Détection d'anticorps et / ou d'antigènes circulants. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, **60** : 47-60.
2. ANONYME, 1998. Plan stratégique de l'Unité régionale de recherche zone sylvopastorale. Dakar, Sénégal, Isra, 55 p.
3. BA C., 1986. Les Peuls du Sénégal : études géographiques. Dakar, Sénégal, Nouvelle édition africaine, 541 p.
4. BARRAL H., 1982. Le Ferlo des forages : gestion ancienne et actuelle de l'espace pastoral. Etude de géographie humaine. Dakar, Sénégal, Orstom, 85 p.
5. BARRAL H., BENEFICE E., BOUDET G., DENIS J.P., DE WISPELAERE G., DIAITE I., DIAW O.T., DIEYE K., DOUTRE M.P., MEYER J.F., NOEL J., PARENT G., PIOT J., PLANCHENAU D., SANTOIR C., VALENTIN C., VALENZA J., VASSILIADES G., 1983. Systèmes de production d'élevage au Sénégal dans la région de Ferlo : synthèse de fin d'études d'une équipe de recherches pluridisciplinaire. Maisons-Alfort, France, Gerdat-lemvt, 172 p.

6. BOUDET G., 1984. Manuel sur les pâturages tropicaux et les cultures fourragères. Paris, France, ministère des Relations extérieures, 267 p. (Manuels et précis d'élevage)
7. COGELS X., GAC J.Y., 1984. La chlorinité des eaux du lac de Guiers (Sénégal). Bilan quantitatif, qualitatif et perspectives. In : Le lac de Guiers - Problématique d'environnement et de développement. Dakar, Sénégal, UCAD /ISE, p. 41-58.
8. CSE, 1987 à 2002. Bilan du suivi de la végétation (hivernage 1987 à 2002) ; cartes à différentes échelles. Dakar Fann, Sénégal, CSE.
9. DIAW O.T., SEYE M., SEYE M., SARR Y., N'DIAYE T., KABORET Y., DIENG K., SARR Y., 1998. Diagnostic expérimental (Elisa) de la schistosomose ovine au Sénégal. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **51** : 321-325.
10. DIAW O.T., SEYE M.M., SEYE M., SARR Y., VASSILIADES G., 1994. L'immuno-diagnostic de la fasciolose à *Fasciola gigantica* par la technique Elisa au Sénégal. Observation préliminaire chez deux agneaux. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **47** : 291-294.
11. DIAW O.T., VASSILIADES G., SARR Y., SEYE M., 1991. Epidémiologie de la bilharziose intestinale à *S. mansoni* à Richard-Toll (delta du fleuve Sénégal) : étude malacologique. *Bull. Soc. Pathol. exot.*, **84** : 174-183.
12. DIAW O.T., VASSILIADES G., THIONGANE Y., SEYE M., SARR Y., DIOUF A., 1998. Extension des trématodoses du bétail après la construction des barrages dans le bassin du fleuve Sénégal. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **51** : 113-120.
13. DIEME G., 2003. Dynamique des ressources en eau dans la zone sylvopastoral : le cas des mares de la communauté rurale de Thieul (Sud Ferlo). Mémoire maîtrise géographie, Dakar, Sénégal, université Cheikh Anta Diop, 109 p.
14. DIOP A.T., 1984. Inventaire et suivi des ressources en eau du Ferlo Nord (zone pilote du projet Ecosystèmes pastoraux sahéliens). Dakar, Sénégal, Lnerv, 24 p. + cartes.
15. DIOP A.T., 1989. L'aménagement et la gestion des ressources sylvopastorales au nord du Sénégal : le cas de l'aire d'influence du forage de Tatki. Thèse Doct., faculté des sciences, université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal, 138 p.
16. DIOP A.T., THIAM M., DIEME I., TOURE I., DIEME G., TRAORE M., 2004. Les mares de la zone sylvopastoral de Senegal : rôle dans la conservation de la biodiversité et du cadre de vie des populations pastorales. *Flamboyant*, **58**. (sous presse)
17. EUZEBY J., 1958. Diagnostic expérimental des helminthoses animales. Travaux pratiques d'helminthologie vétérinaire. Paris, France, Vigot Frères.
18. GROSMOIRE, 1957. Eléments de politique sylvopastoral au Sahel sénégalais. Saint-Louis, Sénégal, service des Eaux et Forêts, 18 fascicules, 1 093 p.
19. MICHEL P., 1977. Géomorphologie. In : Atlas national du Sénégal. Paris, France, Jeune Afrique, p. 30-32.
20. STANCIOFF A., STALJANSSENS M., TAPPAN G., 1986. Cartographie et télédétection des ressources de la République du Sénégal : Etude de la géologie, de l'hydrologie, des sols, de la végétation et des potentiels d'utilisation. Brookings, SD, USA, Remote Sensing Institute/South Dakota State University, 653 p.
21. THIAM I., 1996. Etude de l'épidémiologie de la schistosomose des petits ruminants dans la zone sylvopastoral (Linguère, Sénégal) et essai de traitement au Praziquantel et au Closantel en système extensif. Thèse vétérinaire, université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal. (N° 37)
22. THIONPONT D., ROCHETTE F., VANPARIJS O.F., 1979. Diagnosis helminthiasis through coprological examination. Beerse, Belgium, Jansen Research Foundation, 180 p.
23. VALENZA J., DIALLO A.K., 1972. Etude des pâturages naturels du Nord Sénégal, Etudes agrostologiques. Maisons-Alfort, France, lemvt, 311 p. + 3 cartes.

Reçu le 16.03.2004, accepté le 26.11.2004

Summary

Diop A.T., Diaw O.T., Diémé I., Touré I., Sy O., Diémé G. Ponds of the Sylvopastoral Zone of Senegal: Evolution and Role in Pastoral Populations' Production Strategies

As most Sahelian regions of Africa, the sylvopastoral zone of Senegal (SPZ) is an area where there is an acute problem of water availability even though ponds are abundant. During all the rainy season, these ponds are traditionally used by humans and animals. Their utilization did not decrease in spite of the implementation of a major hydraulic program based on ground water development. These ponds therefore continue to be used up to their last drops. However, more and more changes have been observed in their water holding capacity and in the quality of their water. Human and animal schistosomosis occurrence is currently low, but the mollusk, the intermediate host, and the parasite are present especially in the south of the area studied. Due to increasing difficulties in managing hydraulic works (boreholes and wells), public authorities initiated ten years ago a water implementation program of the watersheds of the area. The paper presents the implementation of this program, in which the improvement of ponds constitutes a major component in SPZ.

Key words: Pond – Water availability – Water balance – Water quality – Sedimentation – Schistosomosis – Senegal.

Resumen

Diop A.T., Diaw O.T., Diémé I., Touré I., Sy O., Diémé G. Abrevaderos de la zona silvo pastoral de Senegal: tendencias evolutivas y papel en las estrategias de producción de las poblaciones pastorales

La zona silvo-pastoral de Senegal, como la mayor parte de las regiones saharianas de Africa, es una zona en donde el problema del agua se presenta con asiduidad. Sin embargo, los abrevaderos son numerosos. Desde el principio hasta el fin de la estación de lluvias, estos son frecuentados por poblaciones humanas y animales y su importancia no ha disminuido a pesar de un importante programa hidráulico basado en la explotación de las aguas subterráneas. Estos abrevaderos continúan así en uso hasta la última gota de agua, mediante diferentes técnicas. Pero se notan, cada vez más, los cambios a nivel de su capacidad de acumulación de agua o de la calidad de ésta. La prevalencia de esquistosomosis humanas y animales es por el momento baja, pero el molusco, el huésped intermediario y el parásito están presentes, principalmente en la parte sur de la zona estudiada. En vista de las dificultades crecientes observadas en la gestión de las obras hidráulicas (perforaciones y pozos), desde hace una década, el poder público inició un programa de recuperación de agua en las reservas. El presente artículo es una contribución al establecimiento de este programa, para el cual el establecimiento de abrevaderos constituye una actividad muy importante en la zona silvo-pastoral.

Palabras clave: Estanque – Disponibilidad del agua – Balance hídrico – Calidad del agua – Sedimentación – Esquistosomosis – Senegal.

Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest

M. Arbonnier

□ En Afrique de l'Ouest, la progression des connaissances en botaniques donne lieu à la production de catalogues d'espèces ou d'ouvrages (flores) par pays. Or la flore d'un pays n'a souvent qu'une validité partielle pour les pays avoisinants, même s'ils présentent des écosystèmes semblables. Les botanistes, forestiers, agronomes ou écologues doivent donc faire appel à divers ouvrages s'ils veulent identifier les espèces rencontrées dans un pays déterminé. Comme cela a été souligné au congrès de l'AETFAT en 2000¹, l'intérêt scientifique et pratique des flores régionales est incontestable pour remédier à ce problème.

L'ouvrage de Michel Arbonnier s'intègre donc parfaitement dans cet objectif puisqu'il présente les espèces ligneuses, en incluant les principales lianes, distribuées dans les zones sèches de toute l'Afrique de l'Ouest. Il est difficile de produire une telle flore en y incluant une liste exhaustive d'espèces et le choix de ces dernières a été pensé de façon à mettre à la disposition des néophytes comme des professionnels l'information la plus pratique et la plus précise possible.

La première remarque qui vient à l'esprit à la lecture de ce livre concerne la facilité avec laquelle il est possible de l'utiliser. Tout d'abord, la qualité des illustrations le rend particulièrement agréable à parcourir

et fait oublier les nombreux ouvrages qui, dépourvus d'illustrations mais pourtant d'un grand intérêt scientifique, sont délaissés par les étudiants. En effet, l'iconographie en général, mais surtout celle de détail concernant les inflorescences et les fruits, qui sont des caractères essentiels pour l'identification des espèces, est excellente et devient un élément essentiel de cette flore.

De plus, si les clés d'identification des espèces peuvent être parfois rebutantes pour des non-initiés, celles remarquablement présentées par M. Arbonnier, en liaison directe avec le glossaire des termes botaniques, invitent le lecteur à une véritable découverte. Établies séparément à partir des principaux caractères morphologiques des espèces (feuilles, fleurs, fruits, épines ou aiguillons), elles sont agrémentées d'illustrations, pictogrammes ou exposants qui rendent la recherche beaucoup plus facile, voire ludique.

La description de chaque espèce, n'occupant qu'une seule page, pourrait laisser penser que les informations données sont restrictives. Bien au contraire, elles vont à l'essentiel dans tous les thèmes permettant de présenter chaque espèce depuis ses particularités morphologiques et écologiques jusqu'à ses utilisations. Ces dernières, bien que très nombreuses et variables selon les pays et les ethnies, sont données de façon synthétique mais suffisamment détaillée pour mettre en évidence l'importance des espèces, les unes par rapport aux autres, dans la vie des populations locales. Un lexique des termes médicaux employés en pharmacopée permet de mieux comprendre les usages des plantes dans la médecine traditionnelle, toujours très développée dans les sociétés africaines et représentant un facteur social très important.

L'abondante bibliographie jointe à ce livre donne toute latitude au lecteur pour

obtenir des compléments d'information dans tous les domaines abordés.

Enfin, et ce détail n'est pas des moindres, cet ouvrage fut publié tout d'abord en français et devient donc abordable pour les scientifiques et gens de terrain du Sud pour lesquels une bibliographie de référence, facilement accessible, fait souvent défaut. Sa traduction récente en anglais permet d'étendre sa portée au monde anglophone, non seulement en Afrique de l'Ouest, mais également en Afrique de l'Est et australe, et élargit donc son intérêt à la plus grande partie du continent africain, dépassant ainsi un cadre purement régional.

Un tel ouvrage, pratique et destiné à un public très varié tout en ayant une grande portée scientifique, invite à la réflexion et à la poursuite de recherches dans les savanes méridionales plus humides qui fourniraient un ensemble complet de la flore ligneuse des écosystèmes de savanes de l'Afrique de l'Ouest.

Le besoin de flores illustrées, tant pour la végétation ligneuse qu'herbacée, est toujours d'actualité et d'autant plus primordial dans un contexte grandissant de connaissance et de conservation de la biodiversité. Des travaux similaires sur la flore, ou les familles dominantes, des pâturages tropicaux par exemple constitueraient des outils précieux pour une meilleure gestion des parcours dans les zones tropicales de l'Afrique.

Pierre POILECOT
Cirad-emvt

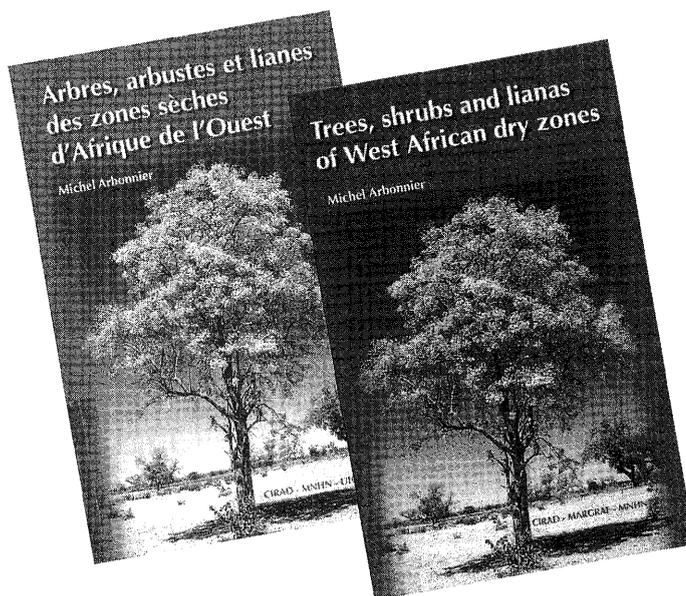
1. TOUTAIN B., DAGET P., POILECOT P., 2002. Représentativité régionale de flores nationales en Afrique de l'Ouest : l'exemple des Poaceae. In: Proc. XVIIth AETFAT Congress, Plant systematics and phytogeography for the understanding of African biodiversity, the National Botanic Garden of Belgium, Meise, 2000. *Syst. Geogr. Plants*, 71: 364-366.

En français : 542 p. ; 16 x 24 cm ; 76 euros
© 2002, 2^e édition
ISBN Cirad: 2-87614-509-X
ISBN Mnhn : 2-85653-546-1

In English:
Trees, Shrubs and Lianas
of West African Dry Zones
576 p., 16 x 24 cm; Price: 76 euros
© 2004
ISBN CIRAD: 2-87614-579-0
ISBN Margraf: 3-8236-1419-3
ISBN MNHN: 2-85653-571-2

Pour commander/To order

La librairie du Cirad
TA 283/04
Avenue Agropolis
34398 Montpellier Cedex 5
France
librairie@cirad.fr



Facteurs de variation de quelques éléments trace (sélénium, cuivre, zinc) et d'enzymes témoins de la souffrance musculaire dans le sérum du dromadaire (*Camelus dromedarius*) aux Emirats arabes unis

R. Seboussi¹ B. Faye^{2*} G. Alhadrami¹

Mots-clés

Camelus dromedarius – Animal de course – Sélénium – Zinc – Cuivre – Créatine kinase – Alanine aminotransférase – Aspartate aminotransférase – Emirats arabes unis.

Résumé

Les effets de l'âge, du sexe, de la race et du statut physiologique sur le sélénium, le cuivre, le zinc, la créatine-kinase (CPK), l'alanine aminotransférase (ALT) et l'aspartate aminotransférase ont été étudiés chez le dromadaire (*Camelus dromedarius*). Au total, 240 animaux, jugés en bonne santé, parmi lesquels 166 de race locale, 68 croisée et 6 soudanaise, ont été choisis aléatoirement au sein d'une population de dromadaires provenant d'un seul troupeau. Ces dromadaires ont été classés en trois groupes d'âge : 2-4 ans, 5-7 ans, et 8 ans et plus. Les animaux ont été alimentés de luzerne, d'un mélange homogénéisé de lentilles, de dates et de soja, et d'un concentré. L'étude n'a indiqué aucun effet de la race sur les paramètres mesurés. Les faibles concentrations en zinc mesurées semblaient être dues à sa faible teneur dans les aliments supplémentés. Des corrélations significatives ont été obtenues entre le sélénium et le cuivre (0,292 ; $p < 0,01$), et entre le sélénium et le zinc (- 0,283 ; $p < 0,01$). Le sexe a montré une influence remarquable à l'exception de l'ALT. Le statut physiologique a affecté toutes les variables mais pas le CPK. L'intégration de ces éléments et la définition de leurs rôles précis chez les dromadaires de course sont d'une importance cruciale.

■ INTRODUCTION

Le dromadaire est un pseudo-ruminant accoutumé à vivre dans les conditions climatiques extrêmes des zones arides et semi-arides grâce à ses particularités anatomiques et physiologiques, utilisant des aliments dont généralement la valeur alimentaire est pauvre. Il reste productif et capable de se reproduire pendant les périodes critiques et limitantes pour les autres ruminants. Pour survivre dans ces conditions difficiles, le dromadaire s'est adapté par des mécanismes de résistance à la sous-nutrition protéique (recyclage de l'urée), énergétique (gestion des réserves adipeuses de la bosse),

hydrique (résistance à la soif), mais aussi minérale (16). Les besoins en minéraux chez les camélidés, en particulier en oligoéléments, sont cependant assez mal connus et estimés souvent sur la base de ceux déjà proposés chez les chevaux et les ruminants. Les données concernant le statut en oligoéléments chez les dromadaires sont donc assez rares d'un point de vue clinique et biochimique. L'insuffisance ou la toxicité clinique a été rarement décrite chez cette espèce. Cependant, il est évident que les camélidés sont sensibles aux désordres dus à des déficits ou des intoxications en oligoéléments comme pour les autres ruminants (15).

Dans les pays du Golfe, en particulier les Emirats arabes unis, les dromadaires de courses sont bien entraînés, de façon similaire aux chevaux Pur-sang destinés à la même activité. L'exercice intensif, particulièrement chez le dromadaire non entraîné, induit des dommages musculaires avec comme conséquence une fuite des enzymes intracellulaires dans la circulation sanguine. Du point de vue clinique, l'évaluation des concentrations de la créatine-kinase

1. Université des Emirats arabes unis, PO Box 16641, Al-Ain, Emirats arabes unis

2. Cirad-emvt, TA 30/A, Campus international de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex, France

* Auteur pour la correspondance

(CPK), de l'alanine aminotransférase (ALT) et de l'aspartate aminotransférase (AST) est d'un intérêt capital pour le diagnostic de la souffrance musculaire. Associés aux éléments traces aux propriétés antioxydantes [sélénium (Se), cuivre (Cu), zinc (Zn)], ces paramètres pourraient être des marqueurs déterminants pour les chameaux de course, mais aussi les femelles gravides et en lactation. Les auteurs se sont donc intéressés aux effets du statut des animaux provenant de troupeaux orientés vers le naissage et l'élevage de dromadaires de course (femelles à différents stades physiologiques, mâles, âge, race) sur les paramètres évoqués ci-dessus, indicateurs de la souffrance musculaire, et les principaux éléments traces que sont le Cu, le Zn et surtout le Se pour lequel on dispose de peu de références chez cette espèce (15).

■ MATERIEL ET METHODES

Animaux

Les animaux provenaient de la ferme d'Al-Ochouche à Al-Ain comprenant 3 000 dromadaires (*Camelus dromedarius*) en élevage intensif de trois races différentes destinés à la course : race locale, soudanaise et animaux métis. Au total, 240 animaux âgés entre deux et dix ans ont été sélectionnés au hasard pour mener la présente étude. Avant la collecte de sang, un examen général de tous les dromadaires a été effectué et seuls les sujets en bonne santé ont été sélectionnés. Pour écarter les animaux atteints de trypanosomose, maladie très répandue aux Emirats arabes unis, un diagnostic a été réalisé par trois différents tests : le test au chlorure de mercure, le test d'agglutination et le test par étalement sanguin selon la méthode de Woo (28). Tout animal positif à l'un au moins de ces tests a été écarté. Un examen fécal complémentaire des parasites externes et internes a été établi par la méthode de flottaison selon Soulsby (27). Distribué en deux groupes selon le sexe, l'échantillon comprenait 86 mâles et 154 femelles. Une partie des chamelles étaient gravides ($n = 69$), 56 étaient non gravides et 86 en lactation. Tous les dromadaires ont été identifiés par un numéro attaché au cou. Les animaux mâles ou femelles ont été répartis en trois classes d'âge, respectivement 3-4 ans, 5-7 ans, et 8 ans et plus. Les mâles étaient en majorité de jeunes animaux de moins de 4 ans ($n = 54$) ou des reproducteurs de plus de 8 ans ($n = 32$). Les femelles de moins de 4 ans étaient au nombre de 50. Les effectifs dans les autres classes d'âge étaient respectivement de 88 (classe des 5-7 ans) et 16 (classe des 8 ans et plus).

