

REPUBLIQUE DU SENEGAL

MINISTERE DU DEVELOPPEMENT
RURAL ET DE L'HYDRAULIQUE

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES
AGRICOLES (I.S.R.A)

DEPARTEMENT DE RECHERCHES SUR LES
PRODUCTIONS ET LA SANTE ANIMALES

LABORATOIRE NATIONAL DE L'ELEVAGE
ET DE RECHERCHES VETERINAIRES
B.P. 2057

DAKAR-HANN

PROGRAMME COORDONNEE RECHERCHE SUR
L'AMELIORATION DU DIGNOSTIC ET DE LA
SURVEILLANCE DES TRYPANOSOMIASES ET
AUTRES MALADIES A VECTEURS BIOLO-
GIQUES DU BETAIL AFRICAIN PAR
L'USAGE DE METHODES **SERO-**
IMMUNOLOGIQUES

CONVENTION AIEA/ISRA N°4975 PORTANT SUR
L'UTILISATION DE LA TECHNIQUE **ELISA** DE
DETECTION DES ANTIGENES DANS L'ETUDE
DE **L'INCIDENCE** DE LA TRYPANOSOMIASE
ANIMALE EN ZONE D'ELEVAGE DU
DIAKORE (CROISEMENT ZEBU-NDAMA)

RAPPORT SUR L'EXECUTION DE LA DEUXIEME PHASE
DECEMBRE 1989 - DECEMBRE 1990

Par

A. DIAITE, G. VASSILIADES, M. SEYE,
A. MANE et Mme T. NDIAYE

REF. N°19/PARASITO.
MARS 1991.

ZV000 1056/1
hétérozoologie: Trypanos.
1891

RESUME

La deuxième phase des études pour la validation de la technique **ELISA** de détection d'antigènes sériques trypanosomiens, entamée en décembre 1989 sur des bovins de Sokone (Centre Sud du Sénégal) s'est achevée en décembre 1990.

Les résultats obtenus après analyse de 298 échantillons sériques sont exposés et discutés. Les taux de prévalence de **T.vivax** et **T.congolense** gravitent autour de 15 p.100, avec des fréquences plus élevées en sérologie. **T.brucei** demeure rare avec seulement 2 P.100 d'animaux séro-positifs.

Les auteurs soulignent la sensibilité et la spécificité de la technique et la trouvent complémentaire des autres méthodes de diagnostic des trypanosomiasés bovines.

Par ailleurs, il semble que la zone de Sokone renferme des souches de trypanosomes chimiorésistantes.

Enfin, les auteurs s'interrogent sur la valeur de cette technique dans les zones à haut risque de trypanosomiase, en raison des aptitudes immunitaires des races bovines trypanotolérantes. Ils estiment cependant que la technique pourrait être validée.

MOTS - CLES

Trypanosomes - Diagnostic - Elisa - Anticorps monoclonaux.

INTRODUCTION

La mise au point de techniques de diagnostic plus performantes représente l'un des objectifs majeurs des recherches en vue d'un contrôle plus efficace des trypanosomiasés.

Dans le principe, la meilleure technique est celle qui permet de visualiser le parasite. Mais les méthodes employées jusqu'ici à cette fin se sont révélées insuffisamment sensibles, avec notamment de nombreux faux négatifs. D'où l'usage parallèle de méthodes séro-immunologiques (immunofluorescence, Elisa, etc...) pouvant détecter les anticorps résultant de la présence des trypanosomes.

Là aussi, l'apparition tardive des anticorps dans le sérum (environ deux semaines après l'infestation) et leur persistance plus de trois mois après guérison ont montré qu'il s'agit davantage d'outils d'enquêtes épizootiologiques que de diagnostic individuel. De plus, le dépistage se limite souvent au genre et arrive difficilement à distinguer les espèces.

La variante recherche d'antigènes circulants a semblé offrir des perspectives plus intéressantes : les substances antigéniques libérées dans la circulation générale par suite de phagocytose des trypanosomes peuvent être détectées dans le sérum. Ces substances étant nécessairement contemporaines de la présence des parasites, leur détection signe une infestation **actuelle**. Et l'usage à cette fin d'anticorps monoclonaux à haute spécificité permet d'identifier l'espèce de trypanosome en cause.

Telles furent en tout cas les conclusions tirées des premiers essais réalisés par Nantulya sur les trois principales espèces de trypanosomes pathogènes d'Afrique : **T.congolense**, **T.vivax** et **T.brucei**.

Il restait à valider cette technique en définissant ses conditions d'utilisation optimale à partir d'échantillons sériques plus nombreux et de souches de trypanosomes plus diversifiées quant à leur provenance géographique.

C'est là l'un des objectifs de ce programme coordonné regroupant plusieurs pays africains et supervisé par l'AIEA, la FAO et l'ILRAD. La participation du Sénégal à ce programme a fait l'objet de la convention AIEA/ISRA n°4975.

Ce rapport est consacré à l'exécution de la deuxième phase de cette convention, qui a couvert la période allant de décembre 1989 à décembre 1990.

Un rapport sur l'avancement des travaux a été rédigé pour chacun des trois premiers trimestres de 1990 (cf. rapports Parasito. n°29, 67 et 70, 1990).

La première phase (décembre 1988 - juin 1989) avait fait l'objet du rapport n°24/Parasito., 1990).

