

2V000-1006

OK

DIAGNOSTIC DES TRYPANOSOMIASES ANIMALES

par Saydil M. TOURE

Institut sénégalais de Recherches agricoles

Chef du Service de Parasitologie

Laboratoire national de l'Elevage

et de Recherches vétérinaires

B.P. 2057 - DAKAR -

8 NOV 1975

INTRODUCTION

Les connaissances cliniques sur les Trypanosomiasés animales telles qu'elles nous apparaissent à travers des synthèses récentes (LOSOS et IKEDE, 1972), ne diffèrent pas tellement, jusque dans le détail, des observations qui remontent à plusieurs décennies (CURASSON, 1943 ; TENDEIRO, 1949). C'est dire que les faits cliniques sont patents et qu'il n'y a pas à y ajouter des notions jusqu'ici inconnues. Cependant quelques manifestes que soient les signes de maladie, poser le diagnostic clinique d'une Trypanosomiasé chez un animal n'est pas toujours aisé, surtout chez les Ruminants, et il est indispensable d'asseoir la certitude du diagnostic sur des bases expérimentales non équivoques. Dans la plupart des cas, le diagnostic clinique ne constitue qu'un simple élément de suspicion ou de probabilité" (43).

Toutefois, les techniques de laboratoire, de plus en plus nombreuses et de plus en plus fiables pour certaines, permettent bien souvent de lever le doute sur l'étiologie trypanosomienne suggérée par la consultation. Les principales méthodes mises en oeuvre ont été résumées récemment dans deux synthèses (MOLYNEUX, 1975 ; TOURE, 1974) (29) (45). Celles-ci ne seront que complétées sur quelques points de détail.

I - DIAGNOSTIC CLINIQUE DES TRYPANOSOMIASES ANIMALES

I-1-Difficultés

Il n'est que de citer quelques auteurs dont les propos nous paraissent des plus justes.

"Ce qui rend difficile le diagnostic clinique des Trypanosomiasés, c'est d'une part leur ressemblance, sous la forme chronique, avec toute affection parasitaire amenant la misère physiologique, d'autre part la similitude de l'anémie à Trypanosomes et des autres anémies, spécifiques ou non". (5)

Il y a donc lieu d'être très circonspect en la matière, d'autant que, dans les pays sahéliens, nombre d'éleveurs désignent certaines maladies bovines à évolution chronique et débilitante par la même expression, le mot Daaso, alors que les analyses de laboratoire montrent qu'il y a de nombreuses étiologies possibles pour des manifestations morbides similaires.

"Il n'existe pas de symptômes qu'on puisse considérer comme pathognomoniques des Trypanosomiasés. La fièvre, les oedèmes, les hypertrophies ganglionnaires, l'affaiblissement, etc, qui constituent les principaux symptômes des Trypanosomiasés, se manifestent dans un grand nombre d'affections différentes". (43)

I-2-Signes généraux

Les principaux signes cliniques sont induits par la pathogénie particulière des Trypanosomes. D'abord la fièvre qui est liée aux périodes de multiplication active des trypanosomes ; elle est marquée principalement une hyperthermie intermittente et des accès morbides suivis de rémissions. L'anémie est fréquente et précoce dans les affections dues à Trypanosoma congolense, espèce à tropisme plasmatique. D'autres espèces pathogènes déterminent volontiers des atteintes tissulaires et vasculaires pouvant se traduire par des adénites hypertrophiques, l'atteinte du coeur et l'affaiblissement, l'oedème déclive, la kératite superficielle ; les poils sont souvent dressés, ternes ou chatoyants, donnant une impression de manque d'uniformité dans l'apparence de la robe.

.../...

1-3-Signes cliniques suivant les espèces animales

Les signes cliniques qu'on peut observer sont variables suivant les espèces animales et suivant les trypanosomes en cause (Trypanosoma congolense, T.vivax, T.brucei, T.evansi, T.simiae, T.suis). Nous ne considérerons pas la Dourine, maladie résultant de contagion vénérienne et qui est due à Trypanosoma equiperdum.

I-3-1- Trypanosomiase des Bovins

- accès fébriles et hyperthermie transitoire (40°C)
- animal prostré, la tête basse
- maigreur progressive, cachexie
- anémie
- yeux enfoncés, pétéchies conjonctivales
- larmoiement et légère kérato-conjonctivite
- poil piqué
- hypertrophie des ganglions superficiels (préscapulaires et fémoraux)
- oedème, mais pas souvent dans cette espèce
- au stade ultime : anorexie, incoordination motrice, décubitus prolongé suivi de la mort en hypothermie.

Quelle que soit l'espèce de trypanosome en cause, on peut noter chez les Bovins une évolution aiguë ou une évolution chronique. Les zébus sont très sensibles à la Trypanosomiase. Chez eux, la mort peut survenir en trois semaines dans les formes à évolution rapide ou bien la maladie peut traîner en plusieurs mois avec une issue fatale, faute de soins. Par ordre de nocivité décroissante, T.congolense, T.vivax et T.brucei sont responsables de la plupart des Trypanosomiasés bovines. La fréquence des infections dues à T.brucei est très faible chez les Bovins, sans doute parce que les parasites sont souvent très rares dans le sang et ne peuvent être décelés que grâce à l'inoculation, par exemple de souris. Concernant précisément la parasitémie, il y a de grandes différences entre les animaux Ndama et le Zébu ou leurs croisements. Très rares sont les Trypanosomes dans le sang des Ndama, sauf au cours d'accès aigus purement circonstantiels. Par contre chez les zébus ou les Diakoré, croisements entre Zébu et Ndama, la parasitémie est souvent élevée, par vagues de 2 ou 3 jours, suivies de rémissions de plusieurs jours.