Les animaux ont été alimentés régulièrement avec une ration à base de luzerne en vert, du concentré du commerce, des dattes et une mixture de trois types de lentilles et ils ont été abreuvés *ad libitum*. Aucun supplément minéral spécifique n'a été apporté durant cette période d'expérimentation à l'exception des apports en sélénium et vitamine E régulièrement introduits dans le concentré du commerce.

Echantillons sanguins

Après désinfection avec de l'alcool iodé sur la partie haute du cou, le sang a été collecté à la veine jugulaire avec une seringue stérile dans deux tubes de 10 ml sans Edta. Ces échantillons ont ensuite été transportés au laboratoire pour les analyses qui ont été réalisées immédiatement après collecte.

Les échantillons collectés ont été centrifugés à 4 300 tours/min pendant 5 min. L'analyse du Se a été réalisée sur le sérum stocké à 4 °C avant les autres analyses selon la méthode de Brown et Watkinson (10). Les autres analyses minérales (Zn, Cu) ont été mises en œuvre après la séparation du sérum en utilisant un spectrophotomètre à absorption atomique, selon la méthode classique de

Bellanger et Lamand (4). Les coffrets utilisés provenaient de la compagnie Dade Boehring (Etats-Unis). L'activité enzymatique de la CK, de l'ALT et de l'AST a été dosée par la méthode préconisée par Bengoumi et coll. (6). Les analyses de ces cinq paramètres ont été réalisées au laboratoire vétérinaire du département agricole à Al-Ain.

L'analyse du Se dans ces échantillons a nécessité la digestion de ces derniers pour détruire les protéines présentes et les aminoacides afin de libérer leurs molécules liées aux protéines. Cette première étape a été réalisée au département privé de H. H. Sheikh Zayed Bin Sultan Al-Nahyan, au centre scientifique des chameaux de course à Al-Ain.

Le concept a été de mélanger dans les six tubes du rotateur d'un digesteur micro-ondes 2 ml du sérum, 6 ml de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) à 30 p. 100, puis 1 ml d'acide nitrique (HNO_3) à 60 p. 100. Les tubes ont été placés dans le rotateur par ordre croissant d'un à six et bien serrés, puis introduits dans l'appareil. Une fois le sérum digéré, il a été versé dans un tube et bien fermé, puis exporté au laboratoire d'analyses d'Al-Salamate, à Al-Ain, pour la détermination du sélénium sérique et ceci avec une torche à plasma (Varian Vista MPX-CCD).

Echantillons des aliments et l'eau

Les compositions minérales des aliments distribués aux dromadaires (luzerne, dattes, concentré, mélange homogénéisé de lentilles) ont été analysées avec la même torche à plasma, mais avec un protocole sensiblement différent (avec digestion préalable des protéines).

Analyse statistique

Les différences entre groupes constitués concernant la teneur en divers éléments ont été testées en utilisant la méthode d'analyse de variance selon la procédure du modèle linéaire généralisé (GLM, SAS, 1988). Si la probabilité (p) était inférieure à 0,05 ($p < 0,05$), les différences entre groupes étaient identifiées comme étant significatives. La corrélation de Pearson entre les éléments analysés a été évaluée. L'analyse statistique s'est rapportée à l'effet de l'âge, du sexe, de l'état physiologique et de la race sur la variabilité en concentration des éléments chimiques analysés (Se, Cu, Zn, CPK, ALT, AST). Les interactions entre les facteurs de variation ont été prises en compte dans les modèles statistiques. Pour obtenir un cercle de corrélations intégrant les profils dans leur ensemble, une analyse en composantes principales a été réalisée avec le logiciel Winstat.

■ RESULTATS

La ration alimentaire s'est avérée pauvre en zinc, mais suffisamment équilibrée en cuivre et sélénium (tableau I). En moyenne, sur les échantillons de plasma, les concentrations ont été de 200 ± 90 ng/ml pour le sélénium, 20 ± 15 µg/100 ml pour le zinc et 60 ± 13 µg/100 ml pour le cuivre. Les valeurs moyennes pour l'AST, l'ALT et le CPK ont été respectivement de $90,2 \pm 4,6$, $18,0 \pm 4,0$ et $86,1 \pm 43$ UI/l. Une variabilité des concentrations du Se, Zn, Cu, ALT et AST a été observée en fonction du stade physiologique des dromadaires, des différences significatives ayant été observées en ces éléments entre les femelles non gravides et gravides. Le CPK, en revanche, n'a pas semblé sensible au stade physiologique des animaux dans les conditions de cet essai (hors saison des courses). La concentration en cuivre sérique est apparue en revanche sensiblement plus faible chez les animaux en lactation, de même que le zinc et l'AST (tableau II). L'âge a été un facteur significatif pour la plupart

Tableau I

Concentrations moyennes du sélénium, du cuivre et du zinc dans la luzerne et l'eau distribuées aux dromadaires

Echantillon	Se (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)
Feuilles	2,29	15,0	27,0
Tiges	2,00	12,0	12,0 **
Mixture *	2,7	11,0	22,0
Eau	0,005	0,003	0,02

* Mélange de feuilles et tiges de luzerne

** Déficient

des variables analysées entre les animaux des groupes 1 et 2 à l'exception du CPK. En revanche, ce même paramètre a chuté de façon très significative chez les dromadaires du groupe 3 (tableau III). Aucune différence n'a été observée entre les trois groupes raciaux, et ce, pour tous les paramètres (tableau IV). A l'exception du CPK, les paramètres étudiés ont présenté des valeurs différentes selon le sexe, les teneurs en AST, ALT et Zn étant plus faibles chez les femelles, alors que celles en Cu et Se sont apparues plus élevées (tableau V). Il existait une interaction significative entre les facteurs sexe et race pour le zinc plasmatique ($p < 0,01$), entre le statut physiologique et la race, pour le zinc ($p < 0,001$), et plus faiblement pour le sélénium et le cuivre ($p < 0,05$), entre l'âge et la race pour le seul sélénium ($p < 0,01$).

Table II

Concentrations moyennes (\pm écart-type) du sérum en Se, Cu, Zn, CPK, ALT et AST selon l'état (statut) physiologique du dromadaire

Statut	Se (ng/ml)	Cu ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	Zn ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	CPK (IU/L)	ALT (IU/L)	AST (IU/L)
Non gravide (n = 56)	138 \pm 47 ^a	60,3 \pm 0,011 ^a	26,8 \pm 2,0 ^a	92,87 \pm 4,00 ^a	18,53 \pm 0,58 ^a	84,57 \pm 1,77 ^a
Gravide (n = 69)	281 \pm 9 ^b	64,8 \pm 0,014 ^a	10,5 \pm 1,5 ^b	84,188 \pm 5,87 ^a	16,71 \pm 0,23 ^b	81,82 \pm 1,91 ^b
En lactation (n = 29)	282 \pm 11 ^b	58,9 \pm 0,20 ^b	1,8 \pm 20,0 ^c	83,517 \pm 8,18 ^a	14,82 \pm 0,57 ^c	78,72 \pm 17,044 ^b

Se : sélénium ; Cu : cuivre ; Zn : zinc ; CPK : créatine-kinase ; ALT : alanine aminotransférase ; AST : aspartate aminotransférase

^{a,b,c} Les indices présents dans la même colonne indiquent une différence significative à $P < 0,05$

Tableau III

Concentrations moyennes du sérum en Se, Cu, Zn, CPK, ALT et AST selon l'âge chez le dromadaire

Age	Se (ng/ml)	Cu ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	Zn ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	CPK (IU/l)	ALT (IU/l)	AST (IU/l)
3-4 (n = 104)	142 \pm 43 ^a	57,8 \pm 1,1 ^a	24,4 \pm 1,5 ^a	97,75 \pm 3,80 ^a	19,05 \pm 0,32 ^a	92,43 \pm 4,90 ^a
5-7 (n = 98)	281 \pm 7 ^b	63,0 \pm 1,2 ^b	6,8 \pm 1,3 ^b	83,99 \pm 4,77 ^a	16,15 \pm 0,25 ^b	80,90 \pm 1,24 ^b
> 8 (n = 38)	129 \pm 8 ^b	55,7 \pm 3,8 ^b	26,7 \pm 3,1 ^a	58,18 \pm 3,99 ^b	19,63 \pm 1,04 ^a	107,63 \pm 112,14 ^a

Se : sélénium ; Cu : cuivre ; Zn : zinc ; CPK : créatine-kinase ; ALT : alanine aminotransférase ; AST : aspartate aminotransférase

^{a,b,c} Les indices présents dans la même colonne indiquent une différence significative à $P < 0,05$

Tableau IV

Concentrations moyennes du sérum en Se, Cu, Zn, CPK, ALT et AST selon la race chez le dromadaire

Race	Se (ng/ml)	Cu ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	Zn ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	CPK (IU/l)	ALT (IU/l)	AST (IU/l)
Local (n = 166)	196 \pm 7 ^a	60,2 \pm 12 ^a	17,1 \pm 1,3 ^a	87,72 \pm 3,57 ^a	17,79 \pm 0,31 ^a	89,41 \pm 3,28 ^a
Métis (n = 68)	197 \pm 8 ^a	58,0 \pm 12 ^a	18,6 \pm 2,4 ^a	81,26 \pm 4,23 ^a	18,33 \pm 0,48 ^a	91,91 \pm 6,70 ^a
Soudan (n = 6)	209 \pm 4,3 ^a	62,1 \pm 7,9 ^a	20,5 \pm 6,3 ^a	86,67 \pm 11,52 ^a	18,33 \pm 0,42 ^a	90,00 \pm 11,45 ^a

Se : sélénium ; Cu : cuivre ; Zn : zinc ; CPK : créatine-kinase ; ALT : alanine aminotransférase ; AST : aspartate aminotransférase

^{a,b,c} Les indices présents dans la même colonne indiquent une différence significative à $P < 0,05$

L'analyse de la matrice des corrélations a indiqué des corrélations positives ou négatives significatives entre la plupart des paramètres, à l'exception du CPK qui, au final, a eu un comportement différent des autres paramètres étudiés (tableau VI). Toutefois, il est intéressant de noter que le sélénium a été corrélé positivement au cuivre plasmatique mais négativement au zinc, à l'AST et à l'ALT, et que le cuivre et le zinc sont apparus globalement en relation inverse. L'analyse du cercle des corrélations (figure 1) montre clairement une opposition entre l'AST et l'ALT, d'une part, et le Cu et le Se, d'autre part, sur le facteur principal, le CPK et le Zn étant mal représentés sur le principal plan factoriel, reflétant la faiblesse des corrélations avec les autres paramètres mesurés.

DISCUSSION

Ont été considérés, dans la présente étude, les facteurs de variation des principaux éléments traces et des enzymes témoins de la souffrance cellulaire. Ces enzymes ont varié généralement sous l'effet de troubles pathologiques divers impliquant une atteinte cellulaire ou d'activités physiques plus ou moins intenses. Les dromadaires élevés pour leur performance sportive ont été prélevés en l'absence d'exercice physique, la saison des courses ayant lieu plus tard dans l'année. Un accent particulier a été mis sur le sélénium car c'est un paramètre sur lequel peu de références existent. La discussion a été organisée autour de chacun des paramètres et des interactions observées.

Enzymes

L'AST et l'ALT, enzymes très utilisées en biochimie clinique, interviennent dans le métabolisme des acides aminés. Chez le dromadaire, et contrairement aux autres ruminants où on les trouve en majorité dans le tissu musculaire, l'AST et l'ALT sont surtout

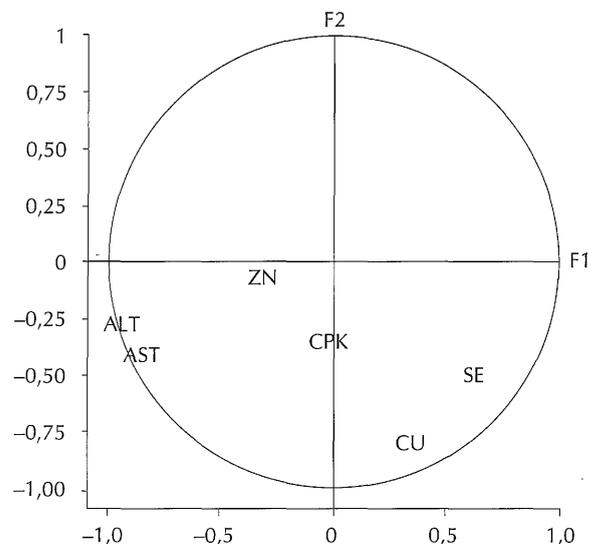


Figure 1 : cercle des corrélations issu d'une analyse en composantes principales. Se : sélénium ; Cu : cuivre ; Zn : zinc ; CPK : créatine-kinase ; ALT : alanine aminotransférase ; AST : aspartate aminotransférase.

présents dans le rein (7). Toutefois, l'augmentation de leur activité plasmatique témoignerait plus d'une atteinte musculaire ou hépatique, alors que l'augmentation de leur activité urinaire indiquerait une atteinte rénale (8). Chez le dromadaire, les valeurs usuelles de l'activité sérique de l'AST et de l'ALT varient respectivement de 37 à 131 UI/l et de 6 à 25 UI/l (6), et les valeurs obtenues ici étaient globalement inscrites dans ce champ de variation. L'âge

Tableau V

Concentrations moyennes du sérum en Se, Cu, Zn, CPK, ALT et AST selon le sexe chez le dromadaire

Sexe	Se (ng/ml)	Cu ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	Zn ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)	CPK (IU/l)	ALT (IU/l)	AST (IU/l)
Male (n = 86)	139 \pm 5 ^a	55,3 \pm 2 ^a	23,9 \pm 1,9 ^a	83,44 \pm 4,00 ^a	19,65 \pm 0,58 ^a	104,26 \pm 7,84 ^a
Femelle (n = 154)	229 \pm 7 ^b	62,0 \pm 8 ^b	14,1 \pm 1,3 ^b	87,22 \pm 3,68 ^a	17,01 \pm 0,20 ^b	82,24 \pm 1,00 ^b

Se : sélénium ; Cu : cuivre ; Zn : zinc ; CPK : créatine-kinase ; ALT : alanine aminotransférase ; AST : aspartate aminotransférase

^{a,b,c} Les indices présents dans la même colonne indiquent une différence significative à P < 0,05

Tableau VI

Matrice des coefficients de corrélation entre Se, Cu, Zn, CPK, ALT et AST

	Se	Cu	ZN	CPK	ALT	AST
Se	1	0,292 **	-0,283 **	-0,64	-0,379 **	-0,184 **
Cu	0,292 **	1	0,074	0,107	-0,096	-0,058
Zn	-0,283 **	0,074	1	-0,003	0,227 **	0,072
CPK	-0,064	0,107	-0,003	1	0,023	0,033
ALT	-0,379 **	-0,096	0,227 **	0,023	1	0,975 **
AST	-0,184 **	-0,058	0,072	0,033	0,795 **	1

Se : sélénium ; Cu : cuivre ; Zn : zinc ; CPK : créatine-kinase ; ALT : alanine aminotransférase ; AST : aspartate aminotransférase

** Le coefficient de corrélation est significatif au niveau p < 0,01

aurait peu d'influence sur le taux normal. Toutefois certains auteurs observent une diminution chez le dromadaire adulte entre 7 et 16 ans (25) ou à partir de 4 ans (20). Le sexe non plus n'aurait pas d'effet sur l'activité plasmatique de l'AST et de l'ALT (6). Toutefois, conformément aux présents résultats, l'activité enzymatique serait plus élevée, selon d'autres auteurs, chez le mâle (20). Ni Elias et Yagil (12), ni Ateeq et coll. (3), ni Bengoumi et coll. (6) n'observent de variations liées au stade de gravidité ou de lactation, ce que ne peuvent confirmer les présents résultats. Il semble que l'exercice maximal augmente significativement le niveau de l'AST mais pas de l'ALT chez les camélidés (8).

En cas de déshydratation, l'AST augmente de 70 p. 100 mais n'a aucun effet sur le niveau de l'ALT (7). Ici, les animaux ayant été abreuvés *ad libitum*, aucune variation observée dans le dispositif ne pouvait être attribuée à ce facteur.

La CK, concentrée surtout dans le tissu musculaire (mais on ne connaît pas sa répartition chez le dromadaire), est un indicateur sensible des atteintes myocardique et musculaire. Chez le dromadaire, les valeurs usuelles sont comprises entre 40 et 120 UI/l (5), ce qui correspond bien aux valeurs trouvées dans la présente étude. En dehors de l'effort physique (8), l'effet des autres facteurs de variation physiologique a très peu été étudié chez le dromadaire. Du reste, à l'exception d'une chute importante de la CK chez les animaux de plus de huit ans, aucune variation n'a été observée chez les animaux étudiés. On peut faire l'hypothèse que les animaux adultes sont moins actifs que les jeunes et, de ce fait, ont une activité musculaire moindre.

Cuivre et zinc

Le taux de cuivre plasmatique est considéré comme un bon reflet de la nutrition en cuivre. Chez les ruminants, les valeurs normales de la cuprémie sont comprises entre 70 et 120 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ (soit 12 et 19 $\mu\text{mol/l}$). La plupart des valeurs observées chez cette espèce oscillent en effet entre ces deux chiffres (15). Globalement, les présents résultats se situent à la limite inférieure de ces valeurs.

On ne relève pas dans la littérature de variations significatives de la cuprémie liées au sexe (1, 5), mais des variations en cours de gravidité ont été rapportées (21), semblables à celles enregistrées chez la brebis : diminution de la cuprémie en fin de gravidité et retour à la normale après le part. Ceci serait dû à un transfert actif des réserves hépatiques mobilisables en cuivre de la mère vers le fœtus. L'âge peut représenter un facteur de variation, mais sa mise en évidence nécessite un protocole rigoureux et les résultats sont plutôt contradictoires : aucune différence significative (5, 13) ou cuprémie plus élevée chez les animaux de plus de 5 ans (24), ce qui semble être le cas du présent échantillon.

A l'instar du cuivre, le zinc plasmatique chez toutes les espèces de ruminants domestiques oscille normalement entre 70 et 120 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ mais à des niveaux plus faibles chez le dromadaire. Les présentes valeurs ont été inférieures à la limite de 40 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ préconisée par Faye et coll. (14). Les zincémies selon l'âge et le sexe ont été peu étudiées. Les jeunes chamelons présentent généralement une zincémie plus élevée (5). Pour Faye et Mulato (13), l'âge représente également un paramètre discriminant du zinc plasmatique. Les plus fortes concentrations en zinc plasmatique chez le jeune seraient dues à l'alimentation lactée qui assure chez toutes les espèces un apport en zinc non négligeable. Il n'a pas été observé non plus de différence sexuelle de la zincémie, bien qu'une diminution significative de celle-ci ait été observée chez la chamelle en fin de gravidité, sans doute du fait d'un transfert actif vers le fœtus dans la dernière période de gravidité (> 6 mois). Dans le présent échantillon, des valeurs particulièrement faibles ont été relevées chez les femelles en lactation sans que des signes

cliniques de carence en zinc aient pu être observés, bien que chez cette espèce ces symptômes n'aient jamais été décrits (15). Chez le lama, les niveaux sériques du Cu et du Zn restent constants de la naissance à la maturité (26). Chez le chameau de bactriane, le taux sérique du Cu atteint des valeurs maximales durant la demi-période de gravidité, contrairement aux concentrations du Zn qui diminuent durant la gravidité (21).

Sélénium

Dans les Emirats arabes unis, où ces données préliminaires ont été rassemblées, les sols et par conséquent les fourrages sont généralement considérés sélénio-déficients et des cas de myocardite dégénérative (figures 2 et 3) sont régulièrement observés. Du reste, tous les concentrés du commerce destinés aux chameaux ont été complétés avec du sélénium sous différentes formes (sélénite de sodium, combinaison de sélénium et vitamine E), le plus souvent mélangés dans un supplément minéral ou un pré-mélange.