1. MATERIEL ET METHODES

1.1 - Sites expérimentaux - Animaux cibles

Une enquête préliminaire, effectuée en décembre 1988 dans la zone du Niombato (Centre Sud du Sénégal) avait permis de choisir les sites expérimentaux et les animaux cibles en fonction de la présence des glossines.

C'est ainsi que les villages de Karang (16°25 Ouest - 13°35 Nord) et de Keur Aliou GUEYE (16°25 Ouest - 13°45 Nord) ont été retenus. Ces deux villages sont limitrophes de forêts classées infestées de tsé-tsé (*Glossina morsitans submorsitans*) avec une densité plus élevée à Karang.

Les bovins vivant dans cette zone sont principalement des Ndama et des croisements Zébu-Ndama (Diakoré) réputés trypanotolérants. On y trouve aussi des Zébus trypanosensibles, le plus souvent des taureaux géniteurs.

Dans chacune de ces deux localités, 20 bovins avaient été choisis et identifiés par pose de boucles numérotées à l'oreille, soit au total 40 animaux. Mais à la suite du désistement d'un éleveur-propriétaire et du retrait de certains animaux des troupeaux (ventes, mortalités, etc...), l'effectif suivi était de 26 bovins au début de cette seconde phase (nous avons éliminé les données recueillies en décembre 1989 sur le troupeau qui n'est désisté en janvier 1990).

Ces 26 bovins se répartissaient comme suit :

- 3 mâles de 3 à 4 ans
- 23 femelles de 3 à 10 ans.

Les échantillons recueillis sur ces animaux sont dénommés "prélèvements de Sokone (SK)", centre urbain le plus proche de ces deux villages et où l'équipe en tournée se basait pour assurer la conservation sous froid des sérums.

Les prélèvements de sérum ont concerné également des bovins Zébus vivant à Dahra (DR) : 15°50 Ouest - 15°20 Nord, une zone indemne de glossines. Au total 16 bovins y ont été prélevés et ont servi de **témoins pour** le contrôle de qualité des réactifs biologiques.

1.2 - Prélèvements - Analyses - Traitements

Une modification importante du protocole est intervenue au début de cette seconde phase : tous les bovins suivis ont été traités au Bérénil aussitôt après les prélèvements de la première visite de décembre 1989 (D1), puis au Trypamidium 15 ou 45 jours après, conformément au tableau ci-dessous

LOT	T R A I T E M E N T S	
	Bérénil : I.M.	Trypamidium 0,5 mg/kg : I.M.
N° 81 à 90	10,5 mg/kg	15 jours après Bérénil
N° 101 à 110	10,5 mg/kg	45 jours après Bérénil
N° 111 à 120	7,0 mg/kg	15 jours après Bérénil
N° 91 à 100*	3,5 mg/kg	15 jours après Bérénil

Ces traitements visaient à apprécier l'effet de la chimiothérapie (Bérénil) et de la chimioprévention (Trypamidium) sur l'antigénémie et à se prononcer sur l'existence éventuelle de souches locales de trypanosomes chimiorésistantes. Pour cette raison, les traitements ponctuels des animaux avec des trypanocides n'a été repris qu'à la fin supposée l'effet du Trypamidium.

.../...

* Désistement de l'éleveur propriétaire de ce lot après le traitement au Trypamidium. Les données recueillies en décembre sur ces bovins ne sont pas traitées dans ce rapport.

D'autres innovations ont été introduites : préservation des sérums **avec du benzoate** de Sodium à la place de l'**azide** de sodium ; **usage d'un nouveau lot** d'anticorps et de conjugués **monoclonaux** à diluer respectivement au 1/500 et au 1/1000 au lieu de 1/100 ; eau oxygénée livrée en pastilles effervescentes (et **non** en solution concentrée) à faire dissoudre dans de l'eau distillée ; révélateur **ABTS** en poudre (et non plus en solution) à reprendre également dans de l'eau distillée ; enfin utilisation d'éponges spéciales pour égoutter les plaques, en lieu et place des mouchoirs absorbants.

Il n'y a pas eu d'autre modification du protocole ni sur le terrain, ni au niveau des analyses en laboratoire. Voici, à titre de rappel, les grandes lignes de ce protocole.

Sur les bovins suivis dans la zone à glossines, une visite mensuelle a été effectuée régulièrement de décembre 1989 à décembre 1990, à intervalles de 30 jours le plus souvent. Les prélèvements et analyses ci-dessous ont été régulièrement entrepris.

- Récolte de sang périphérique en tubes capillaires (2 tubes par animal), centrifugation sur place et lecture du P.C.V. : valeur moyenne sur les 2 tubes.
- Lecture sur place de l'interphase de ces microtubes.
- Confection de frottis de sang, **coloration** et lecture au laboratoire.
- Collecte de sang jugulaire en tubes "vacutainer" secs, **centrifugation** 24heures après saignée, **récolte** des sérums et adjonction de **0,01 p.100** de **benzoate** de Sodium ; stockage à **- 20°C** jusqu'à l'emploi.
- Epreuves **ELISA** de détection d'antigènes circulants avec les réactifs et selon le protocole du trousseau **FAO/AIEA/ILRAD**.

Ces épreuves sérologiques concernent aussi les sérums prélevés sur des bovins Zébus de la zone témoin de Dahra.