Dans la maladie due à Trypanosoma congolense, l'anémie est assez marquée car ce parasite se multiplie davantage dans le plasma. On n'observe que rarement des oedèmes déclives ; par contre l'amaigrissement est rapide ; les signes de larmolement, de kérato-conjonctivite et d'adéno-réaction sont fréquemment observés.

Lorsque c'est T.vivax qui est en cause, l'évolution est fréquemment chronique. Mais il nous est arrivé, en laboratoire, d'observer chez des zébus provenant de régions indemnes de Trypanosomiase, une évolution aiguë, rapidement mortelle. La maladie due à T.vivax est de loin la plus répandue et aussi la plus rapidement propagée dans un cheptel, même au delà de la limite de distribution des glossines.

En plus de la fièvre, des hypertrophies ganglionnaires, des pétéchies de la muqueuse conjonctivale, du larmolement, on peut observer quelquefois l'oedème de la tête.

Les bovins semblent mieux résister à l'infection due à T.brucei qui entraîne une maladie chronique accompagnée d'anémie et de maigreur. Dans plusieurs régions cependant, l'espèce ne se présente pas toujours seule et elle peut être associée à T.congolense ou à T.vivax, ce qui accentue les manifestations cliniques de la Trypanosomiase.

La Trypanosomiase, quelque espèce qui la provoque, peut paraître cryptique et asymptomatique : les parasites, -très rares, sont à peine décelables et l'animal apparemment sain ; les accès fébriles ou les symptômes ne se manifestent qu'à l'occasion d'un stress.

Enfin, comme conséquence probable de la maladie, ajoutons l'avortement, rapporté par certains auteurs. Cela est possible, mais les statistiques ne permettent pas d'affirmer avec certitude que les Trypanosomes sont abortifs par eux-mêmes car l'incidence de la Brucellose est loin d'être négligeable dans certaines régions d'Afrique.

I-3-2 Trypanosomiase des petits Ruminants

'Les signes sont peu précis chez les petits Ruminants, le Mouton et la Chèvre. Cela tient, sans doute, à la rareté des cas naturels de Trypanosomiase chez ces deux espèces. Les passages de souches de T.congolense ou de T.vivax, pratiqués en laboratoire sur moutons ou chèvres, conduisent à des faits intéressants de pathologie expérimentale mais de moindre utilité pour un clinicien sur le terrain. Dans un laboratoire on sait que, parce que l'animal, mouton ou chèvre, a été inoculé, il présente des accès fébriles, de l'anémie, une maigreur progressive, une kérato-conjonctivite, une misère physiologique qui l'achemine vers la mort. Sur le terrain, la rareté des cas naturels et la discrétion des signes n'amènent pas le clinicien à penser d'emblée à la Trypanosomiase. En effet, la maladie naturelle semble évoluer sur un mode chronique, en plusieurs semaines, voire plusieurs mois. La prémonition est possible après un certain nombre de vagues parasitémi-ques, mais la mort est une terminaison fréquente ; elle survient, soit avec un nombre élevé de Trypanosomes dans le sang, soit avec une parasitémie faible.

I-3-3 Trypanosomiase des Equidés

Contrairement aux espèces animales précédentes, le diagnostic clinique de Trypanosomiase paraît plus facile chez le Cheval et l'Ane, à cause surtout de deux signes souvent nets : l'oedème déclive et la kératite. Il en est de même, nous le verrons, chez le Chien, Le trypanosome qui, de loin, est le plus pathogène pour les Equidés est T.brucei brucei qui détermine chez eux une maladie généralement aiguë ou subaiguë, caractérisée par une hyperthermie assez marquée. L'animal maigrit rapidement et est prostré ; les symptômes caractéristiques apparaissent, seuls ou associés : oedème des parties déclives du thorax, des membres, de l'abdomen et des parties génitales ; congestion oculaire évoluant vers la kératite ; écoulement nasal, On constate aussi, maintes fois, des placards urticariens au niveau du cou, sur les flancs ou le dos de l'animal, mais ces signes ne sont pas stables et peuvent disparaître en quelques heures ou quelques jours (26).

A la phase finale d'évolution, certains animaux sont paralysés ou présentent une ataxie ou bien une parésie. La maladie due à T.vivax est le plus souvent chronique chez les Equidés ; elle peut durer plusieurs mois, mais on discerne les mêmes signes que ceux déjà évoqués. Quant à T.congolense, l'espèce conduit rapidement à l'anémie et à l'opacité cornéenne ; par contre les oedèmes sont rarement observés.

I-3-4- Trypanosomiase du Dromadaire due à Trypanosoma evansi ou T.brucei

Les chameaux sont sujets, quand ils sont atteints, à une grande fatigabilité. Leur poil devient terne et hérissé. Les accès fébriles se manifestent, avec une température corporelle de 38°5 à 39°C. Les muqueuses oculaires présentent des pétéchies. Il y a hypertrophie des ganglions présternaux. On note aussi la claudication dans la démarche. Les femelles pleines peuvent avorter. A la longue l'animal atteint est anorexique, cachectique et il meurt après un decubitus prolongé.

I-3-5- Trypanosomiase des Carnivores due à T.brucei ou à T.congolense

La maladie est caractérisée par une fièvre persistante et une anémie progressive, accompagnées de faiblesse générale et d'inappétence. S'installent ensuite l'oedème et la polyadénite. Souvent il y a atteinte oculaire : les yeux sont chassieux et on peut noter conjonctivite, blépharite et kératite. Après quelques semaines d'évolution la cachexie devient prononcée et l'animal alopécique. Celui-ci peut aussi présenter des signes nerveux sous forme d'incoordination motrice voire de paralysie. Chez le Chien comme chez le Chat, T.congolense détermine une maladie chronique qui évolue sur plusieurs mois, cependant que les manifestations aiguës sont plus fréquentes avec T.brucei brucei.