Il aurait été d'un grand intérêt d'évaluer également la sélénio-gluthion peroxydase (GSH-PX) et la vitamine E, mais cela n'a pas été possible dans le cadre de ce travail. Les investigations précédentes sur le statut des dromadaires pour les concentrations sériques en

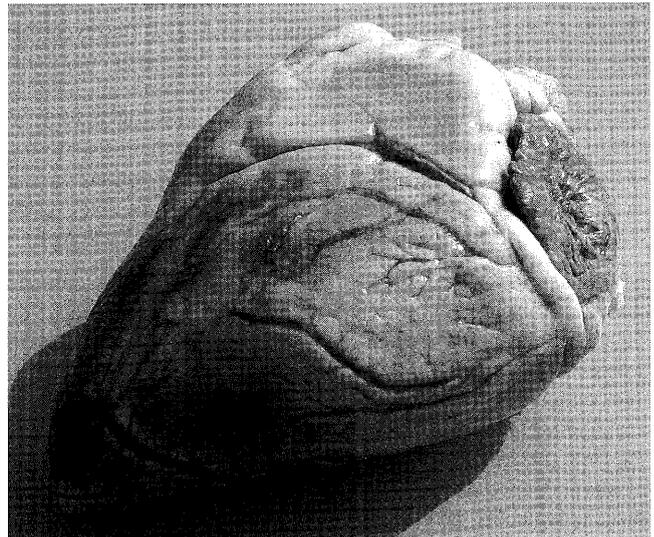


Figure 2 : lésions de dégénérescence musculaire sur un cœur de chamelon d'un mois (Photo : R. Séboussi).



Figure 3 : lésions de dégénérescence musculaire sur un cœur de chamelon d'un mois (Photo : R. Séboussi).

sélénium dans les Emirats sont peu cohérentes. Par ailleurs, chez cette espèce on ne connaît pas très bien le métabolisme du sélénium. L'insuffisance en sélénium a été rapportée chez le dromadaire en Arabie saoudite (2), les Emirats arabes unis, le Maroc (18). Les données actuelles donnent une indication sur l'effet de la grande utilisation des suppléments de sélénium et de vitamine E sur les dromadaires de course aux EAU. En effet, les propriétaires des écuries de course utilisent le sélénium en prévention des déficits, mais sans prendre de précautions, vue la grande toxicité de cet élément, d'autant plus que les doses toxiques ne sont pas bien précisées chez cette espèce (9).

La concentration moyenne du sélénium sérique rapportée dans la littérature est de 100 ng/ml, taux considéré comme suffisant pour le maintien des fonctions métaboliques appropriées. Des concentrations moyennes en sélénium inférieures à 0,1 µg/ml sont considérées adéquates pour les grands animaux (23). Cependant les besoins optimums chez le dromadaire ne sont pas entièrement explorés et aucune référence sérieuse n'est disponible. La plus grande attention portée aux femelles et aux jeunes dans les Emirats (les complémentations en sélénium sont de préférence apportées chez les femelles en gestation pour protéger le fœtus et le chameleon après la naissance) explique sans doute les valeurs plus élevées observées chez les femelles en général et les femelles gravides en particulier.

Chez le dromadaire du Maroc, Hamliri et coll. (17) observent sur sang total, selon les groupes d'âge et le sexe, des valeurs qui oscillent entre 109,1 et 117,8 ng/ml, soit des valeurs similaires à celles relevées chez le mouton dans la même région (18). Aucun effet lié à l'âge ou le sexe n'est rapporté. Des chiffres similaires sont relevés par Liu et coll. (21) en Chine avec des concentrations variant de 97 à 112 ng/ml. Sans préciser s'il s'agit de sang total ou de sérum, Ma (22) avance des valeurs plus élevées : 274 à 288 ng/ml.

Les concentrations sériques se sont rapprochées de ces derniers chiffres : 281 ng/ml en moyenne sur des sérums en provenance du sultanat d'Oman (Faye, données non publiées), mais il s'agissait d'animaux affectés de troubles susceptibles d'être attribués à une intoxication au sélénium. Au Maroc, chez des dromadaires recevant une ration de base assurant les besoins d'entretien, le taux de sélénium plasmatique s'est avéré nettement inférieur, de l'ordre de 21 ng/ml (9). Ces grandes différences peuvent être mises en partie sur le compte des méthodes de dosage pas toujours standardisées. Le taux de sélénium n'est par ailleurs pas sensible au stade physiologique des chamelles. En effet, sa concentration dans le sang total n'augmente pas significativement dans la période du post-partum, passant de 83 ± 40 ng/ml pendant la gravidité à 100 ± 29 après la mise bas (21). Les présents résultats ont donc divergé sur ce point pour les raisons évoquées plus haut. Les besoins en sélénium chez la brebis en lactation augmentent considérablement. Après la naissance, les concentrations en sélénium sont faibles. Ce niveau est dépendant du statut de la mère durant la gravidité. Le besoin métabolique en sélénium chez le dromadaire femelle semble plus élevé que chez le mâle quel que soit son état physiologique (gravide ou en lactation) (11).

Chez les lamas (19), le statut en sélénium n'apparaît pas influencé par la région ou le troupeau. Pendant la gravidité et la parturition, la concentration moyenne sérique en sélénium chez cette espèce est respectivement de 213 et 203 ng/ml, indiquant ainsi l'influence de l'état physiologique sur les niveaux de sélénium. Aucun effet discernable du sexe sur le statut de sélénium n'a été décrit chez cet animal (26).

Enfin, comme pour tous les paramètres précédents, il n'a pas été observé d'effet racial sur les concentrations plasmatiques en sélénium. Du reste, la variabilité génétique chez les dromadaires

apparaît faible et s'appuie le plus souvent sur des considérations purement phénotypiques.

Interactions entre paramètres

La forte corrélation positive entre l'AST et l'ALT est assez classique, ces deux enzymes étant soumis aux mêmes facteurs de variation et témoignant simultanément d'une souffrance cellulaire (6). Seulement 2 p. 100 des individus de l'échantillon ont présenté des valeurs au-dessus des normes admises chez le dromadaire et ces cinq animaux ont eu des concentrations élevées à la fois en AST et en ALT. La CK a été très sensible à l'effort physique des animaux. Ceux-ci ayant été prélevés hors saison des courses, la variabilité est demeurée faible dans l'échantillon. La CK témoigne plutôt de la souffrance cellulaire musculaire alors que l'AST et l'ALT témoignent plutôt de la souffrance hépatique et rénale (6). Parmi les 14 prélèvements ayant cependant présenté des valeurs supérieures aux normes admises chez cette espèce, un seul a eu des taux également élevés en AST et ALT. La corrélation positive entre cuivre et sélénium sérique peut être attribuée à l'effet combiné de l'apport naturel en Cu et Se dans le concentré du commerce distribué aux animaux, à l'inverse du zinc sérique qui semble très peu sensible aux apports (14) au demeurant faibles dans la ration de base. La corrélation négative entre Se et enzymes AST et ALT pourrait être interprétée comme une opposition entre ces paramètres en tant qu'indicateurs de l'intégrité cellulaire. En effet, le Se est un élément essentiel de la protection cellulaire et on peut faire l'hypothèse que les enzymes AST et ALT, indicateurs de la souffrance cellulaire, sont d'autant plus élevés que la concentration en Se est faible. En revanche, CPK peut montrer une intense activité à un stade précoce de la carence en sélénium caractérisée par une dégénérescence musculaire, ce qui n'était pas le cas dans cette étude.

CONCLUSION

Les données collectées dans le cadre de ce travail ont le mérite d'avoir été rassemblées sur un grand nombre d'animaux. En effet, si l'on dispose de quelques données dans la littérature sur les enzymes AST, ALT et CK, ainsi que sur certains éléments traces comme le cuivre et le zinc, on manque cruellement de références sur le sélénium dans une espèce qui, aux Emirats, est réservée pour la performance sportive et pour laquelle la pratique est de fournir parfois en des quantités discutables des compléments minéraux très riches en sel de sélénium. Les résultats présents contribuent donc à construire les références nécessaires pour les animaux de cette région du monde. L'étude montre un certain nombre de relations entre ces paramètres. Celles-ci doivent être clairement décrites, en particulier durant le stress de la course et celui dû à une intense production.

La méconnaissance du métabolisme du sélénium chez le dromadaire incite les auteurs à poursuivre les travaux pour mieux identifier les mécanismes d'absorption, de régulation et d'excrétion, ce qui constitue la future étape de ce travail d'investigation. Ces travaux sont inscrits dans les perspectives que les auteurs essaient de partager avec les professionnels et les universitaires de l'université d'Al-Ain, dans un pays où le dromadaire demeure un animal emblématique.

Remerciements

Les auteurs sont très reconnaissants aux partenaires du laboratoire vétérinaire du département d'Agriculture et du laboratoire privé du Cheikh Khalifa Ben Zayed Al Nehiyani qui ont permis de réaliser les analyses dans les meilleures conditions.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABDALLA O.M., WASFI I.A., GADIR F.A., 1988. The Arabian race normal parameters. I. Haemogram enzymes and minerals. *Comp. Biochem. Physiol.*, **90A**: 237-239.
2. AL-QARAWI A.A., ABBAS B., HAROUN E.M., MAHMOUD O.M., AL-HAWAS A., 2001. Clinicopathological investigation of selenium responsive myopathy in young adult camels. *J. Camel Pract. Res.*, **8**: 23-27.
3. ATEEQ G., KOUIDER S., KOLB E., 1984. Haematology of dromedaries: cell counts, haemoglobin, proteins, urea, cholesterol, AST and ALT. Age and sex variations. *Arch. Exp. vet. Med.*, **38**: 664-675.
4. BELLANGER J., LAMAND M., 1975. Méthodes de dosage du cuivre et du zinc plasmatique. *Bull. Tech. CRZV Theix Inra*, **20** : 53-54.
5. BENGOUMI M., FAYE B., TRESSOL J.C., BENGOUMI D., 1995. Facteurs de variation des indicateurs plasmatiques du statut nutritionnel en oligo-élément chez le dromadaire au Maroc. II. Effet d'une complémentation minérale. *Revue Elev. Méd. vét. Pays. trop.*, **48** : 276-280.
6. BENGOUMI M., FAYE B., EL KHASHMI K., DE LA FARGE F., 1997. Clinical enzymology in the dromedary camel. II. Effects of age, sex, castration, lactation and pregnancy on serum AST, ALT, GGT, AP and LDH activities. *J. Camel Pract. Res.*, **4**: 25-29.
7. BENGOUMI M., FAYE B., DE LA FARGE F., 1998. Clinical enzymology in the dromedary camel. III. Effect of dehydration on serum ALT, AST, GGT, AP and LDH and urine GGT activities. *J. Camel Pract. Res.*, **5**: 119-122.
8. BENGOUMI M., FAYE B., DE LA FARGE F., 1998. Clinical enzymology in the dromedary camel. IV. Effect of exercise on serum AST, ALT, GGT, AP, LDH, and CK activities. *J. Camel Pract. Res.*, **5**: 123-126.
9. BENGOUMI M., ESSAMADI A.K., TRESSOL J.C., CHACORNAC J.P., FAYE B., 1998. Comparative effects of selenium supplementation on the plasma selenium concentration and erythrocyte glutathione peroxidase activity in cattle and camels. *Anim. Sci.*, **67**: 461-466.
10. BROWN M.W., WATKINSON J.H., 1977. An automated fluorometric method for the determination of nanograms quantities of selenium. *An. Chem. Acta*, **89**: 29-35.
11. CORBERA J.A., GUTIERREZ C., MORALES M., MONTEL A., MONTOYA J.A., 2001. Assessment of blood glutathione peroxidase activity in the dromedary camel. *Vet. Res.*, **32**: 185-191.
12. ELIAS E., YAGIL R., 1984. Haematological and serum biochemical values in lactating camels and their newborn. *Refuah Vet.*, **41**: 7-13.
13. FAYE B., MULATO C., 1991. Facteurs de variation des paramètres protéo-énergétiques, enzymatiques et minéraux dans le plasma chez le dromadaire de Djibouti. *Revue Elev. Méd. vét. Pays. trop.*, **44** : 325-334.
14. FAYE B., SAINT-MARTIN G., CHERRIER R., ALI RUFFA M., 1992. The influence of high dietary protein, energy and mineral intake on deficient young camel. II. Changes in mineral status. *Comp. Biochem. Physiol.*, **102A**: 417-424.
15. FAYE B., BENGOUMI M., 1994. Trace-elements status in camels. A review. *Biol. Trace Elem. Res.*, **41**: 1-11.
16. FAYE B., BENGOUMI M., 2000. Le dromadaire face à la sous-nutrition minérale : un aspect méconnu de son adaptabilité aux conditions désertiques. *Revue Sécheresse*, **11** : 155-161.
17. HAMLIRI A., KHALLAAYOUNE K., JOHNSON D.W., KESSABI M., 1990. The relationship between the concentration of selenium in the blood and the activity of glutathione peroxidase in the erythrocytes of the dromedary camel (*Camelus dromedarius*). *Vet. Res. Commun.*, **14**: 27-30.
18. HAMLIRI A., OLSON W.G., JOHNSON D.W., KESSABI M., 1990. Evaluation of biochemical evidence of congenital nutritional myopathy in the two-week prepartum fetuses from selenium-deficient ewes. *J. Am. vet. Med. Assoc.*, **51**: 1112-1115.
19. HERDT T.H., 1995. Blood serum concentrations of selenium in female llamas (*Lama glama*) in relationship to feeding practices, region of the United States, reproductive stage, and health of offspring. *J. Anim. Sci.*, **73**: 337-344.
20. KATARIA N., BHATIA J.S., 1991. Activity of some enzymes in the serum of dromedary camels. *Res. vet. Sci.*, **51**: 174-176.
21. LIU Z.P., MA Z., ZHANG Y.J., 1994. Studies on the relationship between sway disease of bactrian camels and copper status in Gansu Province. *Vet. Res. Commun.*, **18**: 251-260.
22. MA Z., 1995. Studies on sway disease of Chinese bactrian camels. Epidemiological and aetiological aspects. Stockholm, Sweden, International Foundation for Science Project, 17 p.
23. MAAS J., PARISH S.M., HODGSON D.R., 1990. Nutritional myodegeneration. In: Smith B.P. Ed., Large animal internal medicine. St Louis, USA, CV Mosby, p. 1352-1357.
24. MARX W., ABDI H.N., 1983. Serum levels of trace elements and minerals in dromedaries (*Camelus dromedarius*) in South Somalia. *Anim. Res. Dev.*, **17**: 83-90.
25. SALUTINI E., BIAGI G., 1983. GOT, GPT et CPK nel *Camelus dromedarius* somalo di diversa eta e sesso. *Atti. Soc. Sci. Vet.*, **37**: 375-377.
26. SMITH B.B., VAN SUAN R.J., REED P.J., CRAIG A.M., YOUNGBERG A.M.S., 1998. Blood mineral and vitamin E concentration in llamas. *Am. J. vet. Res.*: 1063-1070.
27. SOULSBY E.J.L., 1982. Helminths, arthropods and protozoae of domesticated animals, 7th Edn. London, UK, Bailliere Tindal.
28. WOO P.T.K., 1971. The haematocrit centrifuge technique for the detection of low virulent strains of trypanosomes of *Trypanosoma congolense* subgroup. *Acta. trop.*, **27**: 304-308.

Reçu le 02.06.2004, accepté le 03.12.2004

Summary

Seboussi R., Faye B., Alhadrami G. Variation Factors of Some Trace Elements (Selenium, Copper and Zinc) and Enzymes Indicators of Muscular Fatigue in the Serum of Camels (*Camelus dromedarius*) in the United Arab Emirates

The authors investigated the effects of age, sex, breed and physiological status on selenium (Se), copper (Cu), zinc (Zn), creatine-kinase (CPK), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase in the dromedary (*Camelus dromedarius*). A total of 240 apparently healthy animals, of which 166 were of the local breed, 68 crossbred, and 6 Sudanese, were randomly selected within a camel population originating from the same herd. The camels were divided into age groups: 2-4 years old, 5-7 years old, and 8 years or older. The camels were fed on alfalfa, a lentil mixture, dates and soya beans, in addition to a concentrate. The study revealed no effect of the breed on measured parameters. The lower Zn level found might have been due to lower Zn contents in the supplemented feed. Significant correlations were obtained between Se and Cu (0.292; $P < 0.01$), Se and Zn (-0.0283 ; $P < 0.01$). Sex showed a high significant influence on the measured variables, with the exception of ALT. The physiological status influenced all measures, but not CPK. There is a need to integrate these elements and define their precise role in the racing camel.

Key words: *Camelus dromedarius* – Racing animal – Selenium – Zinc – Copper – Creatine kinase – Alanine aminotransferase – Aspartate aminotransferase – United Arab Emirates.

Resumen

Seboussi R., Faye B., Alhadrami G. Factores de variación de algunos elementos traza (selenio, cobre, zinc) y de enzimas testigo del sufrimiento muscular en el suero de dromedario (*Camelus dromedarius*) en los Emiratos Arabes Unidos

Se estudiaron los efectos de la edad, del sexo, de la raza y del estado fisiológico sobre el selenio, el cobre, el zinc, la creatinina (CPK), la alanina-aminotransferasa (ALT) y el aspartato aminotransferasa, en el dromedario (*Camelus dromedarius*). En total 240 animales, diagnosticados en buena salud, de los cuales 166 de raza local, 68 cruces y 6 sudaneses, se escogieron al azar dentro de una población de dromedarios provenientes de un solo hato. Estos dromedarios fueron clasificados en tres grupos etarios: 2-4 años, 4-7 años y 8 años y más. Estos animales fueron alimentados con alfalfa, una mezcla homogeneizada de lentejas, de dátiles y de soja y de un concentrado. El estudio no indicó ningún efecto de la raza sobre los parámetros estudiados. Las bajas concentraciones de zinc medidas parecen haberse debido a la baja tenencia de los alimentos suplementados. Se obtuvieron correlaciones significativas entre el selenio y el cobre (0,292; $p < 0,01$), y entre el selenio y el zinc ($-0,283$; $p < 0,01$). El sexo mostró una influencia notable, con excepción de la ALT. El estado fisiológico afectó todas las variables, menos el CPK. La integración de estos elementos y la definición de los roles precisos en los dromedarios de carrera es de crucial importancia.

Palabras clave: *Camelus dromedarius* – Animal de carrera – Selenium – Cinc – Cobre – Creatina quinasa – Alanina aminotransferasa – Aspartato aminotransferasa – Emiratos Arabes Unidos.

Production and Health Parameters of N'Dama Village Cattle in Relation to Parasitism in the Guinea Savannah of Côte d'Ivoire

L. Knopf^{1*} C. Komoin-Oka² B. Betschart³
B. Gottstein⁴ J. Zinsstag¹

Key words

N'Dama cattle – Animal production – Parasitism – Côte d'Ivoire.

Summary

The central Guinea savannah of Côte d'Ivoire is a very suitable area for cattle breeding due to the abundance of forage throughout the year; the presence of tsetse flies favors farming of trypanotolerant livestock. Little is known on the productivity and overall health status of N'Dama cattle under traditional farming conditions in the humid savannah of Côte d'Ivoire. This study aimed at investigating productivity parameters (demography, live weight, overall health status) of local N'Dama cattle to generate baseline knowledge on production and health parameters including aspects of ecto- and endoparasitism under traditional farming conditions in this area. In a longitudinal study, three randomly selected village cattle herds were monitored during a period of 20 months. The annual calving rate was $52 \pm 1\%$ (mean and standard error) and the annual cumulative mortality rate of calves under one year of age was $19 \pm 6\%$. Birth weights were 16.5 ± 0.9 kg for males and 15.7 ± 1.1 kg for females. Adult females achieved a mean weight of 198 ± 5 kg. The live weight of young N'Dama cattle showed no significant relationship with tick and gastrointestinal strongyle burdens. N'Dama cattle could be productive in this harsh environment, but the local production of milk and beef was still insufficient to meet consumers' demand. Based on the assessed parameters the authors simulated the potential development of N'Dama cattle breeding in this area over a ten-year period, with the option of increased milk or meat production.

■ INTRODUCTION

In contrast with the more arid savannah areas of West Africa, the central Guinea savannah (or V-Baoulé) of Côte d'Ivoire does not suffer from important forage shortage during the dry season. Since the 1970s the Ivorian government has made considerable efforts to increase local cattle-breeding activities in the area, which is suitable for trypanotolerant livestock production. Trypanosomosis control programs have been run since the 1970s (SODEPRA and later on various local and international NGOs). In this area the tsetse fly pressure is variable and rather low, 0-2.2 flies per trap per day (LANADA, 1998).