- Prélèvement par voie rectale (tous les 3 mois) de selles en flacons individuels renfermant une solution de Formol à 5 p.100 ; analyse coprologique au laboratoire.
- Reprise en juin des traitements au Bérénil (7 mg/kg, I.M.) des animaux parasitémiqes ou séro-positifs. Ces traitements avaient été suspendus pour apprécier les effets de la chimioprévention faite sur l'ensemble des bovins suivis en décembre 1989. Cependant, les animaux non cibles des troupeaux encadrés ont continué à bénéficier de traitements trypanocides et autres, gratuits, à la demande des éleveurs.
- Vaccination des troupeaux encadrés contre le charbon bactérien suite à une présomption d'épizootie charbonneuse dans un pays voisin.

II. RESULTATS PROTOZOOLOGIQUES, HEMATOLOGIQUES ET COPROLOGIQUES

2.1 - Trypanosomes pathogènes

	Nombre de cas mensuels relevés en microscopie													
	Déc. 1	Déc. 2	Janv.	Fév.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juil.	Août	Sept	Oct.	Nov.	Déc.
T.brucei	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T.congolense	1	0	0	0	0	0	0	1	1	2	5	2	0	2
T.vivax	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nombre de bovins exa-	26	26	25	25	15	23	21	21	21	22	20	19	17	17

Ce tableau indique, pour **T.brucei** et **T.vivax**, des résultats identiques à ceux obtenus au cours de la première phase : aucun cas n'a été diagnostiqué au microscope. Pour **T.congolense**, par contre, la parasitémie réapparaît 6 mois après les traitements trypanocides et persiste jusqu'en décembre, avec un pic de 25 p.100 en septembre (5 cas sur 20 analyses) et une éclipse en novembre. Au total 14 cas ont été diagnostiqués de décembre 1989 à décembre 1990, soit un **taux** d'infestation de 4,69 p.100.

.../...

2.2 - Hématocrite

2.2.1 - Résultats mensuels

	Nombre de bovins *	Aptitude de l'hématocrite	Moyenne % + intervalle de confiance à 5 p.100
Déc.1	26	28 à 47	35,4 ± 2,4
Déc. 2	26	28 à 50	37,0 ± 2,4
Janvier	25	24 à 49	36,4 ± 2,8
Février	25	22 à 49	36,8 ± 2,8
Mars**	∅		
Avril	23	26 à 49	37,2 ± 2,6
Mai	21	28 à 44	33,8 ± 2,3
Juin	21	21 à 44	31,1 ± 2,5
Juillet	21	22 à 39	28,6 ± 2,0
Août	22	20 à 40	30,2 ± 1,9
Septembre	20	22 à 38	30,2 ± 1,8
Octobre	19	21 à 36	29,5 ± 2,0
Novembre	17	25 à 40	33,2 ± 2,4
Décembre	17	22 à 41	34,1 ± 2,8
TOTAL	283	20 à 50	33,5 ± 0,6

Les hématocrites moyens mensuels sont presque tous inférieurs à la norme de 37,7 + 1,2 p.100 calculée par FRIOT et CALVET pour les métis zébu-Taurins du Sénégal. Tout comme la moyenne générale. Et cette anémie s'accroît de juin à octobre, sans doute en raison de la pression parasitaire pendant la saison des pluies.

.../...

* Les effectifs examinés figurant sur ce tableau, ainsi que les moyennes de l'hématocrite, sont différents de ceux mentionnés dans les rapports du premier et du deuxième trimestres. C'est que d'une part, le lot d'animaux qui s'est retiré en janvier avait été inclus dans ces rapports ; d'autre part, la présentation des résultats en fonction de la période post-thérapeutique tenait compte du décalage de 30 jours entre les animaux traités au Trypanimidium 15 jours après Bérénil et ceux traités 45 jours après. Il en est ainsi pour tous les tableaux et figures de ce rapport.

** L'hématocrite moyen du mois de mars lu sur 6 bovins...

2.2.2 - Résultats des bovins trypanosomés et non trypanosomés

Le tableau ci-dessous répartit l'ensemble des données de l'hématocrite en quatre lots : les bovins trypanosomés, sans distinction d'espèces, les positifs à *T.vivax* seul, ceux à **T.congolense** seul, et enfin ceux qui sont restés négatifs à *Trypanosoma* aussi bien en sérologie qu'en microscopie. Il n' y a eu qu'un cas positif à *T. brucei* seul (les autres sont associés à **T.v.** ou **T.c.**). Les associations **T.b.**, **T.v.**, **T.c.** sont pris en compte dans le lot des trypanosomés.

Lot	Nombre de bovins	Amplitude de l'hématocrite	Moyenne % + intervalle de confiance à 5 p.100
Trypanosomés	79	21 à 42	31,7 ± 1,1
T.vivax seul	32	26 à 42	34,4 + 1,6
T.congolense seul	24	21 à 47	31,2 + 2,4
Non trypanosomés	214	20 à 50	34,0 + 0,8

On note ici que les bovins positifs à **T.congolense** ont une moyenne de l'hématocrite similaire à celle obtenue par le lot des trypanosomés (différence non significative à l'analyse de **variance**), ceux qui hébergent *T.vivax* offrent la même moyenne que les négatifs (différence non significative également). Par contre, une différence significative est notée entre l'hématocrite moyen des porteurs de **T.congolense** et celui des positifs à **T.vivax**. Il se confirme que **T.c.** est plus anémiant que **T.v.** pour les bovins. Entre trypanosomes et négatifs, la différence est également significative au seuil de 5 p.100.

En comparant ces moyennes avec la norme raciale (37,7 ± 1,2), on observe une anémie dans tous les lots, mais qui est plus marquée dans le groupe des trypanosomés que dans celui des négatifs.