I-3-6 - Trypanosomiase du Porc due à T.simiae

Chez le Porc l'affection est, le plus souvent, dramatique d'emblée, et conduit très rapidement à la mort quand l'agent causal est T.simiae. Fièvre avec température pouvant atteindre 41°C. Anorexie. Gêne respiratoire. Froideur des extrémités. Congestion des téguments. Oedème.

... / ...

I-4- Variations dans le degré des manifestations cliniques

Ces variations sont en rapport avec les espèces de trypanosomes et les souches de telle ou telle région. Chez les Bovins, la trypanosomiase à T.brucei brucei est peu grave (KILLICK-KENDRICK, 1971) ; celle à T.congolense semble plus meurtrière en Afrique de l'Est qu'en Afrique occidentale et celle à T.vivax enfin, plus accusée en Afrique de l'Ouest, surtout chez le Zébu.

Les Equidés souffrent plus de la Trypanosomiase à T.brucei ou T.evansi que de celle à T.vivax.

Les Dromadaires sont très sensibles à T.evansi et T.brucei ; ils présentent aussi une grande sensibilité à l'égard de T.simiae.

Les Carnivores sont également susceptibles à T.brucei et T.congolense, encore que la maladie due à cette dernière espèce évolue plus lentement.

Enfin les cochons, quoique sensibles à T.suis, T.brucei et T.congolense, ne meurent rapidement qu'avec T.simiae.

Tout cela est pour dire que les signes cliniques que l'on peut observer dépendent d'un grand nombre de facteurs épidémiologiques, De plus, il peut aussi arriver que ces signes soient le fait d'autres maladies, d'où la nécessité d'un diagnostic différentiel.

I-5- Diagnostic différentiel

Faire la différence entre les Trypanosomiasés et d'autres maladies animales.

I-5-1- Bovins

- autres maladies parasitaires (microfilariose du sang, piroplasmose, maladies à Helminthes gastro-intro-intestinaux).

.../...

- lymphadénite des veaux. J'ai très souvent observé chez les veaux une hypertrophie des ganglions superficiels prescapulaires et précruraux, sans rapport aucun avec une Trypanosomiase. Peut-être est-ce en rapport avec une anémie due aux helminthoses ou à des carences nutritionnelles.
- charbon bactérien, quand la Trypanosomiase est suraiguë.

I-5-2- Equidés

- Anémie infectieuse
- Exanthème vésiculeux spécifique
- Anasarque
- Autres maladies parasitaires.

I-5-3- Porcs

- Fièvres septicémiques dues à des virus ou à des bactéries.

Partant de données cliniques, on ne saurait considérer les seuls symptômes observés comme étant des signes de certitude pour dire qu'il y a ou non Trypanosomiase chez un animal. Dans tous les cas, il est indispensable de procéder à un diagnostic expérimental pour confirmer la maladie présumée.

II - DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL

Deux groupes de méthodes sont à considérer : les méthodes directes qui conduisent à visualiser les trypanosomes et les méthodes indirectes ou séro-immunologiques.

II-1- Les méthodes visualisant les trypanosomes

II-1-1- Observation microscopique classique

II-1-1/1 - Observation immédiate

L'observation immédiate est réalisée directement sur une lame recouverte de lamelle, sans artifices préalables. Chez les animaux, c'est le sang seulement qu'on examine le plus souvent à l'état frais. Cette méthode est de choix pour isoler sur le terrain des souches de trypanosomes (T.vivax, T.congolense) ou pour contrôler la parasitémie d'animaux d'expérience. Mais elle ne permet pas de déceler toutes les infections, surtout lorsque la parasitémie est faible. De plus, on ne peut pas faire une diagnose précise des espèces de trypanosomes. Toutefois, avec un peu de pratique, on arrive à distinguer, chez les bovins, T.vivax de T.congolense et T.brucei. L'observation immédiate peut être pratiquée par des infirmiers de santé animale et, pourvu qu'elle soit fréquemment réalisée dans un même troupeau, on peut avoir une très bonne connaissance de l'état sanitaire qui prévaut dans celui-ci au long des saisons. Le sang doit être prélevé au niveau des capillaires veineux et le procédé le plus simple consiste chez les bovins à couper finement la pointe d'une oreille à l'aide de ciseaux courbes ; chez d'autres animaux, on utilisera un vaccinostyle. (Voir STEPHEN, in MULLIGAN, 1970 et KILLICK-KENDRICK, 1968) (42) (16).

II-1-1/2- Observation après concentration

Il existe différentes techniques pour concentrer les trypanosomes lorsque la parasitémie est trop faible pour être décelée dans le sang :

- centrifugation classique
- centrifugation dans des tubes à microhématocrite
- centrifugation d'éluat recueilli après filtration du sang à travers une colonne de DEAE - cellulose
- centrifugation après lyse des globules rouges

Ces techniques ne sont applicables que dans un laboratoire, implanté ou mobile, et il est important d'en tenir compte et de les pratiquer couramment car elles permettent de déceler des infections qui passeraient inaperçues.

La centrifugation simple du sang total n'est pas pratique. Elle ne convient pas pour T.congolense qui a sensiblement la même gravité spécifique que les hématies de bovins. Pour les autres espèces de trypanosomes, il est difficile de localiser dans le tube de centrifugation l'endroit où se concentrent les trypanosomes. C'est une méthode d'isolement des trypanosomes à partir de sang d'animaux d'expérience, fortement parasitémiques, et elle est peu pratique quand il s'agit de diagnostiquer de faibles parasitémies. Toutefois, dans ce dernier cas, on peut la rendre sensible en prenant soin, au préalable, d'agglutiner les éléments figurés du sang par un antisérum spécifique pour les laisser sédimenter et centrifuger ensuite le plasma.