Through these efforts, among others, Côte d'Ivoire could improve its beef supply. But, still today, 50% of the red meat consumed have to be imported from Sahelian countries and Europe. Over 85% of dairy products are imported from various countries (FAO statistical databases). Cattle breeding is a welcome secondary activity to diversify cash crop production of coffee and cocoa, subject to continuously dropping prices. But it is also interesting for civil

1. Swiss Tropical Institute, Dept of Public Health and Epidemiology, PO Box, 4002 Basle, Switzerland

2. LANADA, laboratoire central de pathologie animale, PO Box 206, Bingerville, Côte d'Ivoire

3. Institute of Zoology, University of Neuchâtel, rue Emil Argand 11, 2007 Neuchâtel, Switzerland

4. Institute of Parasitology, University of Berne, Länggass-Strasse 122, PO Box, 3001 Berne, Switzerland

* Corresponding Author

Office vétérinaire fédéral, PO Box, CH-3003 Berne, Suisse
Tél.: +41 31 324 39 94; fax: +41 31 323 95 43

E-mail: lea.knopf@bvet.admin.ch

servants and private enterprises in nearby cities. Compared to Northern Côte d'Ivoire, the farmers of the humid savannah have not used cattle draft power so far, particularly because the technical knowledge is still lacking (in the whole area).

Most of the data available on N'Dama productivity in West Africa are from on-station-managed N'Dama cattle in Ghana (21), The Gambia (18), Senegal (7), Burkina Faso (4) and Northern Côte d'Ivoire (20, 10). Except for other climatic conditions, such as those in The Gambia (1, 5, 12, 17, 23) and in Senegal (1, 7), productivity data on N'Dama under traditional management conditions are only available for Northern Côte d'Ivoire (19, 15, 2), where slightly drier climatic conditions prevail. Other studies on productivity of indigenous cattle, such as Mashona cattle or West African Shorthorn breeds, were carried out in Zimbabwe (8) and Benin (9). These authors emphasize that the productivity of indigenous cattle under traditional low input farming systems is underestimated.

Since cattle breeding activities are expected to increase in the central humid savannah area of Côte d'Ivoire and this area is expected to become a center of national dairy production, the veterinary authorities are interested in the production and health parameters of local trypanotolerant N'Dama cattle. The project planning and the fieldwork were carried out in close partnership with LANADA and local farmers.

As the N'Dama breed is considered to be trypanotolerant and should not need additional systematic trypanocidal treatments, the authors focused their work on additional ecto- and endoparasites which might affect production and health. The presented data may also serve as baseline data of traditional village cattle prior to implementation of antiparasitic treatment schemes. Simulation of livestock production was attempted to devise options for production priorities.

■ MATERIALS AND METHODS

This study was carried out in the district of Toumodi, Central Côte d'Ivoire. The main study site, the village of Bringakro, is situated at 6.4° latitude N and 5.1° longitude W. Its humid savannah climate (Guinea savannah) was characterized by annual rainfalls of 1021 mm (1997), 1105 mm (1998), 1231 mm (1999), a mean temperature of 29.6°C (range of monthly mean temperatures: 26.8–34.3°C) and a mean relative air humidity of 72.6% (LAMTO, station géophysique, Taboo, Côte d'Ivoire). There are two rainy seasons (main peak in May/June, minor peak in September/October) and two dry seasons. This area is very suitable for cattle farming in terms of fodder abundance throughout the year. There is hardly any forage shortage and many water ponds are scattered in the area. The V-Baoulé area could be suitable for the development of dairy industry; it is near economically important market places and has also well-developed roads and transport facilities.

All N'Dama cattle herds are managed under traditional conditions: during the day, cattle are led to communal, natural pastures by herdsman or let free, and at night, they are kept in private or communal paddocks throughout the year. With the exception of minerals no other supplementary feeding is given. Various artificial and natural water ponds are accessible within 5 km. Most of the farmers of the village of Bringakro do not practice prophylactic treatment schemes against parasites or other diseases. Veterinary services provide regular vaccinations, but are hardly ever called for other purposes, such as herd health problems and individually sick animals.

A longitudinal cohort study of three cattle herds in the village was carried out from November 1997 to June 1999. The herds were

selected randomly (by lottery, in front of all cattle owners) from a list of the 14 functional night holding paddocks located in the community of Bringakro; the cattle owners were residents of Bringakro. The inclusion criteria were: no acaricide treatment during the study period and consent to participate in the study. No prophylactic herd treatment against any parasite took place. However, during the study period, the authors recorded and treated sick animals individually (severe clinical cases) for ethical reasons.

All animals of the three selected herds ($n = 144$, initially) were ear-tagged. Herd sizes were 36, 50 and 86 cattle at the end of the study. Blood and fecal samples were collected six times between January 1998 and June 1999 (Table I). Blood samples were used for blood smears and dark ground/phase contrast buffy coat microscopy to check for blood parasites. Fecal samples were analyzed by the McMaster technique (eggs per gram feces or epg). As a rapid assessment, ticks were counted monthly on a standard square surface of the dewlap (13) and the herds were visited weekly to collect demographic data (birth, death, offtake). The live weight was measured four times during the study using electronic livestock scales. The calves were weighed at the latest 21 days after birth. The socioeconomic status of cattle breeding in this area was assessed by farmer interviews ($n = 23$) using a questionnaire adapted from Itty (11). These farmers were selected randomly from a list of small-scale cattle breeders in the whole Toumodi area and were asked for their consent to participate in the interviews.

The age of the animals was estimated by dentition, number of calvings and herd history. Young calves, which were born before the start of the study, were not included in the calculation of calf mortality or calving rates. One herd was never milked.

Herd structure and descriptive analysis were calculated with EPI-Info (vers. 6.04, 1997, Centers for Disease Control and Prevention, USA). Herd structures were relative age distributions by sex. The average annual herd structure was expressed as relative frequencies by age and sex.

Table I
Study design

Year	Month	Number of animals sampled			
		Ticks	Blood	Feces	Weight
1997	Dec.	22	0	0	142
1998	Jan.	93	134	130	0
	Feb.	59	0	0	0
	Mar.	63	0	0	0
	Apr.	96	0	0	0
	May	36	132	135	132
	Jun.	108	0	0	0
	Jul.	106	139	133	0
	Aug.	128	0	0	0
	Sep.	103	0	137	0
	Oct.	106	0	0	0
	Nov.*	—	—	—	—
Dec.	82	0	0	0	
1999	Jan.	98	146	137	118
	Feb.	124	0	0	0
	Mar.	74	139	136	0
	Apr.	117	0	0	0
	May	66	141	118	118

* Cattle enclosures damages, no sampling

Calf mortality was analyzed with Proc lifetest and Proc phreg of the package Statistical Analysis Systems (SAS, Cary, NC, USA, vers. 6.12) using proportional hazard regression with the covariates herd and sex. Until the end of the study, censoring was not necessary since no calves were sold or left the herd due to other reasons than natural death. The calving rate was calculated as annual cumulative incidence, assuming mean age at first conception of 41 months (23), as follows:

$$\text{Calving rate}_j = \frac{C_j}{N_j + 0.5(I_j - E_j)}$$

where C_j is the number of calves born in year j ; N_j is the number of reproductive females at the beginning of year j ; E_j are the reproductive females leaving the herd during the year j ; I_j are the immigrating reproductive females during the year j .

Calving frequency was calculated as monthly average of two observation cycles (November-June). In case of a single observation cycle (July-October) the figure represents the total number of births observed. Birth weights of calves were analyzed by a general linear model (SAS, proc glm) with sex and herd as fixed effects. The live weights of animals more than one year of age were analyzed by a mixed model (SAS, proc mixed) with a random effect for the individual animal, nested within herd:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{sex}_i + \text{herd}_j + \text{season}_k + \text{animal}(\text{herd})_{ijk} + e_{ijk}$$

where Y_{ijk} is the live weight of a given age category of animal ijk at the measurement; μ is the overall mean of the live weight; sex_i stands for male or female; herd_j stands for the three different herds; season_k are the four season levels (very dry, little dry, very rainy, little rainy); animal_{ijk} is the random effect of the animals nested within the herd; e_{ijk} is the residual error of the model.

The influence of the tick burden on the live weights of animals younger than four years was analyzed using a general linear model (SAS, proc glm) with the following fixed effects: sex, herd and season. A similar model was used to test the effect of gastrointestinal parasitism (epg positive) on live weight (all animals), containing fixed effects for sex, season, herd, animal, age group, and presence of strongyles; for animals under one year of age the effect of the presence of *Strongyloides papillosus* and *Toxocara vitulorum* was included additionally.

Cattle production estimates for the whole humid savannah area of V-Baoulé (3032 km²) with 14,256 animals in total, including 5308 breeders (ANADER, 1997), were obtained using the public domain, spreadsheet-based Livestock Development Planning System (LDPS2, vers. 2, 1998, Sector Analysis and Policy Branch, FAO, Rome, Italy). Equilibrium herd structures, used for production simulations over 10 years and for ex-ante impact assessments, were obtained by a prerun of the model over a period of 20 years with the observed productivity parameters (Otte, FAO pers. commun.). Ex-ante impact assessments were carried out for the following: a) reduced young stock mortality from 19 to 10%; b) increased fertility from 52 to 75%; and c) increased milk production from 280 l per lactation to 500 l per lactation (simulating the instantaneous replacement of a part of the existing cows by crossbred animals). Stochastic expression of productivity parameters was not possible with LDPS2 macros.

RESULTS

Farmer interviews (n = 23) on the role of cattle breeding indicated that the main role of cattle was its savings function (priority for 81% of the farmers). But herd structures (Figure 1) indicated also market-

oriented sale of young bulls for slaughter (mean age at offtake: 3.5 years). Old females were slaughtered only in case of disease. All other purposes mentioned, such as availability of meat for occasional home consumption and sale of young heifers, were of minor importance. In this area the use of draft oxen was not practiced and animal products, such as hide for the leather industry or manure as fertilizer, were neither used nor commercialized, although most of the cattle owners had crops. All decisions concerning herd management were taken by the owner, who usually hired a Fulbe herdsman to take daily care of the cattle. Some of the cattle were milked and the milk was commercialized exclusively by the Fulbe herdsman for their own benefits.

During the whole study period no cattle was bought. One owner entrusted two young heifers to another herd and two animals had to be put down due to severe disease and accident; no natural death occurred in animals older than 14 months.

The annual calving rate was $52 \pm 1\%$ (mean and standard error) per reproductive female (n = 82). There were two calving peaks during the year (Figure 2), one in March/April and a second one in November. Only two cows calved a second time during the observation period; the calving intervals were 419 (calf alive) and 429 days (first calf died at less than three months of age).

Cumulative calf mortality from birth to one year was $19 \pm 6\%$. All deaths occurred in the first 210 days after birth (Figure 3). Neither sex nor herd differences significantly affected calf survival. The least square means of average birth weights were 16.5 ± 0.9 kg for males and 15.7 ± 1.1 kg for females. Live weight growth curves showed that females reached an adult weight plateau between four and five years (Figure 4). The difference in weights between sexes was significant (p = 0.04) from the age of four years onwards and it was assumed that female maturity was reached then.

Since no prophylactic treatment was applied, the parasite burden in these trypanotolerant cattle could be considered natural: the findings

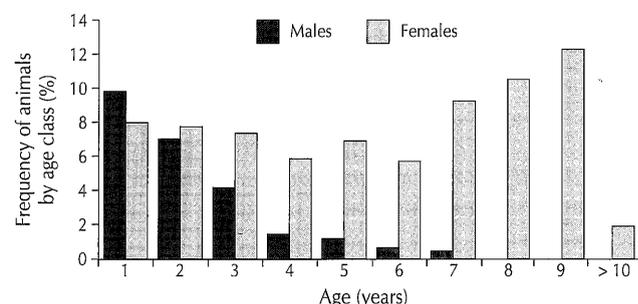


Figure 1: Average annual herd structure of three N'Dama village cattle herds (n = 165 animals) in the Guinea savannah, Côte d'Ivoire.

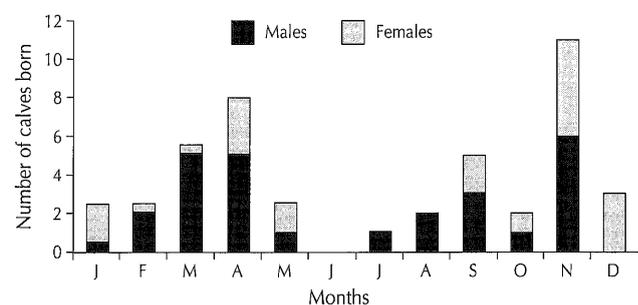


Figure 2: Monthly calving frequency of N'Dama village cattle in the Guinea savannah of Côte d'Ivoire; total number of calves born, n = 60.

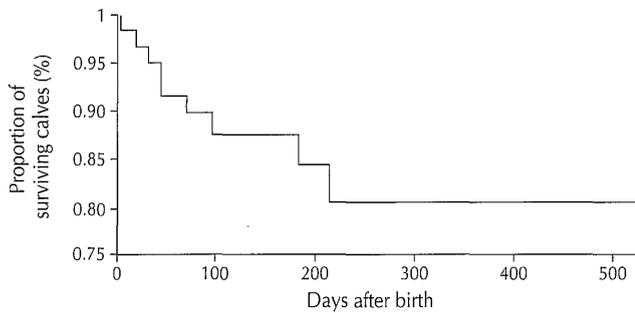


Figure 3: Survival of N'Dama village cattle calves in the first 530-day observation period after birth.

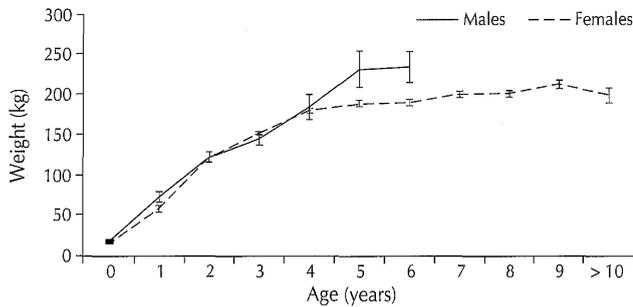


Figure 4: Means of live weight (\pm s.e.) of N'Dama village cattle by sex and age.

of six seasonal samplings gave overall average prevalences of 2.7% for *Trypanosoma brucei* and 1% for *Trypanosoma congolense*. Strongyles were the most common gastrointestinal parasites with an average overall prevalence (epg positive) of $46 \pm 2\%$ in all animals (926 fecal samples), followed by coccidia ($9 \pm 1\%$), *Strongyloides papillosus* ($3 \pm 1\%$), *Moniezia* spp. ($2 \pm 1\%$) and *Toxocara vitulorum* ($2 \pm 0.4\%$).

Strongyloides papillosus was observed in $22.1 \pm 8.6\%$ of calves under one year old, whereas *Toxocara vitulorum* reached a prevalence of $12.3 \pm 5.1\%$. Generally the animals carried low burdens of gastrointestinal parasites, with the exception of some clinical cases in young calves that carried high burdens of *T. vitulorum* (77,600 epg maximum) or *S. papillosus* (26,000 epg maximum). The geometric means of strongyle fecal egg counts decreased from 20 epg in one-year-old cattle to 8 epg at three years and stayed below 9 epg (after the age of five years). There was no significant difference in live weights between animals excreting and not excreting gastrointestinal nematode eggs. Furthermore, all animals carried ticks throughout the year. No significant effect of the tick burden on the weight gain could be shown in animals between 0-24 months ($n = 15$) and animals between 25-48 months ($n = 50$).

Using the estimated productivity parameters, production was then simulated over a ten year period (Table II). Without changing the farming conditions, and using an equilibrium herd structure, animal numbers remain stable at 14,500. The average milk production for human consumption is stable at around 726 tons per year. Meat production stabilizes after ten years at approximately 214 tons per year. If calf mortality could be reduced from the actual 19% to 10%, the animal number would increase moderately by 2100 to a total of 16,600 animals, while estimated annual milk and meat production would increase by 5% (765 tons) and 8% (232 tons), respectively. Increasing the calving rate from the actual 52% to 75% increases average annual milk and meat production by 64% (1194 tons) and 28% (274 tons), respectively, and herd size by 10,000 to 24,500 animals. Improved fertility and reduced mortality combined yield

Table II

Simulation of mean annual milk and meat production over ten years with regard to changes of productivity parameters in N'Dama village cattle herds

	Milk (tons)	Meat (tons)
Baseline production in 10 years	726	214
Mean annual production in 10 years due to:		
Increased fertility, 52 to 75%	1 194	274
Increase of milk production lactation, 250 to 500 l	1 308	214
Reduced mortality, 19 to 10%	766	232
Reduced mortality and increased fertility	1 262	302

a 74% (1262 tons) increase of average annual milk production. Average annual meat production rises by 41% (302 tons) and herd size increases by 14,000 animals to a total of 28,500 animals. Finally, average annual milk production through crossbreeding increases by 80% (1307 tons), while meat production and animal numbers are maintained on baseline level.

■ DISCUSSION

The estimates of production and health parameters in this study were in line with others under comparable conditions (see below), despite the relatively short duration of the observation period. Reports in the literature quote calving rates in N'Dama cattle in West Africa ranging from 28 to 68% in The Gambia (5, 12, 16, 24), of 53% in Senegal (1), 65% in Zaire and 45-48% in Northern Côte d'Ivoire (11, 15). Station-managed N'Dama herds can reach calving rates higher than 70%, which can be mainly explained by a lower age at first calving, (15, 23) and lower calving intervals, which could both be achieved under very good management conditions. The observed biannual calving peak might indicate that nutritional influence on fertility was less important here than in drier savannahs like those in The Gambia (23). Landais et al. (15) also observed a biannual calving peak, although with a slight shift in the peaks as they occurred in October and March in Northern Côte d'Ivoire (drier climate). The estimate of calf mortality (0-1 year) in this study was higher than those observed on station in Senegal (7), Ghana (21), The Gambia (17), but within the range of reported data of village cattle mortality in Northern Côte d'Ivoire (2, 15), Senegal (1) and The Gambia (5). Death in young calves occurred mostly within the first 100 days. Although the authors carried out 12 necropsies, including microscopy of smashed brain smears, the causes of death could not be identified with the techniques available in the field. No pathognomonic signs of ehrlichiosis (due to *Ehrlichia ruminantium*), trypanosomosis or heavy gastrointestinal parasitism were observed – although the serological prevalence of ehrlichiosis is $31 \pm 3\%$ (13) – which may have reflected a certain level of enzootic stability. No correlation of *Ehrlichia* positive serology with mortality could be found, but more data are needed to support such a hypothesis.

In live calves, high fecal egg counts of *S. papillosus* and *T. vitulorum* were found. In contrast with Chartier et al. (3), no significant relationship between the two parasites and calf mortality could be shown. This may also be due to the limited number of calves in

the study. *S. papillosus* and *T. vitulorum* do not seem to be of high importance in dry savannahs as those in The Gambia (22), whereas they may considerably contribute to calf mortality in the humid tropics as reported by Chartier et al. in Zaire (3).

The milking practice of herdsmen, who commercialize milk to gain additional income, can be in competition with the minimal needs of the calf, which may lead to malnutrition, hence to calf's susceptibility to diseases and thus to increased mortality. Since mortality differences between herds were not significant, it was assumed that the milking practice had no major influence on the calf mortality. More detailed investigations on the high calf mortality in village cattle are needed to identify possible causes.

Gastrointestinal nematode fecal egg counts in the study area were moderate despite continuous exposure and transmission throughout the year, which was in line with other data from an abattoir study in the area (14). The continuous transmission might be actually a reason for moderate gastrointestinal parasite burdens, because of the continuous stimulation of the immune system and comparatively good nutritional status throughout the year. The former was supported by the absence of a significant age dependency of fecal egg counts, in contrast with Zinsstag et al. (25, 26), who observed a significant age dependence of fecal egg counts in Gambian N'Dama cattle, where transmission is highly seasonal.

The seasonal epidemiology and the spectrum of ticks on N'Dama village cattle of this area are described in detail by Knopf et al. (13). The present results confirm previous findings, i.e. the live weight and tick burden correlate poorly within groups of animals with varying degrees of tick infestation (Stachurski, pers. commun.). Trials with untreated versus tick control schemes groups are needed to further assess the direct impact of ticks on cattle production in this area.

The productivity simulations of the present study did not include stochastic elements and thus no confidence limits could be computed. Without intervention the Toumodi area could durably produce on average 726 tons of milk and 214 tons of meat per year during a ten-year period.

An improvement of production is needed to meet the increasing demand for milk and meat of large urban centers (Abidjan, Bouaké, Yamoussoukro) near the study area. Among the various options to increase production, increased fertility combined with reduced calf mortality appear to be most promising. But reasons for low fertility and high calf mortality have to be identified and acceptable interventions need to be tested for their profitability prior to implementation. The resulting doubling of the animal number should not affect pasture resources.