2.3 - Coprologie

Les analyses coprologiques trimestrielles révèlent en général de faibles taux d'infestation par des Strongles et des Coccidies. Au mois de février cependant, 3 bovins (N°s 83, 90 et 106) se sont montrés positifs à

- plaques **T.v.** et **T.c.** : 10 μ l de sérum pur dans les 100 μ l de tampon
- plaque **T.b.** : 5 μ l de sérum pur dans 100 μ l de tampon.

Scellage des plaques, homogénéisation puis incubation 15 minutes à la température du laboratoire (environ 20°C).

- Vidange de la plaque, 1 rinçage rapide suivi de 2 trempages de 10 mn chacun dans PBS-Tween. Séchage sur éponges.
- Distribution de l'anticorps monoclonal spécifique marqué à la Péroxydase (conjugué), 100 μ l par cupule (sauf rangée 1). Incubation 15 mn à la température du laboratoire. Le conjugué est dilué dans le tampon PBS-Tween additionné de 1 p.100 de sérum-Albumine de bovin (B.S.A.).
- Vidange, rinçage, puis 3 trempages de 10 mn chacun. Séchage.
- Distribution du révélateur (**A.B.T.S + H₂O₂**) dans toutes les cupules, 100 μ l par cupule. Incubation 30 mn à la température du laboratoire et à l'obscurité.
- Lecture des résultats au spectrophotomètre, à 405 nm.

Une coloration verte se développe dans les cupules à réaction positive, tandis que la colonne 1 ("**blank**") et les cupules à sérum négatif doivent rester incolores. L'intensité de cette coloration est proportionnelle à la quantité d'antigènes trypanosomiens prise en sandwich par les deux couches d'anticorps monoclonaux spécifiques (anticorps de sensibilisation et conjugué). L'appareil exprime les résultats sous forme de densités optiques (d.o.)

A l'issue des essais réalisés au début de la première phase et en accord avec l'**ILRAD**, le d.o. de 0,050 a été retenu comme seuil de **positivité**.

3.2 - Résultats

Les tableaux et figures annexés à ce rapport donnent les résultats de sérologie sous plusieurs angles.

Le tableau 1 indique les fréquences mensuelles et globales des trypanosomes pathogènes sans distinguer les associations parasitaires. Le tableau 2 donne le détail des infestations monospécifiques, mixtes et triples,

Sur les 298 analyses effectuées dans la zone à glossines, on trouve :

- **Trypanosoma vivax (T.v.)** : 45 cas au total, soit 15,10 p.100. Le taux mensuel le plus élevé se situe en octobre : 42,10 p.100 (5 cas monospécifiques, 2 cas associés à **T.congolense** et 1 autre à **T.brucei** et **T.congolense**, sur 19 analyses). parmi ces animaux séro-positifs à **T.v.**, figure régulièrement le n°87.

- **Trypanosoma congolense (T.c.)** : 39 séro-positifs, soit 13,08 p.100, avec une répartition différente à travers l'année. La fréquence la plus forte est celle du mois de novembre : 35,29 p.100 (5 séro-positifs monospécifiques et 1 association **T.v. - T.c.**, sur 17 échantillons analysés). Il n'y a pas eu de séro-positivité à **T.c.** de février à mai.

- **Trypanosoma brucei (T.b.)** : 6 cas au total, soit un taux de 2,01 p.100 : 1 cas monospécifique en décembre (D2), 2 associations **T.b. - T.v.** en décembre toujours (D1) et 2 autres à **T.b., T.v., T.c.** pour le même mois (D1). Le sixième cas est une autre association **T.b., T.v., T.c.** décelée en octobre.

S'agissant des 16 échantillons sériques prélevés sur les bovins de la zone témoin DR, 1 seul cas de séro-positivité est relevé. Il s'agit de l'animal n°122, qui réagit à nouveau avec l'anticorps **T.vivax**, comme ce fut le cas en 1989.

Pour les 15 autres bovins, l'amplitude des densitésoptiques va de 0,001 à 0,041 pour **T.v.**, 0,001 à 0,010 pour **T.c.** et 0,001 à 0,005 pour **T.b.**

Les tableaux 3 et 5 reprennent les données ci-dessus et les complètent avec les résultats des examens au microscope. On y constate que :

- **T.vivax** est **T.brucei** n'ont pas pu être visualisés au microscope
- Par contre, 14 cas de **T.congolense** ont été diagnostiqués avec cette technique.

.../...

Parmi lesquels 7 ont été confirmés en **ELISA**. Les 7 cas non confirmés en sérologie portent à 46 le nombre total d'analyses positives à **T.c.**, toutes techniques confondues, soit une fréquence de 15,92 p.100.

Les figures I à III montrent la dispersion des densités optiques et permettent une comparaison des résultats des deux zones (zone à glossines SK et zone témoin DR). Les résultats de cette zone témoin ainsi que ceux des sérums de contrôle positifs et négatifs permettent par ailleurs d'affirmer que les réactifs utilisés ont gardé leur bonne qualité tout au long des travaux (93,75 p.100 de séro-négatifs dans le lot témoin DR ; sérum de contrôle "+" et "-" régulièrement séro-positifs et séro-négatifs respectivement).