La centrifugation de microtubes à hématocrite peut donner de bons résultats dans le diagnostic des Trypanosomiases animales (WOO, 1971 ; ROBSON et RICKMAN, 1972 ; ROBSON & ASHKAR, 1972 ; WALKER, 1972). Le sang est recueilli de préférence au niveau d'une veinule de l'oreille, mélangé à un anticoagulant additionné de glucose puis les tubes capillaires sont remplis à raison de 60 µl et centrifugés à 12.000 rpm (ROBSON & RICKMAN, 1972). Un tel procédé est sensible pour la détection de T.vivax. Dans la recherche de T.brucei, chez des bovins d'expérience, nous avons pratiqué le remplissage direct de tubules héparinés à partir du sang de l'oreille. Pour T.congolense qui a la même gravité spécifique que les érythrocytes, il est cependant nécessaire d'utiliser un tampon au glycérol, ce qui permettrait de déceler des infections même très faibles : comme 35 parasites par ml (WALKER, 1972). La technique par microhématocrite conduit à la mise en évidence de T.vivax, T.congolense et T.brucei, 6 à 10 jours avant que les parasites soient apparents avec les méthodes d'observation immédiate ou de coloration de gouttes épaisses (WOO, 1971). Toujours selon WOO, 1974, on peut déceler 85 p.100 de cas positifs quand il s'agit de trypanosomes du groupe de Trypanosoma brucei, contre seulement 30 p.100 pour T.congolense.

En tout cas, la technique de centrifugation microhématocrite est beaucoup plus sensible que l'observation directe de préparation humide ou de goutte épaisse. Des calculs statistiques permettent de déterminer le nombre de tubes à examiner pour avoir 95 % et 99 % de résultats positifs dans les infections légères (de l'ordre de 500 trypanosomes ou moins par ml de sang.

La séparation des trypanosomes du sang par filtration à travers une colonne de DEAE-cellulose est un procédé relativement récent (LANHAM, 1968). Le DEAE-cellulose (Diéthylaminoéthylcellulose) est un échangeur d'anions qui retient les éléments figurés du sang chargés négativement et laisse passer les trypanosomes à faible charge négative. L'éluat contenant les trypanosomes est ensuite centrifugé et le culot examiné. Les applications de cette méthode autorisent à penser qu'il s'agit d'un moyen très sensible pour mettre en évidence les Trypanosomiasés (LANHAM, 1971 ; LANHAM et GODFREY, 1970 ; GODFREY & LANHAM, 1971). Toutefois, étant donné la délicatesse des techniques, il y a certainement des obstacles à la pratique courante de ce procédé de diagnostic, surtout quand il s'agit des Trypanosomiasés animales. Une variante de cette méthode permettrait de détecter de très faibles parasitémiés, de l'ordre de 100 trypanosomes pour 5 ml de sang quand il s'agit du sous-genre Trypanozoon (JACKSON, 1975) (14).

La lyse hypotonique des globules rouges suivie de centrifugation conduit aussi à concentrer les trypanosomes pour rendre plus facile le diagnostic. LEEFLANG et al, 1974, récoltent pour ce faire, du sang sur anticoagulant (EDTA ou bien héparine), et le mélangent au double de son volume d'eau distillée puis, au bout de 30 secondes, ils rétablissent l'isotonie en ajoutant une solution à double concentration de tampon. La centrifugation à 1500 g pendant 20 minutes concentre les trypanosomes (25). HOFF, 1974 (13) propose l'action du chlorure d'ammonium à 0,87 p.100, pendant 10 minutes, pour lyser les globules rouges, puis la centrifugation à 700 g pendant 10 minutes. Appliquant ce procédé à l'isolement de T.vivax à partir de chèvres infectées, nous avons pu constater que les trypanosomes sont cependant affectés dans leur mouvement puis leur morphologie.

L'étape qui suit la concentration des trypanosomes par centrifugation selon les différentes méthodes ci-dessus est celle de l'observation microscopique. La microscopie, qu'il s'agisse de l'examen direct du sang ou d'un culot de centrifugation, gagne en précision par l'observation en fond noir. Grâce à ce procédé, les trypanosomes apparaissent illuminés sur le fond noir et on les perçoit nettement à leur mouvement ; le manipulateur les distingue plus facilement et en plus grand nombre que dans l'observation d'un champ microscopique éclairé en lumière blanche. La plupart des

.../...

microscopes actuels sont conçus pour la lecture de lames sur fond noir avec des objectifs de faible grossissement. Cette méthode d'observation est à recommander.

II-1-1/3 - Observation de lames colorées

C'est le **moyen** le plus sûr pour faire une diagnose spécifique des trypanosomes.

Le prélèvement à étaler et colorer provient :

- du sang des veinules de l'oreille
- d'un culot de centrifugation
- d'une ponction de ganglion ou d'œdème.
- etc

Le prélèvement est étalé en couche mince (frottis) ou en goutte épaisse.

La méthode de coloration la plus usitée et qui donne de bons résultats est la méthode panoptique de Pappenheim qui **utilise** successivement les solutions de May-Grünwald et de Giemsa.