Alternatively, milk production could be increased rapidly by crossbreeding, maintaining the animal number on a constant level. Introducing exotic crossbreeds in this area requires improved management strategies, including parasite control and good surveillance of young calves, whose profitability needs to be considered. A new balance must be found between the superior disease resistance of N'Dama cattle and the higher productivity of crossbreeds (26), which are presumably highly susceptible to parasites and other diseases.

CONCLUSION

N'Dama cattle are well adapted to their environment; they are able to resist harsh conditions and multiparasite pressure, and can remain productive even with minimal input. Interventions to increase fertility would be an option to improve N'Dama cattle production, if they are profitable and if natural resources allow an increase of the animal number. When considering crossbreeding to increase milk

production, it is necessary to take into account crossbreeds' higher susceptibility to parasitic diseases and, consequently, higher input costs for disease control and improved management. Moreover, the growing resistance to antiparasitic treatments has to be kept in mind.

Acknowledgments

We thank the field staff for their continuous hard work, the village authorities and the participating farmers of Bringakro for their collaboration. We acknowledge the Centre suisse de recherches scientifiques (CSRS) and its technical staff, Dr B. Bombo, the district veterinarian of Toumodi, and Dr A. Angba, General Director of LANADA, for their good collaboration and helpful comments. We gratefully acknowledge Dr P. Vonatsou's support with statistics. Special thanks to Prof. M. Tanner, Director of the Swiss Tropical Institute, for his continuous institutional support and his helpful advice on different important aspects of the project. We acknowledge the support of the Livestock Development Planning System by Dr J. Otte from FAO, Rome. This study was supported by the Swiss Agency for Development and Cooperation, the Rudolph Geigy-Foundation and the Swiss Tropical Institute.

REFERENCES

1. AGYEMANG K., DWINGER R.H., LITTLE D.A., 1992. A detailed analysis of biological and socio-economic aspects of the productivity of village-based N'Dama cattle subjected to varying degrees of tsetse challenge in The Gambia and Senegal. Addis Ababa, Ethiopia, ILCA, Nairobi, Kenya, ILRAD.
2. CAMUS E., 1981. Evaluation économique des pertes provoquées par la trypanosomose sur quelques types génétiques bovins dans le nord de la Côte d'Ivoire. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **34** : 297-300.
3. CHARTIER C., BUSHU M., CABARET J., 1991. Effets de traitements anthelmintiques stratégiques sur les gains de poids et les mortalités des jeunes bovins en Ituri (Nord-Est Zaire). *Revue Méd. vét.*, **142** : 57-63.
4. CIRDES, 1995. Rapport scientifique et technique de recherche-développement. Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, CirDES, p. 31-38.
5. DWINGER R.H., AGYEMANG K., SNOW W.F., RAWLINGS P., LEPERRE P., BAH M.L., 1994. Productivity of trypanotolerant cattle kept under traditional management conditions in the Gambia. *Vet. Q.*, **16**: 81-86.
6. FALL A., DIACK A., SEYE M., D'ITEREN G.D., 1999. Tsetse challenge, trypanosome and helminth infection in relation to productivity of village N'Dama cattle in Senegal. *Vet. Parasitol.*, **81**: 235-247.
7. FALL A., DIOP M., SANDFORD J., GUEYE E., 1982. Evaluation of the productivities of Djallonké sheep and N'Dama cattle at the Centre de recherches zootechniques, Kolda, Senegal. Addis Ababa, Ethiopia, ILCA, p. 40-70. (Research report No 3)
8. HALL S.J.G., 1998. Traditional livestock in semi-arid North Eastern Zimbabwe: Mashona cattle. *Trop. Anim. Health Prod.*, **30**: 351-360.
9. HALL S.J.G., GNAHO L.K., MEGHEN C., 1995. Une enquête sur la race bovine Somba au Bénin. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **48** : 77-83.
10. HOSTE C., BAUMGART J., CLOE L., POIVEY J.P., 1982. Analyse des performances réalisées à partir de mélasses brutes de cannes à sucre au Centre d'embouche bovine de Ferkessédougou, Côte d'Ivoire. 1. Premiers résultats. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **35** : 265-273.
11. ITTY P., 1990. Economics of village cattle production in tsetse affected areas of Africa. Côte d'Ivoire. Section 3: Traditional trypanotolerant cattle production systems. Constance, Germany, Hartung-Gorre Verlag, p. 157-194.
12. ITTY P., ZINSSTAG J., ANKERS P., NJIE M., PFISTER K., 1997. Productivity and profitability of cattle production in the Gambia. *Q. J. int. Agric.*, **36**: 268-284.
13. KNOPF L., KOMOIN-OKA C., BETSCHART B., JONGEJAN F., GOTSTEIN B., ZINSSTAG J., 2002. Seasonal epidemiology of ticks and aspects of cowdriosis in N'Dama village cattle in the central Guinea savannah of Côte d'Ivoire. *Prev. vet.*, **53**: 21-30.
14. KOMOIN-OKA C., ZINSSTAG J., FOFANA F., N'DEPO A., PANDEY V.S., 2000. Epidémiologie des nématodes gastro-intestinaux des bovins de la région centre de la Côte d'Ivoire. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **53** : 257-262.

15. LANDAIS E., POIVEY J.P., SEITZ J.L., 1980. Recherche sur la reproduction de cheptel taurin sédentaire du nord de la Côte d'Ivoire : utilisation des intervalles entre vêlages ; aspects méthodologiques et premiers résultats. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **33** : 193-204.
16. LEPERRE P., DWINGER R.H., RAWLINGS P., JANNEH L., ZURCHER G., FAYE J., MAXWELL J., 1992. Etude des paramètres zootechniques de la race N'dama en milieu traditionnel villageois en Gambie. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **45** : 55-62.
17. MATTIOLI R.C., JAITNER J., CLIFFORD D.J., PANDEY V.S., VERHULST A., 1998. Trypanosome infections and tick infestations: Susceptibility in N'Dama, Gobra zebu and Gobra x N'Dama crossbred cattle exposed to natural challenge and maintained under high and low surveillance of trypanosome infections. *Acta trop.*, **71**: 57-71.
18. NIJE A., AGYEMANG K., 1991. Performance of station-managed N'Dama herd in the Gambia. *Trop. Anim. Health Prod.*, **23**: 45-54.
19. POIVEY J.P., LANDAIS E., SEITZ J.L., 1980. Utilisation de la barymétrie chez les races taurines locales de Côte d'Ivoire. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **33** : 311-317.
20. ROWLANDS G.J., COULIBALY L., HECKER P.A., D'ITEREN G.D., LEAK S.G., AUTHIE E., 1996. Effect of tsetse control on trypanosome prevalence in livestock: problems of experimental design and statistical interpretation - a case study in Northern Côte d'Ivoire. *Vet. Parasitol.*, **63**: 199-214.
21. TUAH A.K., YAA NYAMAA DANSO, 1985. Preliminary studies on the performance and productivity indices of N'Dama and West African Shorthorn cattle in Ghana. *Trop. Anim. Health Prod.*, **17**: 114-120.
22. ZINSSTAG J., ANKERS P., DEMPFLER L., NJIE M., KAUFMANN J., ITTY P., PFISTER K., PANDEY V.S., 1997. Effect of strategic gastrointestinal nematode control on growth of N'Dama cattle in the Gambia. *Vet. Parasitol.*, **68**: 143-153.
23. ZINSSTAG J., ANKERS P., ITTY P., NJIE M., KAUFMANN J., PANDEY V.S., PFISTER K., 1997. Effect of strategic gastrointestinal nematode control on fertility and mortality of N'Dama cattle in the Gambia. *Vet. Parasitol.*, **73**: 105-117.
24. ZINSSTAG J., ANKERS P., NDAO M., BONFOH B., PFISTER K., 1998. Multiparasitism, production and economics in domestic animals in sub-Saharan West Africa. *Parasitol. Today*, **14**: 46-49.
25. ZINSSTAG J., ANKERS P., NJIE M., SMITH T., PANDEY V.S., PFISTER K., TANNER M., 2000. Heritability of gastrointestinal nematode fecal egg counts in West African village N'Dama cattle and its relation to age. *Vet. Parasitol.*, **89**: 71-78.
26. ZINSSTAG J., ANKERS P., NJIE M., ITTY P., MONSAN V., KAUFMANN J., SMITH T., PANDEY V.S., PFISTER K., 2000. Effect of strategic gastrointestinal nematode control on fecal egg count in traditional West African cattle. *Vet. Res.*, **31**: 259-266.

Reçu le 08.07.2003, accepté le 29.09.2004

Résumé

Knopf L., Komoin-Oka C., Betschart B., Gottstein B., Zinsstag J. Paramètres de production et de santé en relation avec le parasitisme chez les bovins N'Dama villageois en savane guinéenne de la Côte d'Ivoire

La savane guinéenne au centre de la Côte d'Ivoire est une zone propice à l'élevage bovin. Elle est abondante en fourrage durant toute l'année et la présence de la mouche tsé-tsé y favorise l'élevage de cheptel trypanotolérant. Les connaissances de la productivité et de la santé globale des bovins N'Dama dans les conditions d'élevage traditionnel en savane humide de la Côte d'Ivoire sont limitées. Le présent travail a eu pour objectif d'étudier les paramètres de productivité (démographie, poids vif, état de santé général) des bovins N'Dama locaux pour l'établissement d'une base de données sur les paramètres de production et de santé, en incluant les aspects d'ectoparasitisme et d'endoparasitisme, dans les conditions d'élevage traditionnel dans cette zone. Dans une étude longitudinale, trois troupeaux villageois sélectionnés au hasard ont été suivis pendant une période de 20 mois. Le taux moyen de vêlage annuel a été de 52 ± 1 p. 100 (moyenne et écart-type) et le taux de mortalité cumulatif annuel des veaux âgés de moins d'un an a été de 19 ± 6 p. 100. Le poids moyen à la naissance a été de $16,5 \pm 0,9$ kg pour les mâles et $15,7 \pm 1,1$ kg pour les femelles. Les femelles adultes ont atteint en moyenne un poids de 198 ± 5 kg. Aucune corrélation significative n'a été établie entre le poids vif de jeunes bovins N'Dama et la charge de tiques et de strongles gastro-intestinaux. Les bovins N'Dama peuvent être productifs dans cet environnement difficile, mais la production locale de lait et viande reste insuffisante par rapport à la demande des consommateurs. Sur la base des données recueillies, les auteurs ont simulé le développement potentiel de l'élevage de bovins N'Dama dans cette zone sur une période de 10 ans, avec en option l'accroissement de la production laitière ou de viande.

Mots-clés : Bovin N'Dama – Production animale – Parasitisme – Côte d'Ivoire.

Resumen

Knopf L., Komoin-Oka C., Betschart B., Gottstein B., Zinsstag J. Parámetros de producción y de salud del ganado N'Dama de pueblo en relación con el parasitismo en la sabana Guinea de Costa de Marfil

La sabana de Guinea central de Costa de Marfil es un área ideal para la cría de ganado, debido a la abundancia de forraje durante todo el año. La presencia de moscas tsé-tsé favorece la cría de ganado tripano-tolerante. Es poco lo que se sabe sobre la productividad y el estado de salud general del ganado N'Dama bajo las condiciones de cría tradicional en la sabana húmeda de Costa de Marfil. El presente estudio tiene como objetivo la investigación de los parámetros de productividad (demografía, peso vivo, estado de salud general) del ganado N'Dama local, con el fin de generar un conocimiento de base sobre la producción y los parámetros de salud, incluyendo aspectos ecto y endoparasitarios, bajo condiciones de cría tradicionales en esta área. Mediante un estudio longitudinal, se seleccionaron al azar y se siguieron durante un periodo de 20 meses tres hatos de ganado de pueblo. La tasa de parto anual fue de $52 \pm 1\%$ (promedio y desviación estándar) y la tasa de mortalidad anual acumulada de los terneros menores de un año de edad fue de $19 \pm 6\%$. Los pesos al nacimiento fueron de $16,5 \pm 0,9$ kg para los machos y de $15,7 \pm 1,1$ kg para las hembras. Las hembras adultas lograron un peso medio de 198 ± 5 kg. El peso vivo del ganado N'Dama joven no mostró una relación significativa con la carga de estróngilos gastrointestinales y de garrapatas. El ganado N'Dama puede ser productivo en este medio difícil, pero la producción local de leche y de carne fue aún así insuficiente para llenar la demanda de los consumidores. Con base en los parámetros anteriores, los autores simularon el desarrollo potencial de la cría de ganado N'Dama en esta área para un periodo de 10 años, con la opción de un aumento de la producción de leche y de carne.

Palabras clave: Ganado bovino N'Dama – Producción animal – Parasitismo – Côte d'Ivoire.

Effets de l'environnement sur la quantité de lait et les poids corporels des bovins de race Tidili au Maroc

I. Boujenane ^{1*} A. Ghoddane ² M. Benidir ³

Mots-clés

Bovin Tidili – Production laitière – Poids – Facteur du milieu – Maroc.

Résumé

L'étude a porté sur l'analyse de 333 lactations et de 172 à 402 poids à la naissance, à 3 mois, 6 mois, 12 mois, 18 mois et 24 mois des bovins de race Tidili de la station de Timadline à Ouarzazate. Ces données ont été collectées entre 1988 et 2000 sur des vaches de différents numéros de lactation. La moyenne de la quantité de lait par lactation de référence des vaches traitées manuellement en absence du veau a été de 933 kg. Les moyennes des poids des veaux à la naissance, à 3 mois, 6 mois, 12 mois, 18 mois et 24 mois ont été respectivement de 16,2 kg, 34,0 kg, 54,4 kg, 96,4 kg, 141,9 kg et 195,3 kg. La quantité de lait a été influencée par le numéro de lactation, mais pas par la saison de vêlage. Les poids aux différents âges ont été affectés par le sexe du veau et parfois par le numéro de lactation de la mère et la saison de naissance. Il a été conclu qu'il était nécessaire de collecter plus de données sur les bovins de race Tidili afin de mieux déterminer les effets de l'environnement et d'estimer les paramètres génétiques.

■ INTRODUCTION

La population bovine locale au Maroc est de l'ordre de 1,3895 million de têtes (9). Elle est constituée essentiellement des races Brune de l'Atlas, Blonde Oulmès-Zaer, Noir pie de Meknès et Tidili. Bien que cette population dispose de bonnes aptitudes d'adaptation au milieu local, sa représentation dans la population bovine globale n'a cessé de régresser au fil des années en raison de ses faibles performances zootechniques, de l'importation massive des vaches de races améliorées pures et de son utilisation en croisement d'absorption. En l'an 2000, la proportion de la population bovine locale a représenté 54,1 p. 100 de l'effectif global alors qu'elle était de 95 p. 100 en 1969 (4).

1. Département des Productions animales, Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, BP 6202, Rabat-Instituts, 10101 Rabat, Maroc

2. Association nationale des éleveurs bovins, Agdal, Rabat, Maroc

3. Office régional de mise en valeur agricole de Ouarzazate, Ouarzazate, Maroc

*Auteur pour la correspondance

Tél./fax : 212-37-776420

E-mail : i.boujenane@iav.ac.ma

Parmi les races locales, la race Tidili occupe une place importante. En effet, les études qui ont été réalisées sur cette race ont signalé qu'elle produit une quantité de lait relativement plus élevée que celles des autres races locales (6, 7). L'objectif de cette étude a consisté à estimer la quantité de lait traite et les poids corporels des bovins de race Tidili et à déterminer les facteurs de l'environnement qui les influençaient dans la perspective de mettre au point un programme pour l'amélioration génétique de la race.

■ MATERIEL ET METHODES

Présentation de la race Tidili

La race Tidili a été identifiée pour la première fois en 1981 (7). C'est une race locale dont le phénotype est similaire à celui de la race Brune de l'Atlas, mais avec une mamelle plus développée. La robe est de couleur fauve rougeâtre avec une extension variable du noir sur les parties inférieures. Les animaux de race Tidili sont de petite taille. La hauteur au garrot est en moyenne de 108 cm chez la vache et 118 cm chez le taureau. Le poids moyen de la vache est de 285 kg, celui du taureau est de 330 kg. La race Tidili est rencontrée un peu partout dans la province d'Ouarzazate et dans une partie de la province de Taroudant au sud du Maroc, aussi bien en zones montagneuses que dans les oasis (4). Dans son berceau, la race est utilisée essentiellement pour la production de lait mais aussi pour la production de viande. Selon les statistiques du ministère de l'Agriculture, l'effectif de la race Tidili est estimé à 20 000 têtes environ.

Milieu naturel de la station

Le troupeau étudié était élevé dans la station de Timadline. Celle-ci est localisée à 25 km au nord de la ville d'Ouarzazate et à une altitude de 2 200 m. Le climat dominant dans la région est de type continental présaharien avec un été chaud et un hiver froid ou relativement frais. La pluviométrie annuelle moyenne est de 110 mm, mais avec d'importantes variations interannuelles. Les températures sont relativement élevées l'été tandis que les gelées sont fréquentes l'hiver. Les températures moyennes calculées sur 27 ans varient de 6 °C en janvier à 24 °C en août.

Matériel animal et conduite

Le troupeau de la station a été constitué en 1987 à partir de l'achat de 40 vaches et 30 veaux auprès des éleveurs du berceau de la race et fermé au cours de la même année à toute nouvelle introduction. Le but était de disposer d'un noyau qui produirait des géniteurs pour les éleveurs du berceau de la race. L'effectif des vaches a varié selon les années entre 20 et 52 vaches.

Le troupeau a été en permanence en stabulation libre. Le contrôle des chaleurs s'est fait quotidiennement par observation. Les saillies ont été réalisées par monte naturelle. Le seul critère de choix du taureau de saillie a été l'absence de relation de parenté avec la vache à saillir.

Jusqu'en 1996, l'alimentation des vaches était à base de fourrages verts, de foin de luzerne et de paille mélassée complétée par un mélange de pulpe sèche de betterave, d'orge et de tourteaux. Depuis fin 1996, la ration distribuée a été à base de foin de luzerne, de luzerne déshydratée, de pulpe sèche de betterave et de son de blé. La ration alimentaire a été généralement distribuée juste après la traite.

Les veaux étaient séparés de leurs mères dès la naissance. Ils consommaient le colostrum maternel durant les trois premiers jours et étaient le lait résiduel à la fin de chaque traite pendant les trois premiers mois de leur vie. A partir de l'âge de deux mois, les veaux recevaient de petites quantités de concentré et de foin de

luzerne afin de les initier à la rumination et de compenser la baisse de la production laitière de leurs mères.

Le programme prophylactique a porté essentiellement sur la prévention contre la fièvre aphteuse et le dépistage de la tuberculose. Les actions curatives ont été menées surtout contre les maladies infectieuses telles que les mammites, les entérotoxémies et les parasitoses internes et externes.

Contrôles effectués

Les vaches étaient traitées manuellement en absence du veau deux fois par jour (à 7 h et à 16 h) dans des loges individuelles. La production laitière obtenue à chaque traite a été pesée puis rapportée sur la fiche individuelle de la vache. La quantité de lait par lactation de référence a été calculée en additionnant les quantités de lait obtenues aux traites du matin et du soir des 305 premiers jours de lactation. Aucune extrapolation n'a été faite pour les lactations dont la durée a été inférieure à 305 jours. Les veaux nés ont été pesés à la naissance puis une fois par mois. Ces pesées ont été utilisées pour calculer les poids à la naissance, à 3 mois, 6 mois, 12 mois, 18 mois et 24 mois.

Analyses des données

L'étude a porté sur l'analyse de 333 lactations réalisées par 85 vaches dont la durée de lactation a été supérieure à 150 jours et sur un nombre variable entre 172 et 402 performances pondérales des veaux de race Tidili. Ces données ont été collectées de 1988 à 2000. L'analyse de la variance de la quantité de lait a été réalisée par la méthode des moindres carrés selon le modèle incluant les effets fixes du numéro de lactation (sept niveaux : 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 et plus), la saison de vêlage (deux niveaux : janvier-juin et juillet-décembre), l'année de vêlage (13 niveaux : 1988, 1989... 2000), l'interaction « numéro de lactation x année de vêlage » et l'interaction « saison de vêlage x année de vêlage ». Ces interactions ont été celles qui étaient significatives au seuil de 5 p. 100.

Les poids corporels à la naissance, à 3, 6, 12, 18 et 24 mois des veaux ont été analysés par la même procédure selon le modèle incluant les mêmes effets que pour la quantité de lait plus le sexe du veau (deux niveaux : mâle ou femelle) et les interactions du premier ordre qui étaient significatives au seuil de 5 p. 100 et qui étaient variables d'un poids corporel à l'autre.