La figure IV, relative aux effets des trypanocides montre deux situations différentes :

- dans les lots traités au Trypamidium 15 jours après bérénil, on note une chute brusque de l'antigénémie après le premier traitement, puis une stabilisation après le trypanidum, qui se prolonge pendant 3 mois pour **T.v.** ; 5 mois pour **T.c.** et quasi-définitivement pour **T.b.** De plus, les taux de séro-positivité obtenus avec ces animaux avant les traitements n'ont été à nouveau atteints qu'en mai pour **T.v.** (+ 5 mois) et seulement en novembre pour **T.c.** (+ 11 mois) ;
- les bovins ayant reçu le trypanidum 45 jours après bérénil montrent quant à eux une remontée significative de l'antigénémie en janvier (saignée précédant le traitement au trypanidum). Par la suite, ils se sont comportés comme les autres lots.

Ces observations sont d'ordre général puisque, nous l'avons vu le bovin n°87 est resté constamment séro-positif malgré ces traitements de décembre et malgré les traitements ponctuels au bérénil repris en juin.

DISCUSSION

Au vu des résultats sérologiques enregistrés tout au long de ce travail, la première question que l'on se pose est celle-ci : les séro-positivité décelées en dehors de parasitémies lisibles au microscope traduisent-elles réellement des cas d'infestation ?

Dans le rapport final rédigé à la fin de la première phase, nous avons répondu oui à cette question, avec des arguments liés à la biologie des trypanosomes et au comportement immunologique de l'animal infesté. Ainsi, au début de l'infestation et à celui que chaque nouveau variant antigénique, la parasitémie peut être submicroscopique, c'est-à-dire si faible qu'elle est illisible. Les quantités d'anticorps produites étant encore faibles elles aussi, il n'y a pas de phénomène de saturation et les antigènes peuvent être décelés dans le sérum.

D'autres arguments tirés de l'examen de ces résultats s'y ajoutent :

- Les sérums témoins en provenance de la zone sans glossines sont dans l'ensemble séro-négatifs (le seul cas de **T.vivax** noté pourrait relever d'une transmission mécanique par des insectes autres que les glossines)
- Les taux de séro-positivité (autour de 15 p.100) représentent une situation normale pour cette zone (concernant **T.vivax** et **T.congolense**) où l'on trouve par endroits de très fortes densités de glossines. Et surtout, ces gîtes sont le plus souvent des forêts classées où les animaux paissent et s'abreuvent une bonne partie de l'année, maintenant ainsi des contacts fréquents avec le vecteur. Il est donc vraisemblable qu'une telle enzootie trypanosomienne prévale dans cette zone.
- Enfin et concernant plus particulièrement **T.vivax** dont aucun cas n'a pu être visualisé au microscope, le tableau de l'hématocrite en fonction de la présence des trypanosomes conduit à des hypothèses intéressantes : les bovins séro-positifs à **T.v.** obtiennent un hématocrite moyen supérieur à celui des porteurs de **T.congolense** et très voisin de celui des négatifs. Est-ce à dire que les souches de **T.v.** présentes dans cette zone sont quasi-inoffensives ou en tout cas moins pathogènes que **T.c.** pour les bovins ? Ou que ces bovins parviennent à contrôler parfaitement cette espèce parasitaire et la maintiennent à des niveaux de parasitémie trop bas pour être lisible au microscope ?

Du reste, ces deux hypothèses peuvent prévaloir en même temps. Dans ces conditions, il est concevable que des animaux virtuellement aparasitémiques soient séro-positifs.

La deuxième question est relative à l'existence ou non de souches de trypanosomes chimiorésistantes dans cette zone. Le cas du bovin n°87 semble montrer qu'il en existe. Ni le bérénil à 10,5 mg/kg, ni le trypanidium à 0,5 mg/kg n'ont pu mettre fin à la séro-positivité constante de **cete** animal qui devait mourrir au mois d'octobre dans des circonstances bizarres (troubles nerveux). Des inoculations de chèvres ont été faites à deux reprises avec le sang de ce bovin, mais les chèvres sont mortes accidentellement avant la sortie éventuelle de trypanosomes. Ce qui est certain, c'est que ce bovin a eu un comportement sérologique constant et différent de celui de tous les autres animaux suivis.

Il faut ajouter que les agents de l'élevage en poste dans la zone se plaignent souvent de traitements trypanocides infructueux, et qu'ils ont tendance, de plus en plus, à changer de médicament.

Une troisième question consiste à savoir si les hématocrites moyens calculés pour ces animaux traduisent bien une anémie. On peut sans doute répondre oui pour les bovins infestés par **T.congolense** (31,7 p.100). Pour les autres (négatifs et porteurs de **T.vivax**), la prudence s'impose. En effet, l'anémie est déclarée ici en comparaison avec la norme raciale des métis zébus-Ndama (37,7 p.100). Or, nous n'avons pas de renseignements précis sur le degré de métissage de ces animaux, qui peuvent être issus d'un brassage de sang les rapprochant plus ou moins de la Ndama pure. S'ils sont plus proches de la Ndama, la moyenne hématocrite de 34 p.100 qu'ils ont obtenue n'indique pas forcément une anémie puisque la norme pour cette race est de 34,7 p.100.