Le diagnostic expérimental sur lames colorées reste le meilleur procédé dans les Trypanosomiasés animales parce que facile à réaliser et très peu coûteux dès lors qu'on dispose d'un microscope. Il présente en outre l'avantage de permettre la reconnaissance des espèces de trypanosomes car celles-ci sont très diverses chez les animaux. Lorsque la parasitémie est faible, on peut cependant ne pas déceler une infection, en particulier à la lecture de frottis seulement. Il est possible d'améliorer considérablement les résultats en pratiquant toujours des gouttes épaisses (la lecture de trois films de gouttes épaisses équivaudrait à une centrifugation) et en faisant, chaque fois que cela est possible, la ponction d'un ganglion superficiel (pré-scapulaire par exemple). L'inconvénient de la goutte épaisse est que, souvent, elle ne permet pas une diagnose précise des espèces par l'étude de leur morphologie et de leur biométrie. Divers procédés sont préconisés pour pallier cet inconvénient, entre autres celui de Mac Lennan, 1957. Nous préférons quant à nous déshémoglobiner les lames et fixer en

même temps les trypanosomes en utilisant la solution de Rüge picriquée(*). Quant aux ponctions biopsiques, notamment de ganglions superficiels, elles donnent plus de renseignements que le sang quand il s'agit de *T.vivax*. (voir KILLICK-KENDRICK, 1968 ; ROBSON et ASHKAR, 1972). La ponction de liquide céphalorachidien par la voie épidurale est réalisable chez les animaux domestiques mais elle a peu de valeur car le neurotropisme n'est pas courant, sauf dans le cas de *T.brucei*. La ponction de liquide péritonéal peut révéler des trypanosomes mais cette méthode ne saurait être de routine sur le terrain.

II-1-1/4- Inoculation à des animaux d'expérience

L'inoculation à des animaux de laboratoire de prélèvements suspects permet, dans de nombreux cas, de visualiser longtemps après des trypanosomes, rares au moment du prélèvement. C'est un procédé de diagnostic, chez l'Homme très utile; mais on ne saurait l'admettre comme méthode courante quand il s'agit des animaux. C'est qu'en effet, il faut pouvoir disposer d'animaux d'expérience (souris, rats, chèvres etc), et d'un matériel sinon encombrant, du moins nombreux (cages à rats, crayons marqueurs, aiguilles, pipettes Pasteur, etc ...). De plus, après l'inoculation des animaux, il faut être en mesure de faire des examens quotidiens pendant plusieurs jours, voire plusieurs semaines. Partant, on ne saurait recourir à l'inoculation d'animaux d'expérience qu'à des fins expérimentales et à une échelle relativement limitée. Des précisions sur cette pratique sont apportées par KILLICK-KENDRICK, 1968 ; HEISCH, KILLICK-KENDRICK et al, 1968 ; HEICH, KILLICK-KENDRICK et al, 1970 ; MOLYNEUX, 1972. Pour la recherche de *T.vivax*, on utilisera la chèvre et pour *T.brucei* ou *T.congolense*, le rat ou la souris. Dans certains cas, on pourra stimuler la parasitémie par des immunosuppresseurs.

On peut rapporter ici les tests d'infectivité du sang (RICKMAN et ROBSON, 1970) pour faire la distinction entre *T.brucei brucei* et *T.brucei rhodesiense*.

(*) Solution de Riige, modifiée = Boin alcoolique : 1ml, acide acétique : 0,5ml formol à 37 % : 2ml, eau distillée = 100 ml.

II-1-1/5 - Culture in vitro

C'est, encore ici, plus un procédé de recherches sur les trypanosomes des animaux qu'un procédé pratique de diagnostic des Trypanosomiasés animales. Tout au plus, peut-on citer, pour une application éventuelle dans l'étude des zoonoses, une méthode de culture permettant de différencier T.brucei rhodesiense et T.brucei brucei (LEHMANN, 1964). Il y a cependant une grande exception à mentionner, c'est le diagnostic de T.theileri pour lequel la méthode de loin la meilleure est l'hémoculture. Utilisant un milieu relativement simple, il a été constaté dans une localité du Sénégal que 72,6 p.100 des bovins examinés hébergent T.theileri alors que l'examen prolongé des frottis et gouttes épaisses ne révèle ce trypanosome que dans 11 p.100 des cas (TOURE, 1968).

II-1-1/6- Xénodiagnostic

Cette rubrique est citée pour mémoire : voir HARLEY et al, 1965; FREZIL, 1971. Aucune application pratique en ce qui concerne les animaux.

II-2- Méthodes séro-immunologiques

II-2-1 - Fixation du complément ou test d'hémolyse

Bien qu'habituellement citée comme méthode de diagnostic des Trypanosomiasés animales, la réaction de fixation du complément n'est que rarement pratiquée. Elle n'a été utilisée avec succès que dans le diagnostic de la dourine, due à T.equiperdum (consulter DOMANSKI, 1948). On ne peut pas en faire une méthode de routine pour diagnostiquer les autres Trypanosomiasés animales.

II-Z-2 Hémagglutination indirecte ou passive

Il en est de même du test d'hémagglutination passive qui, malgré la sensibilité qui lui est reconnue, ne peut être une méthode courante de diagnostic des Trypanosomiasés animales. Cette méthode, comme la précédente, suppose un bon entraînement dans la pratique des épreuves de laboratoire et une standardisation correcte des antigènes utilisés. Son emploi est, partant, rare. Citons cependant les travaux relativement récents de CLARKSON et al, 1971, concernant T.vivax chez le Mouton.

II-2-3- Epreuve d'agglutination directe,

Elle consiste à isoler des trypanosomes à partir d'animaux de laboratoire fortement infectés et à réaliser leur agglutination avec les anticorps d'un sérum suspect. Il faut que les antigènes et les anticorps soient homologues pour obtenir des réactions nettes. Cette épreuve conviendrait pour le dépistage des infections à T.brucei brucei mais, dans la pratique, elle est peu employée.

II-2-4- Test au chlorure mercurique

Cité pour mémoire, ce test, utilisé pour déceler les infections à trypanosomes chez les dromadaires, ne semble avoir que peu de valeur chez les autres espèces animales. L'emploi de Stilbamidine à la place de chlorure mercurique donnerait cependant de bons résultats dans le diagnostic chez les bovins de la maladie due à T.evansi (RAY, 1950 ; RAY & BHASKARAN, 1953). Le test au chlorure mercurique ne peut être que complémentaire d'autres méthodes (PEGRAM et SCOTT, 1976).