■ RESULTATS ET DISCUSSION

Moyennes arithmétiques

Les moyennes arithmétiques de la quantité de lait des vaches et des poids corporels à la naissance, à 3, 6, 12, 18 et 24 mois des veaux de race Tidili sont rapportées dans le tableau I. La moyenne de la quantité de lait en 305 jours de lactation des vaches a été de 933 kg avec un coefficient de variation de 33,1 p. 100, témoignant d'une grande variabilité phénotypique au sein de ce troupeau. La quantité de lait obtenue dans cette étude a été presque identique à la quantité de 970 kg trouvée en station (6), mais inférieure à celle de 2 024 kg enregistrée chez les éleveurs du berceau de la race (7). La différence entre ce résultat et celui de la dernière équipe peut être imputée en grande partie à la méthode de traite pratiquée. Dans le cas de la présente étude, la traite a été faite en absence du veau, alors que dans l'autre étude, elle a été pratiquée en présence du veau. Or, chez les vaches locales la sécrétion du lait est favorisée lorsque la traite est faite en présence du veau.

La quantité de lait des vaches de race Tidili a été plus élevée que celle des vaches de race Oulmès-Zaer qui est de 783 kg (2) et de 544 kg (12) par lactation totale. Elle a également été supérieure

Tableau I

Nombre, moyenne arithmétique (MA), écarts-types (ET) et coefficient de variation (CV) de la quantité de lait et des poids corporels des bovins de race Tidili

Caractère	Nb.	MA	ET	CV (%)
Quantité de lait (kg)	333	933	309	33,1
Poids à la naissance (kg)	402	16,2	2,2	13,5
Poids à 3 mois (kg)	316	34,0	8,3	24,4
Poids à 6 mois (kg)	307	54,4	12,7	23,3
Poids à 12 mois (kg)	298	96,4	27	28,0
Poids à 18 mois (kg)	246	141,9	40,3	28,4
Poids à 24 mois (kg)	172	195,3	51,1	26,4

à celle des vaches de race Brune de l'Atlas, traites en absence du veau, qui est de 260 kg par lactation totale (8). Cette quantité de lait fait de la race Tidili la race la plus laitière parmi les trois principales races bovines locales marocaines. Néanmoins, la quantité de lait des vaches de race Tidili est inférieure à celle de la race Sahiwal qui produit 1 502 kg en 305 jours de lactation (11) et à celle de la race Kenana du Soudan qui donne 1 597 kg par lactation totale (13).

Concernant les performances pondérales, les veaux de race Tidili ont pesé en moyenne 16,2 kg à la naissance, 34,0 kg à 3 mois, 54,4 kg à 6 mois, 96,4 kg à 12 mois, 142,0 kg à 18 mois et 195,3 kg à 24 mois. Les veaux de race Tidili ont eu des performances de croissance inférieures à la moyenne des poids des veaux de races Oulmès-Zaer et Brune de l'Atlas qui sont en moyenne de 19,8 kg à la naissance, 53,6 kg à 3 mois, 88,6 à 6 mois et 128,2 kg à 12 mois (4).

Effets des facteurs non génétiques

Le numéro de lactation a eu un effet très significatif sur la quantité de lait par lactation de référence des vaches de race Tidili (tableau II). La quantité de lait a augmenté progressivement jusqu'à la quatrième lactation, a diminué brutalement à la cinquième lactation pour augmenter de nouveau et atteindre son pic au cours de la sixième lactation. L'accroissement de la production laitière en fonction du numéro de lactation a été bien étudié par plusieurs auteurs. L'augmentation jusqu'à la mi-carrière, suivie d'une diminution, a été similaire à celle observée chez les races Sahiwal et Kenana dans les conditions tropicales (1, 10, 13).

L'analyse de la variance n'a pas révélé d'effet significatif de la saison de vêlage sur la quantité de lait par lactation de référence. Cette absence de l'effet de la saison était due au fait que l'alimentation dans la station était uniforme d'une saison à l'autre. Ce résultat est conforme à celui de Wilson et coll. (13), alors qu'il est contraire à celui d'Olsson et Khan (11) qui ont trouvé un effet significatif de la saison sur la quantité de lait par lactation de référence des vaches de race Sahiwal au Pakistan.

L'analyse de la variance a mis en évidence un effet significatif du rang de vêlage sur les poids à la naissance et à six mois (tableaux III et IV). Les veaux issus de vaches adultes ont généralement été plus lourds à la naissance que ceux produits par les vaches primipares. Ceci est lié au fait que les jeunes mères n'ont pas encore atteint leur développement corporel définitif et donc il y a une compétition entre la croissance propre de la mère et celle de son

foetus. L'effet significatif du rang de vêlage sur le poids à la naissance a été observé chez les veaux de race Brune de l'Atlas (3). En revanche, aucun effet significatif de ce facteur n'a été noté sur le poids à la naissance des veaux de race Oulmès-Zaer (5). Les veaux issus des trois premiers vêlages ont réalisés les meilleurs poids à six mois. Cet effet a également été observé chez la race Oulmès-Zaer, mais les meilleurs poids à six mois ont été observés chez les veaux dont les mères avaient un rang de vêlage supérieur ou égal à 4 (5).

Le sexe du veau a eu un effet très significatif sur tous les poids étudiés, sauf le poids à six mois. Les femelles ont légèrement été plus lourdes à la naissance que les mâles. Cet effet significatif du sexe a été observé ailleurs, mais la différence a été en faveur des mâles (3, 5). Pour les autres poids, les mâles ont pesé 0,22 kg, 5,4 kg, 8,9 kg et 12,4 kg de plus que les femelles respectivement à 3 mois, 12 mois, 18 mois et 24 mois. Cette supériorité semble être en relation avec le meilleur rendement énergétique des mâles par rapport aux femelles. Boujenane et coll. (5) ont rapporté que les veaux de race Oulmès-Zaer pèsent 15,9 kg à six mois et 16,4 kg à neuf mois de plus que les femelles.

L'analyse de la variance a également révélé un effet significatif de la saison de naissance sur les poids à la naissance, à 6 mois et à 12 mois, mais non significatif sur les autres poids. Les veaux nés entre janvier et juin ont présenté des poids à la naissance plus élevés que ceux nés entre juillet et décembre, la période la plus critique dans l'alimentation des vaches en fin de gravidité. D'autre part, les veaux nés entre janvier et juillet ont pesé 1,6 kg à 6 mois et 20,4 kg à 12 mois de plus que ceux nés entre juillet et décembre. Le même effet mais avec des saisons de naissance différentes a été constaté sur les poids des veaux de race Oulmès-Zaer (5).

Tableau II

Nombre d'observations et effets du numéro de lactation et de la saison de vêlage sur la quantité de lait des vaches de race Tidili

Effet	Nb.	Diff. ¹ (kg)	MA (kg)
N° lactation			
		**	
1	70	-251,0	832,2
2	75	-222,0	1052,0
3	52	-39,4	1012,0
4	44	15,0	1005,0
5	32	-46,3	893,0
6	26	57,4	843,1
[7 et plus] ²	34	0,0	796,1
Saison de vêlage			
		NS ³	
Janvier-juin	201	125,9	938,1
[Juillet-décembre] ²	132	0,0	932,2

MA : moyenne arithmétique

¹ Estimation de la différence par rapport à la classe de référence

² Classe de référence à partir de laquelle les différences ont été calculées

³ P > 0,05

** P < 0,01

Tableau III

Nombre d'observations et effets du numéro de lactation, du sexe et de la saison de vêlage sur les poids à la naissance, 3 mois et 6 mois des veaux de race Tidili

Effet	Poids à la naissance			Poids à 3 mois			Poids à 6 mois		
	Nb.	Diff. ¹ (kg)	MA (kg)	Nb.	Diff. ¹ (kg)	MA (kg)	Nb.	Diff. ¹ (kg)	MA (kg)
N° lactation		*			NS ³			*	
1	94	-2,81	16,1	58	0,62	32,3	60	5,00	51,9
2	85	-1,35	16,1	76	1,08	34,4	74	5,83	55,5
3	66	-1,00	16,2	56	0,93	34,5	55	4,11	54,8
4	47	-0,07	16,8	39	0,52	32,5	36	-0,99	49,4
5	34	0,55	16,3	26	0,39	35,6	26	2,65	56,3
6	30	-0,23	15,8	24	-0,59	33,8	23	-0,12	57,3
[7 et plus] ²	46	0,00	16,1	37	0,00	35,8	33	0,00	57,8
Sexe		***			*			NS ³	
Femelle	197	0,06	15,8	154	-0,22	33,4	150	-2,08	54,4
Mâle ²	205	0,00	16,6	162	0,00	34,6	157	0,00	54,4
Saison de vêlage		*			NS ³			***	
Janvier-juin	231	3,35	16,3	178	0,38	33,8	169	1,64	52,3
[Juillet-décembre] ²	171	0,00	16,1	138	0,00	34,3	138	0,00	57,0

MA : moyenne arithmétique

¹ Estimation de la différence par rapport à la classe de référence

² Classe de référence à partir de laquelle les différences ont été calculées

³ P > 0,05

* P < 0,05

*** P < 0,001

Tableau IV

Nombre d'observations et effets du numéro de lactation, du sexe et de la saison de vêlage sur les poids à 12 mois, 18 mois et 24 mois des veaux de race Tidili

Effet	Poids à 12 mois			Poids à 18 mois			Poids à 24 mois		
	Nb.	Diff. ¹ (kg)	MA (kg)	Nb.	Diff. ¹ (kg)	MA (kg)	Nb.	Diff. ¹ (kg)	MA (kg)
N° lactation		NS ³			NS ³			NS ³	
1	81	4,77	91,2	74	7,47	128,8	53	-3,26	171,4
2	71	4,16	94,8	56	9,18	141,4	29	4,68	196,1
3	44	6,51	103,6	34	9,59	139,8	26	3,13	177,5
4	32	-0,88	92,1	25	6,29	148,6	17	12,7	210,2
5	23	3,44	99,0	20	4,14	146,5	15	-0,59	209,8
6	20	-2,04	103,5	15	-1,73	156,1	12	0,72	227,2
[7 et plus] ²	27	0,00	102,0	22	0,00	158,2	20	0,00	224,0
Sexe		**			**			*	
Femelle	146	-5,36	95,8	122	-8,86	138,3	82	-12,4	185,1
Mâle ²	152	0,00	97,0	124	0,00	143,6	90	0,00	201,6
Saison de vêlage		*			NS ³			NS ³	
Janvier-juin	168	20,4	95,2	149	-8,10	143,1	99	5,39	192,6
[Juillet-décembre] ²	130	0,00	97,9	97	0,00	137,7	73	0,00	195,2

MA : moyenne arithmétique

¹ Estimation de la différence par rapport à la classe de référence

² Classe de référence à partir de laquelle les différences ont été calculées

³ P > 0,05

* P < 0,05

** P < 0,01

■ CONCLUSION

La race Tidili a semblé avoir une production laitière plus élevée que celles des autres races locales marocaines, mais des poids plus faibles. Ces résultats doivent être considérés comme préliminaires et méritent d'être confirmés sur un grand nombre de données issues d'un contrôle de performances effectué chez les éleveurs de la race.

Remerciements

Nous tenons à remercier les responsables de l'Office régional de mise en valeur agricole d'Ouarzazate qui ont mis les données à notre disposition et le personnel de la station de Timadline qui a pris soin du troupeau.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALIM K.A., 1962. Environmental and genetic factors affecting milk production of Butana cattle in Sudan. *J. Dairy Sci.*, **45**: 242-247.
2. ALUJEVIC M., BOUJLIL L., LOUZ M., 1970. Contribution à l'étude de la production laitière des vaches Oulmès de la mise-bas au 6^e mois (sevrage). Casablanca, Maroc, direction des Services vétérinaires et de l'Élevage, publication de la ferme d'Ain Djemaa.
3. BOUJENANE I., 1983. Etude des paramètres de reproduction des vaches locales marocaines et du poids à la naissance des veaux. Facteurs de variation non génétiques. *Hommes Terre Eaux*, **50** : 81-89.
4. BOUJENANE I., 2002. Les races bovines au Maroc. Rabat, Maroc, Actes Editions, 144 p.
5. BOUJENANE I., OUNIS O., AIT TALEB H., 2000. Effets des facteurs non génétiques sur les performances de croissance des veaux de race Oulmès-Zaer. *Actes Inst. agron. vét.*, **20** : 125-132.
6. EL HAZZAB A., 1997. La vache locale Tidili : performances et perspectives de développement. Mémoire, Ormva, Ouarzazate, Maroc.
7. EZZAHIRI A., OUCHTOU M., DAHBAR M., 1984. La vache laitière Tidili (rapport). Ouarzazate, Maroc, Ormva.
8. LE STUM H., 1974. Premiers résultats d'un essai d'intensification de l'élevage d'une race bovine locale marocaine, la Brune de l'Atlas. *Hommes Terre Eaux*, **11** : 64-83.
9. MADREF, 2001. Enquête élevage. Effectifs des bovins, ovins et caprins. Mars-avril 2000. Rabat, Maroc, direction de la Planification et des Affaires économiques, ministère de l'Agriculture, du Développement rural et des Eaux et Forêts.
10. MOULICK S.K., MCDOWELL R.E., VAN VLECK L.D., GUHA H., 1972. Potential of Deshi cattle of India for dairy production. *J. Dairy Sci.*, **55**: 1148-1155.
11. OLSSON A., KHAN U., 1992. Genetic parameters for milk production traits in Sahiwal cattle, Pakistan. In : 43^e réunion annuelle de la FEZ, Madrid, Espagne, 14-17 sept. 1992.
12. OUKASSOU L., 1973. Les premiers résultats de mesure de la production laitière et de la teneur en matières grasses du lait des vaches de la population d'Oulmès. In : journée d'étude de la Station de recherche zootechnique, El Koudia, Rabat, Maroc.
13. WILSON R.T., WARD P.N., SAEED A.M., LIGHT D., 1987. Milk production characteristics of the Kenana breed of *Bos indicus* cattle in Sudan. *J. Dairy Sci.*, **70**: 2673-2679.

Reçu le 20.03.2003, accepté le 24.08.2004

Summary

Boujenane I., Ghoddane A., Benidir M. Environmental Effects on Milk Yields and Body Weights of Tidili Cattle in Morocco

The analysis concerned 333 milk secretions and 172 to 402 weights at birth, 3, 6, 12, 18 and 24 months of Tidili cattle at Timadline station, Ouarzazate. Data were collected from 1988 to 2000 from cows of different parities. The milk yield during 305 days of lactation of cows hand milked without their calves averaged 933 kg. Average weights of calves at birth, 3, 6, 12, 18 and 24 months were 16.2, 34.0, 54.4, 96.4, 141.9 and 195.3 kg, respectively. The milk yield was affected by the parity, but not by the calving season. Weights at different ages were influenced by the calf sex and in some cases by the dam parity and birth season. It was concluded that more data were necessary in order to better estimate environmental effects and genetic parameters.

Key words: Tidili cattle – Milk yield – Weight – Environmental factor – Morocco.

Resumen

Boujenane I., Ghoddane A., Benidir M. Efectos del medio ambiente sobre la calidad de la leche y los pesos corporales de los bovinos de raza Tidili en Marruecos

El estudio se llevó a cabo con el análisis de 333 lactaciones y de 172 a 402 pesos al nacimiento, a 3 meses, 6 meses, 12 meses, 18 meses y 24 meses de bovinos de raza Tidili en la estación de Timadline en Ouarzazate. Estos datos fueron colectados entre 1988 y 2000 en vacas con diferentes números de lactación. El promedio de la cantidad de leche por lactación de referencia de las vacas ordeñadas manualmente en ausencia de ternero fue de 933 kg. Los promedios de los pesos de los terneros al nacimiento, a 3 meses, 6 meses, 12 meses, 18 meses y 24 meses fueron respectivamente de 16,2 kg, 34,0 kg, 54,4 kg, 96,4 kg, 141,9 kg y 195,3 kg. La cantidad de leche fue influenciada por el número de lactación, pero no por la época de parto. Los pesos a las diferentes edades fueron afectados por el sexo del ternero y algunas veces por el número de lactación de la madre y la época de nacimiento. Se concluyó que es necesario recolectar más datos sobre los bovinos de raza Tidili, con el fin de determinar mejor los efectos del medio ambiente y de estimar los parámetros genéticos.

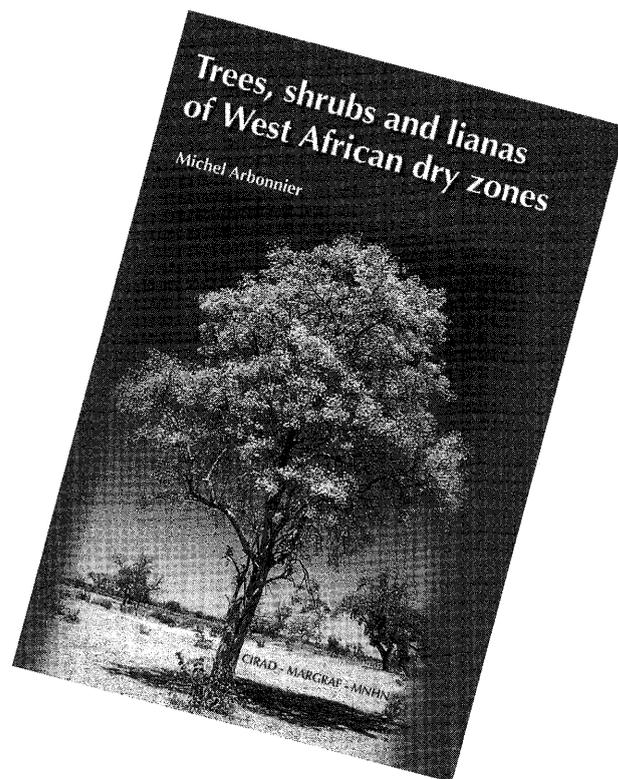
Palabras clave: Ganado bovino Tidili – Producción lechera – Peso – Factor ambiental – Marruecos.

Trees, Shrubs and Lianas of West African Dry Zones*

Michel Arbonnier

This field handbook is the result of over fifteen years' experience of forestry operations. It sets out to fill a gap in the literature available on the flora of the dry zones of West Africa. Its 1300 colour photographs of flowers, fruits, leaves and bark will facilitate identification of each of the 360 species presented. As trees are an integral part of the landscape and have many functions and uses, an up-to-date inventory is also given of the traditional uses of the different parts of plants. The determination keys and descriptive sheets are accessible to non-specialists in botany, be they technicians, teachers or students. This book is a reference for anyone in need of information on the trees and shrubs of the region.

* Published in English. The original (second revised and supplemented) French edition was published in 2002 under the title *Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest*



© 2004
Cirad, Margraf et Muséum national d'histoire naturelle

ISBN CIRAD: 2-87614-579-0;
ISBN Margraf: 3-8236-1419-3;
ISBN MNHN: 2-85653-571-2

576 p., 16 x 24 cm
Price: 76 euros

To order:
La librairie du Cirad
TA 283/04
Avenue Agropolis
34398 Montpellier Cedex 5
France
Fax: +33 (0)4 67 61 55 47
librairie@cirad.fr

Effet de différents niveaux de supplémentation avec *Leucaena leucocephala* sur la croissance pondérale de la chèvre Naine de Guinée

E. Tedonkeng Pamo¹ F. Tendonkeng¹ J.R. Kana¹
P.K. Loyem² E. Tchapgá² F.K. Fotie²

Mots-clés

Caprin – Chèvre Naine de Guinée – *Leucaena leucocephala* – *Trypsacum laxum* – Digestibilité – Croissance – Cameroun.