CONCLUSION

Au terme des travaux de cette deuxième phase, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

- les espoirs placés dans la technique **Elisa** de recherches d'antigènes circulants pour le diagnostic des trypanosomiasés bovines semblent justifiés : les réactions sérologiques ont une spécificité remarquable et permettent une distinction sans équivoque entre **T.vivax**, **T.congolense** et **T.brucei brucei** ; la technique est très sensible et se réalise avec de petites quantités de réactifs ; l'application de la méthode ne requiert pas de compétence particulière, mais seulement de l'attention et de la rigueur ; les réactifs biologiques mis en oeuvre se conservent longtemps à $+4^{\circ}\text{C}$ ou -20°C sans perdre leurs propriétés ; enfin, son emploi sur des échantillons sériques prélevés sur le terrain ne demande pas de précautions spéciales autre que l'emploi d'un préservatif antiseptique et le maintien de la chaîne de froid ;
- la complémentarité entre cette technique et les méthodes de diagnostic parasitologique en fait des outils de choix pour une évaluation plus juste des infestations trypanosomiennes.

Un point d'interrogation subsiste cependant : dans les régions à pression vectorielle très élevée et où vivent des animaux hautement trypanotolérants, peut-on s'attendre à ce que la technique donne les mêmes performances qu'en zone à moindre incidence trypanosomienne ?

En effet, si le bétail à trypanotolérance excellente produit constamment de grandes quantités d'anticorps, n'y-a-t-il pas une saturation permanente des sites antigéniques **in vivo** empêchant ainsi la réaction sérologique *in vitro* ? Il nous paraît important de travailler à répondre à cette question, notamment en reprenant cette étude dans la région Sud du Sénégal fortement infestée de glossines et où vivent des bovins Ndama possédant un degré de trypanotolérance remarquable.

Sauf cette réserve, il nous semble opportun de valider cette technique, au moins pour la surveillance de zones à risques faibles ou moyens.

REMERCIEMENTS

- Les agents de l'Elevage en service dans la zone de Niombato ont facilité les contacts avec les éleveurs et ont contribué à instaurer le climat de confiance qui a prévalu tout au long de ces travaux.
- La plupart des éleveurs zélandais ont bien voulu mettre leurs animaux à notre disposition, et cela pendant plus de deux ans, tout en accueillant l'équipe en tournée avec courtoisie à chaque fois.
- Monsieur Diéry KANE, Chef de poste vétérinaire dans la zone, a gracieusement accepté d'héberger l'équipe à Sokone pour l'ensemble des visites.
- Monsieur le docteur SYLLA, Chef de l'Unité FAO de contrôle des vaccins a bien voulu mettre à notre disposition le lecteur Elisa de son Unité tout au long de ce travail.
- Le service de Parasitologie du LNERV leur adresse ses vifs et sincères remerciements.

Tableau 1 : FREQUENCES DES TRYANOSOMES EN SEROLOGIE

MOIS	Nombre de bovins examinés	T. brucei +		T. vivax +		T. congolense +		Séro-négatifs	
		n	%	n	%	n	%	n**	%
D1*	26	4	15,38	5	19,23	9	34,61	4	53,85
D2*	26	1	3,85	4	15,38	3	11,54	19	73,08
Janv.	25	0	0,00	7	28,00	4	16,00	18	72,00
Fév.	25	-	-	3	12,00	0	0,00	22	88,00
Mars	15	-	-	0	0,00	-	-	15	100
Avr.	23	-	-	1	4,35	-	-	22	95,65
Mai	21	-	-	4	19,05	-	-	17	80,95
Juin	21	-	-	1	4,76	1	4,76	19	90,48
Juil.	21	-	-	2	9,52	1	4,76	19	90,48
Août	22	-	-	2	9,09	2	9,09	18	81,82
Sep.	20	-	-	2	10,00	4	20,00	14	70,00
Oct.	19	1	5,26	8	42,10	6	31,58	8	42,11
Nov.	17	0	0,00	4	23,53	6	35,29	8	47,06
Déc.	17	-	-	2	11,76	3	17,65	13	76,47
TOTAL	298	6	2,01	45	15,10	39	12,08	226	75,84
Temoins DR	16	0	0,00	1	6,25	0	0,00	15	93,75

Tableau 2 : REACTIONS MONOSPECIFIQUES ET REACTIONS CROISEES

MOIS Anticorps	NOMBRE D'ECHANTILLONS SERO-POSITIFS A L'UN OU/ET L'AUTRE ANTICORPS														TOTAL	TEMOINS DR
	D1 (n=26)	D2 (n=26)	J. (n=25)	F (n=25)	M (n=15)	A (n=23)	M (n=21)	J (n=21)	J (n=21)	A (n=22)	S (n=20)	O (n=19)	N (n=17)	D (n=17)		
T.b.	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0
T.v.	3	3	3	3	0	1	4	1	1	2	2	5	3	1	32	1
T.c.	5	2	0	0	0	0	0	1	0	2	4	3	4	2	27	0
T.b.T.v	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
T.b.T.c.	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	0
T.v.T.c.	0	1	4	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1	1	10	0
TbTvTc	2	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0	0	3	0

* : D1 - D2 = Première et deuxième visites de décembre 1989.

** : La somme des séro-positifs et des séro-négatifs est supérieure au total examiné: c'est qu'un même animal est compté deux ou trois fois s'il est séro-positif à deux ou trois espèces de trypanosomes.

Tableau 3 : Plaques à T. vivax.