II-2-5- Formolgéification

C'est encore un test qui semble n'avoir d'intérêt que chez les dromadaires ; il ne donne pas de bons résultats avec les autres espèces animales.

II-2-6- Immunoélectrophorèse et immunodiffusion

Il y a très peu de tests pratiqués par ces méthodes pour diagnostiquer les Trypanosomiasés animales. Ces deux techniques ont été utilisées surtout chez l'homme pour mettre en évidence l'élévation des immunoglobulines, consécutive ou non à une Trypanosomiasé. Concernant les animaux, on peut citer les études de BIDEAU et al, 1966, menées sur les bovins et celles de LAVERGNE et al, 1969, relatives au cheval, mais ces travaux n'ont guère dépassé le stade expérimental.

.../...

II-2-7- Immunofluorescence

Les applications de la méthode indirecte d'immunofluorescence au diagnostic des Trypanosomiasés animales sont relativement récentes (WAIN et al, 1966 ; CUNNINGHAM et al, 1966 ; MWAMBU et OMASEI, 1967 ; WILSON, 1966 à 1969 ; WIESEN HUTTER, 1969 et 1973 , SCHINDLER, 1972 ; ASHKAR, 1972 ; van MEIRVENNE et al, 1972 ; ZWART, 1973 ; MEHLITZ et al, 1973 ; SEYDI, 1974 ; TOURE & al, 1975).

Ce procédé présente pour le diagnostic des Trypanosomiasés animales des avantages et des inconvénients qu'on peut résumer comme suit:

- 1/ La méthode est sensible mais elle ne permet pas de dépister, les infections précoces, de moins de 15 jours.
- 2/ Elle conduit à déceler plus d'animaux trypanosomés qu'il n'y en a en réalité, surtout si les animaux sont soumis à des traitements par trypanocides.
- 3/ Elle n'a qu'une spécificité générique : on distingue les Trypanosomiasés des autres affections parasitaires du sang mais on n'arrive pas à reconnaître l'espèce de trypanosome en cause dans les réactions positives. Il y a des réactions croisées entre les différentes espèces de trypanosomes des animaux.
- 4/ Un des avantages de la méthode est qu'on peut faire un grand nombre de réactions en économisant les lames et les réactifs. Cependant, toutes proportions gardées, elle est onéreuse du fait que les lampes à vapeur de Mercure, utilisées pour l'éclairage ultraviolet, coûtent très cher et ont une durée assez courte,
- 5/ Enfin, la méthode n'est bonne, à notre avis, que pour des enquêtes d'épizootiologie afin de comparer le degré de fréquence des Trypanosomiasés suivant les régions. Toutefois, il est probable qu'une amélioration des procédés conduise, dans un proche avenir à un diagnostic monospécifique des trypanosomes au cours d'une infection. Déjà, LATIF et ADAM, 1973, pensent pouvoir distinguer des différences selon que l'infection est due à T.brucei, à T.rhodesiense ou à T.gambiense : ils ont trouvé que le titre d'un antisérüm donné était au moins quatre fois plus élevé en présence de l'antigène homologue qu'avec un antigène
.../...

hétérologue.

La possibilité de préparer des antisérums standards valables pour les différentes espèces animales ouvre une perspective intéressante dans l'épizootiologie. PERIE et al, 1975, pratiquant le test d'immunofluorescence par fixation du complément ont pratiqué, avec les mêmes réactifs sérologiques, des analyses sur des sérums de moutons, chèvres, ânes, bovins, chiens, sans que la sensibilité des réactions soit en défaut,

En conclusion, nous dirons que malgré la multitude des méthodes dont nous disposons, le diagnostic expérimental des Trypanosomiasés n'est certain que dans les seuls cas où il est possible de visualiser les trypanosomes de l'animal qui en est porteur. De toutes les épreuves qui permettent de le faire, une seule est relativement facile à réaliser et est peu coûteuse : la lecture de frottis et de gouttes épaisses de sang ou de liquide de ponction, colorées au May-Grünwald-Giemsa. Le souhait que nous formulons est de voir les agents des services de l'Elevage travaillant sur le terrain disposer du minimum de matériel pouvant leur faire réaliser ce procédé de diagnostic. C'est par l'installation de microscopes dans les villages, au cours des contrôles sur la maladie du sommeil qu'on a réussi, dans les décennies passées à dépister les malades et à les traiter, ce qui a été suivi d'un excellent résultat. Que n'en ferait-on pas autant pour lutter contre les Trypanosomiasés animales ?