Résumé

La valeur nutritive et l'effet de trois niveaux de supplémentation avec *Leucaena leucocephala* sur l'évolution pondérale et l'efficacité d'utilisation digestive des matières azotées totales (MAT) ont été évaluées chez la chèvre Naine de Guinée à l'université de Dschang dans l'Ouest Cameroun. Vingt-quatre chèvres réparties en quatre lots de six animaux âgés d'environ deux ans et pesant en moyenne $9,9 \pm 2,1$ kg ont été utilisées. Les animaux des lots supplémentés ont reçu 390 g (lot 2), 780 g (lot 3) et 1 170 g (lot 4) de feuilles fraîches de *L. leucocephala*, correspondant respectivement à 7,1 g, 14,2 g et 21,3 g de MAT par animal et par jour, alors que ceux du lot témoin (lot 1) n'ont reçu aucun supplément. Les pesées ont été réalisées tous les 14 jours pour l'évaluation de la croissance pondérale. Les échantillons de *L. leucocephala* et de *Trypsacum laxum* distribués aux animaux en cage de digestibilité, et les fèces prélevées de ces animaux ont été utilisés pour la détermination de l'efficacité d'utilisation digestive de la MAT. Les résultats ont montré que *L. leucocephala* avait une teneur élevée en nutriments. Les poids moyens des animaux des lots 2 et 3 ont été statistiquement comparables ($P > 0,05$) et significativement supérieurs ($P < 0,05$) à ceux des animaux des lots 1 et 4. Les gains moyens quotidiens des animaux des lots 1, 2, 3 et 4 ont été respectivement de 18 g, 46,7 g, 48,6 g et 10,5 g. Le coefficient de digestibilité apparente de la matière sèche a été de $68,8 \pm 2,2$ p. 100, $70,7 \pm 1,6$ p. 100 et $72,2 \pm 1,1$ p. 100, celui de la MAT de $79,2 \pm 1,3$ p. 100, $72,7 \pm 2,4$ p. 100 et $72,1 \pm 3,1$ p. 100, respectivement pour les animaux ayant reçu 390 g/j, 780 g/j et 1 170 g/j de feuilles fraîches de *L. leucocephala*. Enfin, 390 g de feuilles fraîches, soit 157,6 g de matière sèche de *L. leucocephala*, ont semblé être la quantité optimale à inclure dans la ration de la chèvre Naine de Guinée sans risque d'effet adverse.

■ INTRODUCTION

Au Cameroun comme partout en Afrique tropicale, la production caprine est limitée par de nombreux problèmes parmi lesquels les contraintes alimentaires. Les fourrages sont connus pour leur croissance rapide dans les conditions favorables, conduisant à la production d'importantes quantités de matière sèche, mais dont la qualité diminue rapidement avec l'avancée de la saison sèche (5). On ne dispose ainsi pendant la majeure partie de l'année que d'aliments de faible valeur nutritive. Face à ce problème, la supplémentation de la ration de base devient une nécessité. Le coût élevé et la faible disponibilité des sous-produits agro-industriels

1. Université de Dschang, FASA, département des Productions animales, laboratoire de Nutrition animale, BP 222, Dschang, Cameroun
E-mail : pamo_te@yahoo.fr ; pamo-te@excite.com

2. Université de Dschang, faculté des Sciences, BP 67, Dschang, Cameroun

limitent leurs usages comme supplément pour l'alimentation des petits ruminants surtout chez les petits éleveurs au revenu limité. Des études antérieures dans d'autres régions d'Afrique, d'Asie et d'Amérique du Sud sur l'utilisation des légumineuses, à l'instar du *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, *Calliandra calothyrsus*, *Gliricidia sepium*, montrent que ces dernières sont des sources d'aliments de grande qualité pour les ruminants (1, 13, 14), mais très peu d'informations sur leur niveau optimal d'utilisation existent dans la région de l'Afrique centrale.

Il apparaît donc nécessaire non seulement d'introduire des compléments nutritionnels adaptés et performants mais aussi de chercher à rationaliser leur utilisation. C'est dans cette perspective que cette étude a été entreprise pour évaluer l'effet de trois niveaux de supplémentation avec *L. leucocephala* sur l'évolution pondérale et l'efficacité d'utilisation digestive des matières azotées totales (MAT) de cette légumineuse chez la chèvre Naine de Guinée.

■ MATERIEL ET METHODES

Milieu de l'étude

L'essai a été conduit à la Ferme d'application et de recherche (FAR) de l'université de Dschang, ville située entre 5 et 6° de latitude N, entre 10 et 11° de longitude E et à une altitude d'environ 1 420 m, dans l'Ouest Cameroun. Le climat de la région est équatorial, de type camerounien d'altitude. Les précipitations varient entre 1 500 et 2 000 mm et les températures moyennes oscillent entre un minimum de 10 °C en juillet et août, et un maximum de 25 °C en février. La saison sèche s'étale de la mi-novembre à la mi-mars et la saison des pluies les autres mois de l'année. La végétation originelle est une savane arbustive avec par endroits des forêts galeries.

Les animaux

Vingt-quatre chèvres Naines de Guinée réparties en quatre lots de six animaux équivalents (âges et poids) ont été utilisées pour les essais d'alimentation. Achetées sur les marchés locaux, leur poids moyen au début de l'essai était de $9,9 \pm 2,1$ kg et leur âge, déterminé à partir de leur dentition (4), était d'environ deux ans. L'évaluation de la digestibilité a été réalisée sur neuf chèvres choisies parmi les vingt-quatre précédentes à la fin des essais d'alimentation ; leur poids moyen au moment de l'étude a été de $13,8 \pm 2,6$ kg.

Avant le début des essais, tous les animaux ont été vaccinés contre la peste des petits ruminants et ont reçu des injections d'oxytétracycline longue action, de Pénicilline 400 et de multivitamines. Un déparasitage interne à l'aide de levamisole 10 p. 100 et externe à l'aide de cyperméthrine 10 p. 100 dans un bain détiqueur a été également réalisé.

Quatre loges dans un bâtiment sur pilotis construit en planches ont servi de logement pour les animaux. Pendant toute la durée de l'expérimentation, les chèvres ont été conduites au pâturage tous les matins à partir de 10 h et sont rentrées dans leurs loges entre 17 et 18 h. Pour l'évaluation de la digestibilité, chaque animal a été logé individuellement dans une cage à métabolisme (1,5 m de long, 0,5 m de large et 1,6 m de hauteur).

Conduite de l'essai et collecte des données

L'étude a été conduite de novembre 2000 à février 2001. Elle a commencé par une phase d'adaptation de 14 jours au cours de laquelle les animaux des lots supplémentés ont reçu le supplément à volonté. Le lot 1, groupe témoin, n'a reçu aucun supplément. Pendant les essais proprement dits, 390 g (lot 2), 780 g (lot 3) et 1 170 g (lot 4) de feuilles fraîches, correspondant respectivement à

157,6 g, 315,3 g et 472,9 g de matière sèche (MS), de *L. leucocephala* récoltées sur des parcelles expérimentales de la ferme ont été distribuées juste après la récolte aux animaux des lots supplémentés tous les matins avant leur libération sur les parcours. Les refus de chaque loge ont été pesés tous les matins avant de servir le nouveau supplément. Les animaux du lot témoin (lot 1) ont reçu au même moment une quantité non pesée de fourrage de base. Les parcours de la ferme fréquentés par les animaux étaient dominés par des espèces végétales telles que *Brachiaria ruziziensis*, *Pennisetum purpureum*, *Panicum maximum*, *Setaria* spp., *Vernonia* spp., *Bidens pilosa*, *Sida* spp., *Tithonia diversifolia* et d'autres espèces de moindre importance.

Pour le suivi pondéral, les animaux ont été pesés à jeun tous les 14 jours. Les offres et les refus d'aliments ainsi que les fèces ont été pesés chaque matin avant une nouvelle distribution d'aliments, et un échantillon de 100 g a été prélevé et séché dans une étuve à 60 °C pour les analyses bromatologiques.

Pour l'évaluation de la digestibilité *in vivo*, neuf animaux, soit trois de chacun des lots supplémentés, ont passé 14 jours en cage métabolique dont sept jours de phase d'adaptation. Pendant cette phase, les animaux ont reçu le supplément associé au *Trypsacum laxum*. Pendant la période de collecte des données, chaque animal des lots 2, 3 et 4 a reçu chaque jour tôt le matin (entre 7 et 8 h) respectivement 390 g (157,6 g de MS), 780 g (315,3 g de MS) et 1 170 g (472,9 g de MS) de feuilles fraîches de *L. leucocephala*. Ces animaux ont également reçu 1 700 g de *Trypsacum laxum* et de l'eau à volonté dans leur cage à métabolisme.

Analyse de la valeur nutritive

La MS a été déterminée en séchant 0,5 g d'échantillon à l'étuve pendant une nuit à 100 °C, les cendres par incinération à 500 °C pendant 6 h (2). A partir de la teneur en azote obtenue par la méthode de Kjeldahl, les MAT ont été calculées en multipliant par 6,25. Les fibres ont été déterminées par la méthode de Van Soest et coll. (16).

Analyse statistique

Les données pondérales des chèvres ont été soumises à l'analyse de variance avec deux variables (niveau de supplémentation et période). Lorsque des différences existaient entre les traitements, les moyennes étaient séparées par la méthode de la plus petite différence significative (15).

■ RESULTATS ET DISCUSSION

Composition chimique des feuilles de *L. leucocephala*

L'analyse des feuilles de *L. leucocephala* (tableau I) montre qu'elles contenaient 938 g de MS/kg de matière organique et 282 g de MS/kg de MAT. Ces résultats d'analyse chimique concordent avec ceux d'autres auteurs (3, 5, 6, 7, 12).

La paroi cellulaire, la lignocellulose et la lignine de *Leucaena* ont été respectivement de 432, 292 et 170 g/kg MS. Les teneurs en hemicellulose et cellulose ont été respectivement de 140 et 122 g/kg MS. Les résultats de l'analyse de ces fibres sont similaires à ceux de Kahsay et Tohill (9), et Larbi et coll. (11), et supérieurs à ceux reportés par El Hassan et coll. (5).

Consommation des suppléments

La consommation moyenne du supplément (*L. leucocephala*) et le pourcentage d'azote ingéré aux différentes périodes de l'essai sont

Tableau I

Composition chimique et analyse des fibres des feuilles de *Leucaena*

<i>Leucaena</i> (g/kg de matière sèche)	
Cendres	62
Matière organique	938
Matières azotées totales	282
Paroi cellulaire	432
Lignocellulose	292
Lignine	170
Hémicellulose	140
Cellulose	122
Matières grasses	22
Phosphore	2,9

présentés au tableau II. Pendant les différentes périodes, l'ingestion du supplément a évolué de façon croissante chez les animaux des lots 2 et 3. En revanche, chez les animaux du lot 4 une évolution de l'ingestion a été observée jusqu'à la 6^e semaine et une baisse considérable aux 8^e et 10^e semaines. La forte consommation observée chez les animaux des lots 2 et 3 se rapproche des résultats obtenus par Karbo et Bouner (10) qui dans une étude de préférences de certains ligneux fourragers rapportent que 75 à 80 p. 100 de chèvres consommaient aisément le *L. leucocephala*. En revanche, le faible pourcentage d'ingestion enregistré chez les animaux du lot 4 pourrait s'expliquer par la grande proportion de *Leucaena* dans leur ration. Tout au long de l'essai, l'ingestion moyenne dans ce lot n'a pas excédé 865,5 g de matière fraîche, soit 349,8 g de MS par animal et par jour. Ceci laisse à penser qu'une supplémentation au-delà de 865 g/animal/j de fourrage frais serait un gaspillage puisque les animaux de ce lot ne consommaient en moyenne que les trois quarts de la quantité qui leur était offerte. Par ailleurs, la forte baisse de l'ingestion observée à partir de la huitième semaine, corrélée avec

les pertes de poids observées chez les animaux du lot 4, indique clairement que ce niveau de supplémentation avait des effets néfastes sur la chèvre Naine de Guinée.

Croissance pondérale et gains de poids moyens quotidiens des animaux

L'évolution du poids moyen des animaux en fonction des traitements et de la période est présentée dans le tableau III. De ce tableau, il ressort que les animaux à l'exception du lot 4 ont réalisé une augmentation régulière de poids. Les gains totaux de poids ont été de 1,3 kg, 3,3 kg, 3,4 kg et 0,9 kg respectivement pour les animaux des lots 1, 2, 3 et 4. L'analyse de variance a montré que les poids moyens des animaux des lots 2 et 3 étaient comparables ($P > 0,05$) et significativement supérieurs ($P < 0,05$) à ceux des animaux des lots 1 et 4, ces derniers n'étant pas significativement ($P > 0,05$) différents.

Les gains de poids moyens quotidiens (GMQ) des animaux par traitement et par période présentés à la figure 1 montrent une évolution en dents de scie pour le lot 4. L'évolution chez les animaux des lots 2 et 3 a été semblable alors qu'a été observée une perte de poids chez ceux du lot 1 à la deuxième période, suivie d'une reprise de poids jusqu'à la fin de l'essai. L'essai s'est déroulé

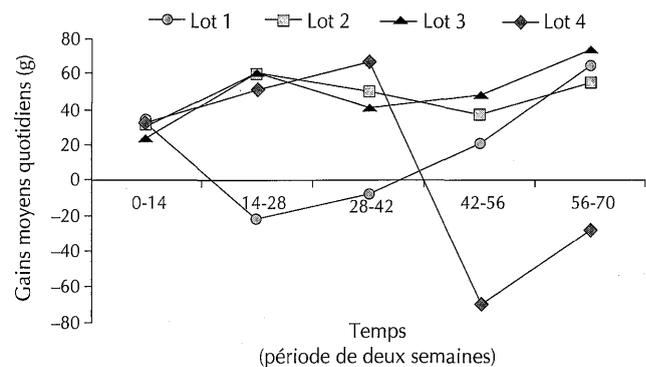


Figure 1 : évolution des gains moyens quotidiens des animaux pendant l'essai.

Tableau II

Quantités moyennes de supplément et d'azote consommées par animal et par jour en essai de supplémentation sur parcours

Quantité offerte (g)	Temps (périodes de 2 semaines)										Moyenne		
	1		2		3		4		5		Ing (g/j)	N (%)	
	Ing (g/j)	N (%)	Ing (g/j)	N (%)	Ing (g/j)	N (%)	Ing (g/j)	N (%)	Ing (g/j)	N (%)			
Lot 2	MF	390	359,0	365,2	382,9	384,1	387,1	375,7 ± 12,7					
	MS	157,6	145,1	147,6	154,7	155,2	156,5	151,8 ± 5,1					
	N	7,1	6,5	91,9	6,6	93,5	7,0	98,1	7,0	98,4	7,0	99,3	6,8 ± 0,2
Lot 3	MF	780	689,6	735,0	746,7	744,8	745,0	732,2 ± 24,3					
	MS	315,3	278,7	297,1	301,8	301,0	301,1	295,9 ± 9,8					
	N	14,2	12,5	88,5	13,4	94,3	13,6	95,8	13,5	95,0	13,5	95,0	13,3 ± 0,4
Lot 4	MF	1170	703,3	835,3	865,5	524,9	484,4	682,7 ± 174,2					
	MS	472,9	284,3	337,6	349,8	212,2	195,8	275,9 ± 70,4					
	N	21,3	12,8	60,4	15,2	71,3	15,7	73,7	9,5	44,9	8,8	41,3	12,4 ± 3,2

Ing : ingestion ; MF : matière fraîche ; MS : matière sèche ; N : azote

Tableau III

Evolution des poids moyens ($\bar{X} \pm \text{écart-type}$) (kg)
par traitement à la fin de chaque période de deux semaines

	Poids initial	14 jours	28 jours	42 jours	56 jours	70 jours
Lot 1	9,9 ± 2,9 ^a	10,4 ± 3,3 ^a	10,1 ± 2,7 ^a	9,9 ± 2,4 ^a	10,2 ± 2,1 ^a	11,2 ± 1,9 ^a
Lot 2	9,8 ± 2,4 ^a	10,3 ± 2,2 ^a	11,1 ± 2,4 ^a	11,8 ± 2,3 ^a	12,3 ± 1,6 ^b	13,1 ± 1,6 ^b
Lot 3	9,9 ± 2,1 ^a	10,2 ± 2,3 ^a	11,0 ± 2,2 ^a	11,6 ± 2,1 ^a	12,3 ± 1,9 ^b	13,3 ± 1,5 ^b
Lot 4	9,9 ± 1,6 ^a	10,4 ± 1,2 ^a	11,1 ± 0,9 ^a	12,0 ± 0,9 ^b	11,0 ± 0,9 ^{ab}	10,6 ± 0,4 ^a

^{a, b} Les moyennes dans la même colonne portant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 p. 100

pendant la saison sèche, période où les parcours sont relativement pauvres. La différence observée entre les gains moyens de poids quotidiens des animaux des lots supplémentés et ceux du lot témoin traduisait l'effet de la supplémentation.

La chute de poids chez les animaux du lot 4 à la quatrième période était en rapport avec la faible ingestion (tableau III) et pouvait être attribuée aux manifestations de l'effet néfaste d'un excès de *L. leucocephala*, dû probablement à la présence de la mimosine contenue dans cette plante qui constituait à ce moment-là la partie la plus importante de la ration de ces animaux. En effet, en plus de la perte d'appétit observée chez les animaux de ce lot pendant cette période, il a également été noté une perte de poil et un affaiblissement général qui sont des symptômes de l'effet de la mimosine sur les animaux (8).

Sur toute la durée de l'essai, les gains moyens quotidiens de 46,7 g, 48,8 g et 10,5 g ont été observés respectivement pour les animaux des lots 2, 3 et 4, contre 18,0 g chez ceux du lot témoin. Les GMQ obtenus avec les lots 1 et 2 ont été supérieurs à ceux de Pamo et coll. (13, 14) qui, en offrant aux jeunes chèvres Naines de Guinée ayant un poids moyen de 11,0 kg en station 390 g de feuilles fraîches de *L. leucocephala* avec du *Trypsacum laxum* et du *Pennisetum purpureum* comme ration de base, ont obtenu un GMQ de 16,1 g chez les animaux supplémentés contre 2,0 g chez ceux du lot témoin. Ces résultats ont été différents de ceux de

Mtenga et Shoo (12) qui ont relevé des GMQ de 23 et 29 g lorsque les chèvres, dont le régime de base était du foin de *Chloris gayana*, étaient supplémentées respectivement avec 100 et 200 g de feuilles séchées de *L. leucocephala*. La différence observée pouvait être due aux différentes quantités de *L. leucocephala* offertes et aussi à la qualité des fourrages de base.

Les résultats de ce travail bien que différents présentent cependant une similitude avec ceux d'Adejumo et Ademosum (1) qui ont obtenu des GMQ de 28,6 g, 30,8 g, 33,1 g et 25,3 g lorsqu'ils supplémentaient les chèvres avec du *L. leucocephala*, en l'occurrence de 20, 40, 60 et 80 p. 100 par rapport à la ration totale. Par ailleurs, la chute importante de poids observée chez les animaux du lot 4 a concordé avec les résultats obtenus par les mêmes auteurs qui, en supplémentant les moutons avec 80 p. 100 de *L. leucocephala* par rapport à la ration totale, ont été obligés d'arrêter les essais à cause de la détérioration de l'état de santé des animaux due à l'effet de la mimosine. De même, les GMQ obtenus avec les animaux du lot 4 (10,5 g) ont été conformes à ceux obtenus par Girdhar et coll. (7) au cours d'un test de résistance à la toxicité de la mimosine chez les chèvres nourries seulement au *L. leucocephala*.

Digestibilité apparente in vivo

Le tableau IV présente l'ingestion moyenne de la matière sèche et des MAT lors des mesures de digestibilité. Il apparaît que

Tableau IV

Ingestion moyenne de la matière sèche, de l'azote, des matières azotées totales et leur excrétion fécale lors des essais de digestibilité *in vivo*

		Lot 2		Lot 3		Lot 4	
		L.I. ¹	T.I. ²	L.I.	T.I.	L.I.	T.I.
Ingestion moyenne	MS/animal/j (g)	157,6 ± 0,0	394,6 ± 5,2	302,1 ± 1,3	381,0 ± 7,2	402,9 ± 1,6	304,0 ± 7,0
	MS (g/kg P ^{0,75})	44,5 ± 0,0	88,5 ± 3,4	72,5 ± 1,2	86,2 ± 4,4	89,9 ± 1,4	72 ± 4,3
	N (g/j)	7,1 ± 0,0	5,9 ± 0,3	13,4 ± 0,4	5,7 ± 0,3	18,1 ± 0,7	5,9 ± 0,2
	MAT (g/j)	44,4 ± 0,0	36,9 ± 1,2	83,7 ± 0,7	35,6 ± 1,7	113,1 ± 1,5	36,9 ± 1,8
Ingestion totale (g/j)	MS	552,2 ± 5,2 ^a		683,1 ± 8,5 ^b		706,9 ± 8,6 ^c	
	N	13,0 ± 0,3 ^a		19,1 ± 0,7 ^b		24,0 ± 0,9 ^c	
	MAT	81,2 ± 1,2 ^a		119,3 ± 2,4 ^b		150,6 ± 3,3 ^c	
Excrétion fécale (g/j)	MS	23,1 ± 1,9 ^a		32,5 ± 7,6 ^b		41,6 ± 1,3 ^c	
	N	2,7 ± 0,3 ^a		5,2 ± 1,2 ^b		6,7 ± 0,2 ^c	

¹ *Leucaena leucocephala*; ² *Trypsacum laxum*

MS : matière sèche ; N : azote ; MAT : matières azotées totales

^{a, b, c} Les moyennes sur les lignes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (p > 0,05)

l'ingestion moyenne de la MS des suppléments et des MAT aussi bien que l'excrétion des MAT ont crû de façon significative ($p < 0,05$) avec l'augmentation de la proportion de *Leucaena* dans la ration des animaux des différents lots.