Bovin Mois N°	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	101	102	103	105	106	107	108	109	111	113	114	115	116	117	118	120
D1*							S											S	S		S	S				
D2*							S										S		S		S					
Janv.							S		S		S		S	φ			S	S			S					
Fév.							S							φ			S				S					
Mars							φ				φ	φ	φ	φ	φ	φ	φ	φ			φ					φ
Avr.							S					φ		φ							φ					
Mai						φ	S				φ	φ		φ			S				S	S				φ
Juin	φ					φ	S					φ		φ												φ
Juil.						φ	S					φ		φ				S						φ		φ
Août						φ	S					φ		φ								S				φ
Sep.						φ	S				φ	φ		φ	φ			S								φ
Oct.						φ	S	S			φ	φ		φ	φ	S	S	S				S	S	S		φ
Nov.	S					φ	φ				φ	φ		φ	φ	S	φ				S		S			φ
Déc.						φ	φ				φ	φ		φ	φ	S	φ				S					φ

Tableau 4 : Plaques à T. congolense.

Bovin Mois N°	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	101	102	103	105	106	107	108	109	111	113	114	115	116	117	118	120	
D1*		S	S	S			S					S	S				S	S								S	
D2*		S	S				S											S	S								
Jan.							S						S	φ			S					S					
Fév.														φ								S					
Mars							φ					φ	φ	φ	φ	φ	φ	φ			φ					φ	
Avr.													φ		φ							φ					
Mai							φ					φ	φ		φ							φ				φ	
Juin	φ						φ					φ		φ					M		S					φ	
Juil.							φ					φ		φ					S				M	φ		φ	
Août				S			φ			M		φ	S	φ						M						φ	
Sep.		S	M		S	M	φ			M	φ	φ	S	φ	φ							S		M		M	φ
Oct.				S			φ				φ	φ		φ	φ				S	φ		S		S	S	S	φ
Nov.			S				φ	φ			φ	φ	S	φ	φ			S	φ	φ			S		S	S	φ
Déc.							φ	φ			φ	φ	S	φ	φ			S	φ	φ						S	φ

* : D1 = première et deuxième visites de décembre 1989
 M = Trypanosomes décelés au microscope
 S = Séro-positif

Tableau 5: Plaques à T. brucei.

Bovin Mois	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	101	102	103	105	106	107	108	109	111	113	114	115	116	117	118	120	
81		S					S						S					S									
82													S														
Janv.														φ													
Fév.														φ													
Mars							φ				φ	φ	φ	φ	φ	φ	φ	φ		φ							φ
Avr.												φ		φ							φ						
Mai						φ					φ	φ		φ													φ
Juin	φ					φ						φ		φ													φ
Juil.						φ						φ		φ											φ		φ
Août						φ						φ		φ													φ
Sep.						φ						φ	φ		φ	φ											φ
Oct.						φ						φ	φ		φ	φ			S	φ							φ
Nov.						φ	φ					φ	φ		φ	φ			φ	φ							φ
Déc.						φ	φ					φ	φ		φ	φ			φ	φ							φ