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ASHKAR (T.) & OCHILO (M.).- The application of the indirect fluorescent antibody test to samples of sera and dried blood from cattle in Lambwe Valley, South Nyanza, Kenya. Bull. Wild. Hlth. Org., 1972, 47 (6) : 769-772.
- 2 - BIDEAU (J.), GIDEL (R.) & MOITY (J.).- Note préliminaire sur l'étude immunoélectrophorétique du sérum de bovins trypanosomés. Bull. Soc. Pathol. exot., 1966, 59 (5) : 817-825.
- 3 - CLARKSON (M.J.), CORTTRELL (B.A.) & ENAYAT (M.S.).- The indirect haemagglutination test in the study of *Trypanosoma vivax* infections of sheep. Ann. trop. Méd. Parasit., 1971, 65 (3) : 335-340.
- 4 - CUNNINGHAM (M.P.) & al.- Modification of the indirect fluorescent antibody test as applied to bovine trypanosomiasis. East African Trypanosomiasis Research Organization, 1966, annual report.
- 5 - CURASSON (G.).- Traité de Protozoologie vétérinaire et comparée
1 - Trypanosomes, Vigot Frères, édit., Paris, 1943, 445 pp.
- 6 - DOMANSKI (E.).- La réaction de fixation du complément dans la dourine. Bull. Off. int. Epizoot., 1948, 29 (1-2) : 7-11.
- 7 - FREZIL (J.L.).- Application du xénodiagnostic dans le dépistage de la Trypanosomiase à *Trypanosoma gambiense* chez des sujets immunologiquement suspects. Bull. Soc. Path. exot., 1971, 64 (6) : 871-878.
- 8 - GODFREY (D.G.) & LANHAM (S.M.).- Column-separation of trypanosomes in the diagnosis of Gambian Trypanosomiasis. Trans. R. Soc. trop. Méd., 1971, 65 (2) : 248.
- 9 - GODFREY (D.G.) & LANHAM (S.M.).- Diagnosis of Gambian Trypanosomiasis in man by isolating trypanosomes from blood passed through DEAE-cellulose. Bull. Org. mond. Santé., 1971, 45 (1) : 13-19.
- 10 - HARLEY (J.M.B.), ONYANGO (R.J.), WADT (P.de) & van HOEVE (K.).- Attempts at xenodiagnosis of *Trypanosoma rhodesiense* infection in man. East afric. Tryp. Res. Org., Annual Report, 1965, p.23.
- 11 - HEISCH (R.B.), KILLICK-KENDRICK (R.), DORRELL (J.) & MARSDEN (P.D.).- The behaviour of trypanosomes in the testicles of laboratory animals. Trans. R. Soc. trop. Méd., 1968, 62 (1) : 5.
- 12 - HEISCH (R.B.), KILLICK-KENDRICK (R.), GUY (M.W.) & DORRELL (J.).- The development of trypanosomes, leishmaniae and ascitic tumour cells in the testicles of laboratory animals. Trans. R. Soc. trop. Méd., 1970, 64 (5) : 679-682.

.../...

- 13 - HOFF (R.) .- A method for counting and concentrating *Trypanosoma cruzi* in blood lysed with ammonium chloride. J.Parasit., 1974, 60 (3) : 527 - 528.
- 14 - JACKSON (P.R.) .- A new column design for the isolation of bloodstream trypanosomes using DEAE-cellulose. J.Parasit., 1975, 61 (5) : 963-965.
- 15 - KOBAYASHI (A.), SOLTYS (M.A.) & WOO (P.T.K.) .- Comparative studies on the laboratory diagnosis of experimental *Trypanosoma congolense* infection in sheep. Ann.trop.Med.Parasit., 1976, 70 (1) : 53-58.
- 16 - KILLICK-KENDRICK (R.) .- The diagnosis of Trypanosomiasis of livestock, a review of current techniques. Vet.Bull., 1968, 38 (4) : 191-197 .
- 17 - KILLICK-KENDRICK (R.) .- The low pathogenicity of *Trypanosoma brucei* to cattle. Trans.R.Soc.trop.Med., 1971, 65 (1) : 104.
- 18 - LANHAM (S.M.) .- Separation of trypanosomes from the blood of infected rats and mice by anion - exchangers . Nature, 1968, 218 (5148) : 1273-1274.
- 19 - LANHAM (S.M.) .- The separation of trypanosomes from blood on anion - exchange columns. Trans.R.Soc.Trop.Med., 1968, 62 (1) : 4 - 5
- 20 - LANHAM (S.M.) .- The separation of stercorarian trypanosomes from infected blood using DEAE - cellulose. Trans.R.Soc.trop.Med., 1971, 65 (2) : 248-249.
- 21 - LANHAM (S.M.) & GODFREY (D.G.) .- Isolation of salivarian trypanosomes of man and other mammals using DEAE-cellulose. Exp.Parasit. 1970, 28, pp. 321-34
- 22 - LATIF (B.M.A.) & ADAM (K.M.G.) .- Differentiation of *Trypanosoma brucei*, *T.rhodesiense* et *T.gambiense* by the indirect fluorescent antibody test. Bull.Org.mond.Santé, 1973, 48 (4) : 401.407.
- 23 - LAVERGNE (M.) et al. - Macroglobulinémie chez le cheval au cours de l'infection expérimentale à *Trypanosoma equiperdum*. Ann.Inst.Past., Paris, 1969, 116 (6) : 781-783.
- 24 - LEHMANN (D.L.) .- Some physico-chemical means and a cultural method of differentiating *Trypanosoma rhodesiense*, *T.brucei* and *T.congolense*. Ann.trop.Med.Parasit., 1964, 58 (1) : 9-12.
- 25 - LEEFLANG (P.) & al. - A convenient hypotonic lysis method for concentrating trypanosomes from infected blood (correspondance). Trans.R.Soc.trop.Med.Hyg., 1974, 68 (5) : 412.