Les coefficients de digestibilité apparente de la MS et de la MAT obtenus chez les animaux des lots 2, 3 et 4 ont été respectivement de $68,8 \pm 2,2$ p. 100, $70,7 \pm 1,6$ p. 100 et $72,2 \pm 1,1$ p. 100, et de $79,2 \pm 1,3$ p. 100, $72,7 \pm 2,4$ p. 100 et $72,1 \pm 3,1$ p. 100 ; ils n'ont présenté aucune différence significative ($P > 0,05$) et ont concordé avec les observations de Girdhar et coll. (7) qui ont obtenu une digestibilité apparente de la MS comprise entre 66 et 88 p. 100 en servant du *L. leucocephala* frais aux chèvres.

L'effet de la mimosine qui était à la base de la chute de poids s'est observé après un certain temps (sixième semaine) dans le cas de l'étude sur parcours. Or, dans l'étude de la digestibilité en cage, l'essai n'a duré que deux semaines et l'effet de cette substance, qui agit probablement de manière cumulative après un certain temps, n'a pas encore été manifeste. C'est pour cela qu'à ce niveau l'ingestion est restée élevée, comme au début de l'étude sur parcours.

■ CONCLUSION

Cette étude a confirmé la teneur élevée en nutriments de *L. leucocephala*. Ainsi, il est apparu que la supplémentation avec des feuilles fraîches de *Leucaena leucocephala* améliorait significativement ($p < 0,05$) la croissance pondérale de la chèvre Naine de Guinée. Les animaux ayant consommé 390 g (157,6 g de MS) et

780 g (315,3 g de MS) de ce supplément par jour ont réalisé des gains de poids moyens comparables (respectivement 46,7 g et 48,6 g) alors que ceux ayant reçu 1 170 g (472,9 g de MS) de feuilles fraîches du même supplément par jour n'ont réalisé que 10,5 g contre 18,0 g pour les animaux du lot témoin. Les coefficients de digestibilité apparente ont été comparables ($68,8 \pm 2,4$ p. 100, $70,7 \pm 7,3$ p. 100 et $72,2 \pm 1,1$ p. 100) respectivement pour les animaux ayant reçu 390, 780 et 1 170 g de feuilles fraîches de *L. leucocephala* par animal par jour.

Il est apparu qu'avec 390 g (157,6 g de MS) de feuilles fraîches par animal par jour de ce supplément dans une ration riche en énergie, on obtient un GMQ comparable à celui obtenu avec 780 g (315,3 g de MS) de feuilles fraîches du même supplément par animal par jour. Par conséquent, la supplémentation avec 390 g de feuilles fraîches de *L. leucocephala* par animal par jour est non seulement plus économique mais permet aussi à l'animal de réaliser des gains de poids appréciables. En outre, le rôle de cette légumineuse fourragère dans la restauration des sols, la production du bois et son potentiel mellifère sont des atouts pouvant justifier l'intensification de sa vulgarisation à l'Ouest Cameroun en particulier, où la forte densité de la population et l'intensification de l'agriculture n'autorisent plus les jachères de longues durées.

Il serait cependant souhaitable de mener ces travaux en milieu réel et sur une durée beaucoup plus longue pour s'assurer que la supplémentation n'est pas à la longue néfaste pour l'animal. Ces travaux menés sur des chevreaux permettraient d'évaluer à la longue l'impact de la supplémentation sur l'âge et le poids à la puberté et sur son effet à long terme sur la reproduction de ces animaux.

BIBLIOGRAPHIE

- ADEJUMO J.O., ADEMOSUM A.A., 1991. Utilisation of *Leucaena* as supplement for growing dwarf sheep and goats in the humid zone of East Africa. *Small Rumin. Res.*, 5: 75-82.
- AOAC, 1990. Official method of analysis, 15th Edn. Washington DC, USA, Association of Official Analytical Chemists.
- BALOGUN R.O., JONES R.J., HOLMES J.H.G., 1998. Digestibility of some tropical browse species varying in tannin content. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 76: 77-88.
- CORCY J.C., 1991. La chèvre. Paris, France, Maison rustique, 273 p.
- EL HASSAN S.M., LAHLOU KASSI A., NEWBOLD C.J., WALLACE R.J., 2000. Chemical composition and degradation characteristics of foliage of some African multipurpose trees. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 74: 15-28.
- GARCIA G.W., FERGUSON T.U., NECKLES F.A., ARCHIBALD K.A.E., 1996. The nutritive value and forage productivity of *Leucaena leucocephala*. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 60: 29-41.
- GIRDHAR N., LALL D., PATHAK N.N., 1991. Effect of feeding *Leucaena leucocephala* as sole ration on nutrient utilisation and body weight in goats. *J. Agri. Sci.*, 116: 303-307.
- JONES R.J., 1985. *Leucaena* toxicity and ruminal degradation of mimosine. In: Seawright A.A., Hegarty M.P., James L.F., Keeler R.F. Eds, Plant toxicology. Yeerongpilly, Queensland, Australia, Poisonous Plants Committee, p. 111-119.
- KAHSAY BERHE, TOTHILL J.C., 1995. Performance, feed quality and P response of *Leucaena* and *Calliandra* species grown as hedgerows on acidic nitro-sol at Soddo, Ethiopia. *Trop. Grassl.*, 29: 1-8.
- KARBO M.P., BOUNER R., 1993. An evaluation of browse forage preference by sheep and goats in Northern Guinea savannah zone, Ghana. In: Workshop Sustainable feed production and utilization for small holder livestock, AFRANAT, Harare, Zimbabwe, p. 107-109.
- LARBI A., SMITH J.W., KURDU I.O., ADEKUNLE I.O., RAJI A.M., LADIPO D.O., 1998. Chemical composition, rumen degradation, and gas production characteristics of some multipurpose fodder trees and shrubs during wet and dry seasons in humid tropics. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 72: 81-96.
- MTENGA L.A., SHOO R.A., 1990. Growth rate feed intake and utilisation of small East African goats supplemented with *Leucaena leucocephala*. *Small Rumin. Res.*, 5: 9-18.
- PAMO T.E., KENNANG T.B.A., KANGMO M.V., 2001. Etude comparée des performances pondérales des chèvres Naines de Guinée supplémentées au *Leucaena leucocephala*, au *Gliricidia sepium* ou au tourteau de coton dans l'Ouest Cameroun. *Tropicicultura*, 19: 10-14.
- PAMO T.E., TENDONKENG F., KADJIO J.T.T., KWAMI H.N., TABOUM R.K., KANA J.R., TEGODJEU A., 2002. Evaluation of the comparative growth and reproductive performance of West African Dwarf goat in the western highland of Cameroon. In: Proc. Development and field evaluation of animal feed supplementation packages. Final review meeting IAEA technical cooperation regional AFRA project, FAO/IAEA division of nuclear techniques in food and agriculture, Cairo, Egypt, 25-29 Nov. 2000, p. 87-96.
- STEEL R.G., TORRIE J.H., 1980. Principles and procedures of statistics, 2nd Edn. New York, USA, McGraw Hill, 633 p.
- VAN SOEST J.P., ROBERTSON J.B., LEWIS B.A., 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74: 3583-3597.

Reçu le 20.03.2003, accepté le 17.09.2004

Summary

Tedonkeng Pamo E., Tendonkeng F., Kana J.R., Loyem P.K., Tchappa E., Fotie F.K. Effect of Different Levels of Supplementation with *Leucaena leucocephala* on Weight Gains of the West African Dwarf Goat

The nutritional value and the effect of three levels of supplementation with *Leucaena leucocephala* on the weight gains and digestibility efficiency of total crude proteins (TCP) were assessed in West African Dwarf goats at the University of Dschang in West Cameroon. Twenty-four goats, about two years of age and with a mean weight of 9.9 ± 2.1 kg, were divided into four groups of six animals. The goats in the supplemented groups received 390 g (group 2), 780 g (group 3) and 1170 g (group 4) of fresh leaves of *L. leucocephala* corresponding to 7.1, 14.2 and 21.3 g TCP per animal per day, respectively, whereas those of the control group (group 1) did not receive any supplement. Animals were weighed every other week to assess weight gains. *L. leucocephala*, and *Trypsacum laxum* samples were fed to the animals in the metabolic cage and feces from the same animals were used to determine TCP digestibility efficiency. Results showed that *L. leucocephala* had high nutrient contents. The average weights of goats in groups 2 and 3 were statistically similar ($P > 0.05$) and significantly higher ($P < 0.05$) than those of goats in groups 1 and 4. The mean daily weight gains of goats in groups 1, 2, 3 and 4 were 18, 46.7, 48.6 and 10.5 g, respectively. The apparent digestibility coefficient of the dry matter was 68.8 ± 2.2 , 70.7 ± 1.6 and $72.2 \pm 1.1\%$, and that of TCP was 79.2 ± 1.3 , 72.7 ± 2.4 and $72.1 \pm 3.1\%$ for the animals that received 390, 780 and 1170 g per day of fresh leaves of *L. leucocephala*, respectively. Finally, 390 g of fresh leaves (i.e. 157.6 g of dry matter) of *L. leucocephala* seemed to be the optimum quantity to include in the diet of West African Dwarf goats without the risk of side effects.

Key words: West African Dwarf goat – *Leucaena leucocephala* – *Trypsacum laxum* – Digestibility – Growth – Cameroon.

Resumen

Tedonkeng Pamo E., Tendonkeng F., Kana J.R., Loyem P.K., Tchappa E., Fotie F.K. Efecto de los diferentes niveles de suplemento con *Leucaena leucocephala* sobre el crecimiento ponderal en la cabra Enana de Guinea

Se evaluaron el valor nutritivo y el efecto de tres niveles de suplemento con *Leucaena leucocephala*, sobre la evolución ponderal y la eficiencia de utilización digestiva de las materias nitrogenadas totales (MAT) en la cabra Enana de Guinea, en la Universidad de Dschang en el oeste de Camerún. Se utilizaron 24 cabras, distribuidas en cuatro lotes de seis animales, de alrededor de dos años de edad y pesando en promedio $9,9 \pm 2,1$ kg. Los animales de los lotes suplementados recibieron 390 g (lote 2), 780 g (lote 3) y 1170 g (lote 4) de hojas frescas de *L. leucocephala*, correspondientes respectivamente a 7,1 g, 14,2 g et 21,3 g de MAT por animal y por día, mientras que los del lote testigo (lote 1) no recibieron ningún suplemento. Las pesadas se realizaron cada 14 días mediante evaluación del crecimiento ponderal. Las muestras de *L. leucocephala* y de *Trypsacum laxum* distribuidos a los animales en caja de digestibilidad y las heces colectadas de estos animales fueron utilizados para la determinación de la eficiencia de la utilización digestiva de la MAT. Los resultados muestran que *L. leucocephala* tuvo un contenido elevado en nutrientes. Los pesos medios de los animales de los lotes 2 y 3 fueron estadísticamente comparables ($P > 0,05$) y significativamente superiores ($P < 0,05$) a los de los animales de los lotes 1 y 4. Las ganancias de peso cotidianas de los animales de los lotes 1, 2, 3, y 4 fueron 18 g, 46,7 g, 48,6 g y 10,5 g. El coeficiente de digestibilidad aparente de la materia seca fue de $68,8 \pm 2,2\%$, $70,7 \pm 1,6\%$ y $72,2 \pm 1,1\%$, el de la MAT de $79,2 \pm 1,3\%$, $72,7 \pm 2,4\%$ y $72,1 \pm 3,1\%$, respectivamente para los animales que recibieron 390 g/d, 780 g/d y 1170 g/d de hojas frescas de *L. leucocephala*. Finalmente, 390 g de hojas frescas, o sea 157,6 g de materia seca de *L. leucocephala*, pareció ser la cantidad óptima a incluir en la ración de la cabra Enana de Guinea, sin riesgo de efecto adverso.

Palabras clave: Caprino – Cabra Enana de Guinea – *Leucaena leucocephala* – *Trypsacum laxum* – Digestibilidad – Crecimiento – Camerún.

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

La *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* publie trimestriellement des articles et des communications originaux de recherche appliquée, des synthèses sur la santé (pathologie infectieuse et parasitaire) et les productions animales (ressources animales et alimentaires) dans les régions tropicales et subtropicales. Des notes courtes sont également acceptées pour exposer un sujet d'actualité. Le dernier numéro de chaque année comprend des index : auteurs, mots-clés, géographique.

- Le Rédacteur en chef accuse réception des manuscrits, puis les soumet au Comité de lecture. Les manuscrits peuvent alors être acceptés, refusés ou soumis à des demandes de modifications qui doivent être prises en compte (sauf justifications documentées).

La Rédaction se réserve le droit de renvoyer aux auteurs, avant toute lecture, les manuscrits non conformes aux recommandations suivantes :

- Le français est obligatoire pour tous les auteurs français ou francophones. L'anglais de qualité excellente peut être utilisé dans tous les autres cas.

- Le manuscrit est soumis en **3 exemplaires** complets dont un original. Le texte est dactylographié en **double interligne**, toutes les pages sont numérotées. Une **disquette** l'accompagne : le fichier texte est au format Microsoft Word, séparé du fichier tableaux (voir plus bas).

- **Contenu des 1^{ère} et 2^e pages :** 1) un titre précis complet en français et en anglais ; 2) un titre courant ne dépassant pas 60 caractères ou espaces en français et en anglais ; 3) noms, initiales des prénoms, adresses complètes des auteurs ; 4) nom, n° téléphone, n° fax, adresse e-mail de l'auteur assurant la correspondance ; 5) résumés : **en français et en anglais**, ne dépassent pas 250 mots et comportent les mêmes informations ; 6) cinq à huit mots-clés, selon le thésaurus Agrovoc de la FAO.

- **Plan des articles :** introduction, matériel et méthodes, résultats, discussion, conclusion, remerciements (s'il y a lieu), bibliographie.

N.B. : dans les parties matériel et méthodes, et résultats, le **temps passé** (en général le passé composé et le cas échéant l'imparfait) est obligatoire ; dans la partie discussion le présent peut être utilisé lorsque des travaux déjà publiés sont évoqués mais le passé reste obligatoire lorsqu'il est fait référence aux résultats de la présente étude.

- **Tableaux :** numérotés en chiffre romains, dans l'ordre de leur apparition dans le texte, construits avec la fonction « tableau » de MS Word ou sous Excel ; chaque donnée est saisie dans une cellule distincte ; **ne pas utiliser** la fonction « retour à la ligne » à l'intérieur des cellules.

- **Figures** (photos, graphes, dessins, cartes) : sur papier et de qualité excellente, numérotées en chiffre arabe dans l'ordre de leur apparition, les légendes rassemblées sur feuille indépendante et compréhensibles par elles-mêmes. Les figures doivent également être fournies avec leur **fichier source** (Excel ou Powerpoint), sinon sauvegardées au format jpg, tif ou eps (résolution de 300 dpi pour largeur minimale de 150 mm). Les frais d'impression des figures en couleurs sont à la charge des auteurs.

- **Bibliographie :** numérotée en chiffres arabes, ordre alphabétique selon le nom des auteurs qui sont tous mentionnés ; référencée par des chiffres arabes entre parenthèses dans le texte ; ex. : "...(19)...(7, 21)...". S'assurer que les **références** apparaissant dans la liste sont **citées dans le texte**. Les publications **anonymes** seront classées au nom de l'institut/la maison d'édition. Utiliser les normes internationales ISO pour l'abréviation de périodiques. La présentation est scrupuleusement respectée et aucun élément (ex : ville, pays et maison d'édition - c'est-à-dire le copyright - pour un ouvrage) ne doit manquer, selon les modèles suivants :

1. BERTHE D., 1987. Epidémiologie et prophylaxie des maladies infectieuses majeures : bilan et perspectives. Thèse Doct. vét., Eismv, Dakar, Sénégal, 120 p.
2. DENIS J.P., 1971. L'intervalle entre les vèlages chez le zébu Gobra (Peulh sénégalais). *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **24** : 635-647.
3. DJAMEN N.P., HAVARD M., DJONNEWA A., 2001. Vers une démarche d'aide à la décision adaptée aux exploitations agricoles du Nord-Cameroun. In : Second comité scientifique du Prasad, Maroua, Cameroun, 5-9 février 2001, 15 p.
4. RICORDEAU G., 1981. Genetics: breeding plans. In: Gall C., Ed., Goat production. London, UK, Academic Press, p. 111-161.

Les **épreuves** sont envoyées au premier auteur ou au correspondant ; un délai de quelques jours est donné pour signaler des corrections. Trente **tirés à part** gratuits sont envoyés uniquement au premier auteur ou au correspondant désigné lors de l'expédition de l'article.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

The *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* publishes on a quarterly basis the results of original applied research articles and communications, and scientific reviews in the field of animal health (infectious and parasitic diseases) and animal productions (animal feed and resources) in tropical and subtropical areas. Short notes covering current topics are also given consideration. Each year's last issue includes author, key word and geographic indexes.

- The Editor-in-Chief acknowledges receipt of the manuscripts and submits them to the Editorial Board. The manuscripts may then be accepted, rejected or revisions may be requested. These must have been addressed when submitting a new version.

The Editorial Board may return without refereeing any manuscript that does not comply to the following guidelines:

- French is mandatory for French and francophone authors. High standard English may be used in all other cases. Authors whose mother tongue is not English will have their manuscript revised by an English-speaking colleague before its submission to the journal.

- Complete manuscripts are submitted in **triplicate**, including one original. The text is typed, **double-spaced**, the pages are numbered. A diskette is included. The text is saved under Microsoft Word, and tables are in a separate file (see below).

- **First and second page contents:** 1) a precise, complete title in English and in French; 2) a running title not exceeding 60 characters or spaces in English and in French; 3) authors' names, first name initials, complete addresses; 4) corresponding author's name, telephone and fax numbers, e-mail address; 5) abstracts: **in English and in French**, 250 words at most, and both contain the same information; 6) five to eight key words, according to the FAO AGROVOC thesaurus.

- **Article structure:** Introduction, materials and methods, results, discussion, conclusion, acknowledgments (when appropriate), references.

Note: In the Materials and Methods, and Results sections the **past tense** is mandatory. In the Discussion the present tense may be used when referring to already published results, but the past tense is mandatory when referring to results of the present study.

- **Tables:** Roman numerals are used, in the order they appear in the text. They are meaningful by themselves and constructed using the Table function of MS Word or Excel; each entry must be in a separate cell; **do not use** line breaks within cells.

- **Figures** (photos, graphs, drawings, maps): high-quality **hard copies**, numbered in Arabic numerals in the order they appear in the text, legends listed separately and meaningful by themselves. The figures must also be supplied with their **digital source** (input files (Excel or Powerpoint), otherwise saved in JPG, TIF or EPS (e.g. 300 dpi for 150 mm minimum width). Authors are charged for the printing costs of color figures.

- **References:** numbered, in alphabetical order for a given author, with all the authors mentioned; they appear in the text within parentheses, e.g., "...(19)...(7, 21)...". Ensure that **references** in the list are **quoted in the text**. **Anonymous** publications are listed under the publisher's name. International ISO norms are used to abbreviate journal names. A very special care is given to their presentation and no item may be omitted (e.g., do not forget the publisher's - same as copyright - city and country when quoting a book), using the following examples as guidelines:

1. BERTHE D., 1987. Epidémiologie et prophylaxie des maladies infectieuses majeures : bilan et perspectives. Thèse Doct. vét., Eismv, Dakar, Sénégal, 120 p.
2. DENIS J.P., 1971. L'intervalle entre les vèlages chez le zébu Gobra (Peulh sénégalais). *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **24** : 635-647.
3. DJAMEN N.P., HAVARD M., DJONNEWA A., 2001. Vers une démarche d'aide à la décision adaptée aux exploitations agricoles du Nord-Cameroun. In : Second comité scientifique du Prasad, Maroua, Cameroun, 5-9 février 2001, 15 p.
4. RICORDEAU G., 1981. Genetics: breeding plans. In: Gall C., Ed., Goat production. London, UK, Academic Press, p. 111-161.

Proofs are sent to the first author or to the correspondent, who then has a few days to return corrections. Thirty free of charge **reprints** are sent solely to the first author or to the designated correspondent.