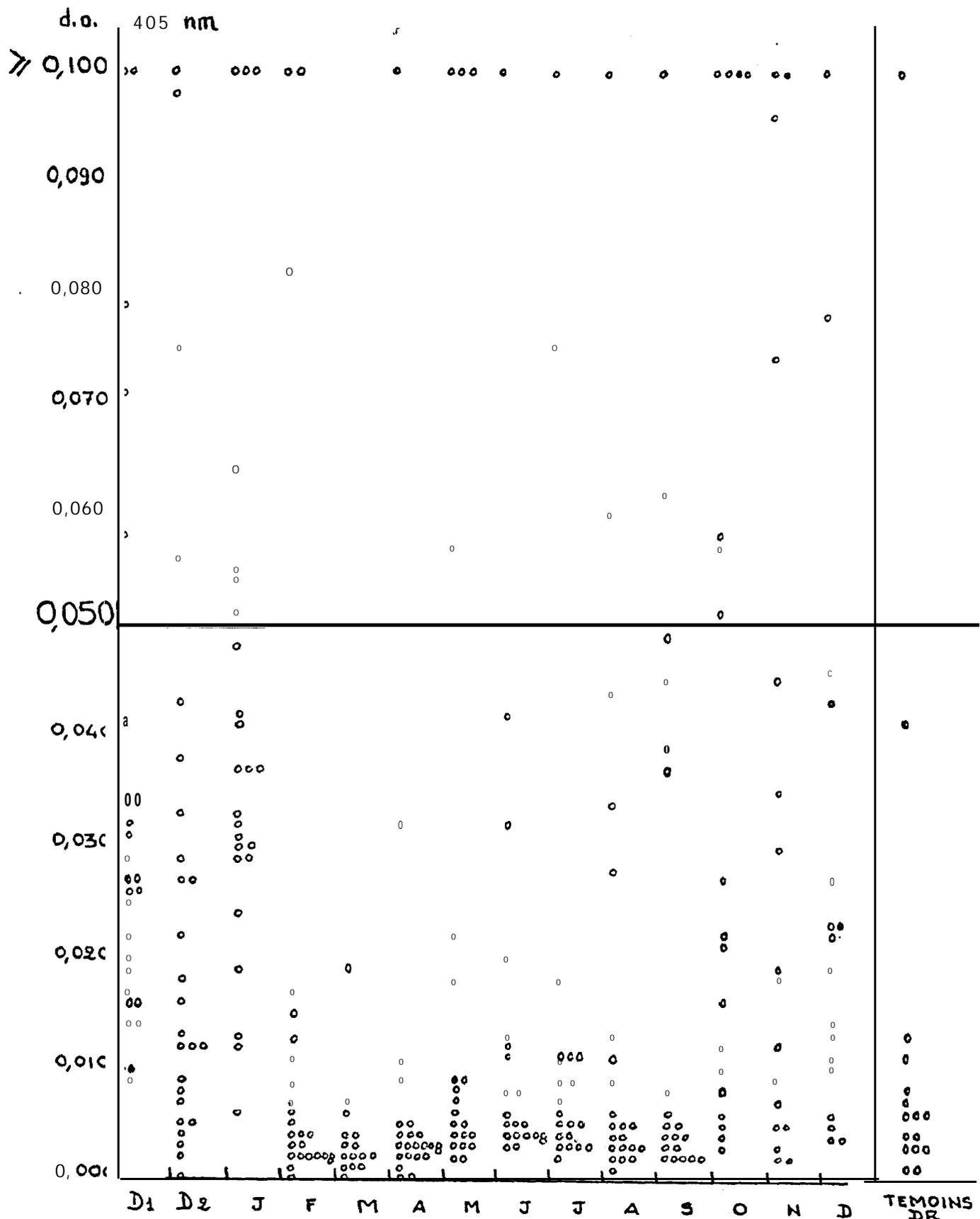


Figure I : Dispersion des densités optiques
 (Plaques T. vivax - Décembre 89 - Décembre 90)
 seuil de positivité: d.o. = 0,050
 D1 = première visite de décembre 89 => avant traitement au Bixénil

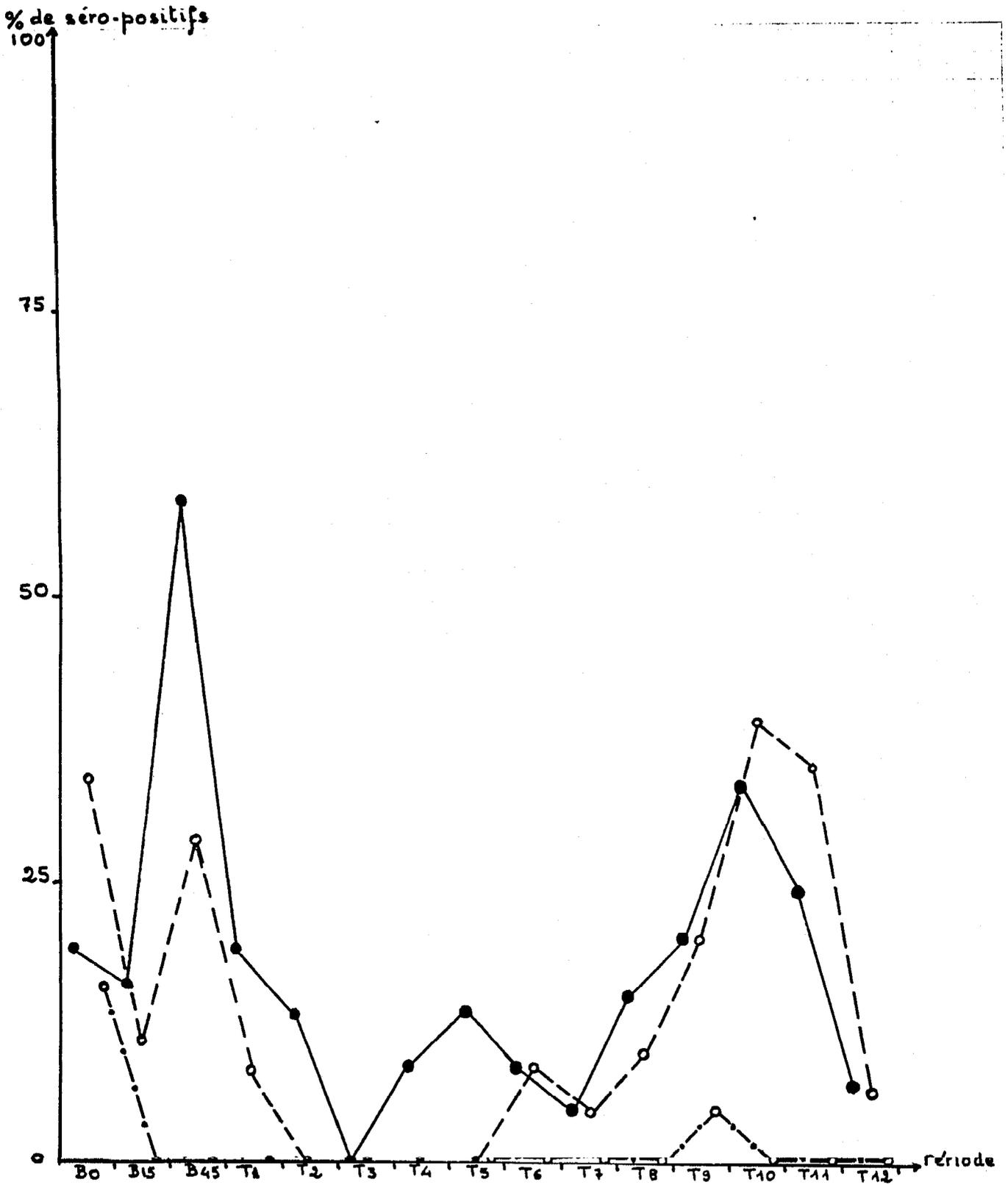


Figure IV: Evolution post-thérapeutique des taux de séro-positivité

Bo = Avant traitement au bérénil
 B15. B45 = 15 et 45 jours après béréni I
 T1 à 12 = 1 à 12 mois après traitement au trypanidum
 ●—● : T. vivax
 ○---○ : T. congolense
 ○...○ : T. brucei