- 26 - LOSOS(G.J.) & IKEDF (B.O).-Review of pathology of Diseases in domestic and laboratory animals caused by Trypanosoma congolense, T.vivax, T.brucei, T.rhodesiense and T.gambiense.Veterinary Pathology, 1972, 9 (supplementum):71 pp., 298 ref.
- 27 - Mac LENIHAN.- A staining technique for the identification of trypanosomes in thick blood films - Trans.R.Soc.trop.Med., 1957, 51, pp. 301-302.
- 28 -- MEHLITZ (D.) & DEINDL (G.) . Serological studies on cattle experimentally infected with african trypanosomes. Preliminary communication. Zeitschr. Tropenmed.Parasit., 1973, 23 (4) : 411-417.
- 29 - MOLYNEUX (D.P.) (1975)
Diagnostic methods in animal trypanosomiasis.
Vet.Parasit., 1 (1) : 5-17.
- 30 - MULLIGAN (H.W.).- The african Trypanosomiasis, George Allen and Unwin, edit., London, 1970, 950 pp.
- 31 - MWAMBU (P.M.) & OMASET (P.) .- Evaluation of the indirect fluorescence antibody test as used in the diagnosis of bovine trypanosomiasis. East afr.Tryp.Res.Org., Tororo, Uganda, Annual Report, 1967, pp.23-
- 32 - Van MEIRVENNE (N), MOORS (S.A.) & YANSSENS (P.G.).- Serogical studies on animal experimentally infected by african trypanosomes. Trans.R.Soc.trop.Med., 1972, 66 (2) : 333-334.
- 33 - PEGRAM (R.G.) & SCOTT (J.M.).- The prevalence and diagnosis of Trypanosoma evansi infection in camels in southern Ethiopia. Trop.Anim.Hlth. Prod., 1976, 8 (1) : 20-27.
- 34 - PERIE (H.M.) et al.- A refinement of the immunofluorescent complement fixation test for Trypanosoma infections. Tropenmed. Parasit., 1975, 26 (4) : 399-404,
- 35 - RAY (H.N.) .- Use of Stilbamidine in the diagnosis of latent Trypanosomiasis in bovines. Sci.Cult., 1950, 16, 33 (analysé dans Rev.Med.vét.Pays trop., 1951, 5 (1) : 97,
- 36 - RAY (H.N.) & BHASKARAN (R.) .- Chemical tests in bovine surra. Indian vet.Journ., 1953, 30, 236-240 (analysé in Rev.Elev. Med.Vet.Pays trop., 1954, 7 (2) : 125.
- 37 - RICKMAN (L.R.) & ROBSON (J.).- The testing of proven Trypanosoma brucei and T.rhodesiense strains by the blood incubation infectivity test. Bull.Org.Mond.santé, 1973, 42 (6) : 911 - 916.

- 38 - ROBSON (J.) & RICKMAN (L.R.) - Results of a field trial for improved detection of *Trypanosoma vivax* in domestic animals. Bull.epizoot.Dis.Afr., 1972, 20 (4) : 297-299.
- 39 - ROBSON (J.) & ASHKAR (T.S.) - The efficiency of different diagnosis methods in animal Trypanosomiasis based on surveys carried out in Nyanza Province, Kenya. Bull.epizoot.Dis.Afr., 1972, 20 (43) : 303-306,
- 40 - SCHINDLER (R.) - Untersuchungen über die Brauchbarkeit serologischer Verfahren für die diagnose der Rinder Trypanosomiasis in Afrika. Z.Tropenmed.Parasit., 1972, 23 (1) : 78-88.
- 41 - SEYDI (M.) - Contribution à l'étude du diagnostic expérimental des *Trypanosomes* bovines par immunofluorescence indirecte au Sénégal. Thèse Doctorat vétérinaire, n°1, 1974, Université de Dakar, 99 pp.
- 42 - STEPHEN (L.F.) - In MULLIGAN 1970, Loc.cit.
- 43 - TENDEIRO (J.) - *Tripanosomiasis animais da Guiné portuguesa*, [publication] n°10, Centro de Estudos da Guiné portuguesa, Bissau, 1949, 311 pp.
- 44 - TOURE (S.M.) - Description complémentaire de *Trypanosoma theileri* Laveran, 1902. Mention particulière de formes observées en Casamance. Rev.Elev.Med.vét.Pays trop., 1968, 21 (3) : 365-73.
- 45 - TOURE (S.M.) - Méthodes de diagnostic des Trypanosomiasis animales, Rapport OMS/FAO, Genève, Comité d'experts, 21-25 octobre 1974.
- 46 - TOURE (S.M.) - SEYDI (Y.) - SEYE (M.) & KEBE (B.) - Valeur de la méthode d'immunofluorescence indirecte dans le diagnostic des Trypanosomiasis bovines et leur étude épizootiologique. Rev.Elev.Med.vét.Pays trop., 1975, 28 (4) : 463,472.
- 4 - WAIN (E.B.), BURRIDGE (M.J.) & al. - Incidence of bovine Trypanosomiasis in South Bugosa. East African Tryp.Res.Org. Annual Report, Tororo, Uganda, 1960, -pp.59-60.
- 48 - WALKER (P.J.) - Capillary concentration technique applicable to infections of *T.congolense* in cattle - Trans.R.Soc.Med., 1972, 66 (2) : 348.
- 49 - WIESENHUTTER (E.) - (An avaluation of the indirect fluorescent antibody technique in bovine Trypanosomiasis after chemsrophylaxis). Z.Tropenmed.Parasit., 1969, 20 (2) 4 131-136.
- 50 - WIESENHUTTER (E.) - (Comparative studies on the value of the indirect fluorescent antibody test as an aid to diagnosis of bovine Trypanosomiasis in Africa). Z.Tropenmed.Parasit., 1973, 24 (1) : 60-66.

- 51 - WILSON (A.J.), CUMMINGHAM (P.M.) & KIMBER (C.D.).- The indirect fluorescent antibody test applied to bovine Trypanosomiasis. East African Tryp.Res.Org.annual Report, Tororo, Uganda, 1966, pp. 28-29.
- 52 - WILSON (A.J.).- Pattern of common antibody in bovine Trypanosomiasis. Loc.cit., 1967, p.18.
- 53 - WILSON (A.J.).- Value of the indirect fluorescent antibody test as a serological aid to diagnosis of glossina-transmitted Trypanosomiasis. Trop.anim.Hlth.Prod., 1969, 1 (2):89-95.
- 54 - WOO (P.T.K.).- A technique for the parasitological diagnosis of african Trypanosomiasis. Trans.R.Soc.trop.Med., 1371, 65 (2) : 249
- 55 - WOO (P.T.K.) & ROGERS (D.J.).- A statistical study of the sensitivity of the haematocrit centrifuge technique in the detection of trypanosomes in blood. Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg., 1974, 68 (4) : 319-326. --
- 56 - ZWART (D.), FERIE (N.M.) & al.- A comparison of methods for diagnosis of trypanosomiasis in East african domestic Ruminants. Trop.ann.Hlth.Prod., 1973, 5 (2): 79-86.