

REPUBLIQUE DU SENEGAL

MINISTERE DU DEVELOPPEMENT RURAL

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

240001066

1066

CONVENTION **AIEA/ISRA N°4975** RELATIVE A
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 LES TRAVAUX EFFECTUES AU
COURS DU PREMIER TRIMESTRE DE LA
DEUXIEME PHASE
(DECEMBRE 1989 - MARS 1990)

Par

A.DIAITE, M.SEYE, **A.MANE** et **Mme T.NDIAYE**

REF. **N°29/PARASITO.**

AVRIL 1990.

RESUME

La technique de détection des antigènes circulants par usage d'anticorps monoclonaux fait l'objet de validation dans la zone de Sokone (Sénégal).

Des traitements ont été faits sur différents lots et l'incidence du traitement sur la modification de la densité optique est appréciée.

Il semble que la zone comporte des souches chimie-résistantes

MOTS CLES

Antigènes circulants, traitement, chimie-résistance

SUMMARY

The antigen ELISA trapping method, using monoclonal antibodies, is being validated in the Sokone area (Senegal) treatments have been made on different groups and the incidence of such treatments on the variation of the optical densities is analysed. It seems, finally, that some chimio-resistant strains do exist in the area.

KEY -WORDS

Circulating antigens, treatment, chimio-resistance.

INTRODUCTION

Les travaux menés en exécution de la première phase de cette convention ont montré que la technique ELISA de détection d'antigènes sériques trypanosomiens pourrait devenir un complément précieux des méthodes habituelles de diagnostic des trypanosomiasés bovines par l'examen de sang au microscope.

En effet, des animaux à parasitémie si faible qu'elle sera indécélable au microscope peuvent se montrer séro-positifs par cette technique.

De plus, il ressort d'autres travaux que la disparition des antigènes de la circulation générale après traitement se produirait beaucoup plus vite que pour les anticorps, ce qui est un avantage diagnostic évident par rapport à la technique de détection des anticorps. Mais ces constatations faites sur des analyses relativement réduites, sont à confirmer à partir d'échantillons plus importants en nombre et plus diversifiés quant à leurs provenances géographiques. C'est la condition d'une validation définitive de la technique pour un usage généralisé, et c'est l'objet de cette seconde phase des investigations commencées au Sénégal depuis décembre 1988.

Les détails concernant le protocole de terrain et les analyses de laboratoire, déjà indiqués dans plusieurs rapports, ne sont pas repris ici. Seules sont mentionnées les innovations introduites. En outre, ce rapport, nécessairement succinct, se limite aux résultats commentés du premier trimestre de la seconde phase (décembre 1989 - mars 1990). Un dépouillement plus exhaustif suivi d'une discussion et de conclusions interviendra à la fin des travaux relevant de cette phase.

I. MATERIEL ET METHODES

Les animaux-cibles sont les mêmes que ceux de la première phase, sauf que dix parmi eux (n° 91 à 100) n'ont pas subi les prélèvements post-thérapeutiques par suite du désistement de l'éleveur-propriétaire.

L'innovation principale par rapport au protocole de la première phase a porté sur les traitements : l'ensemble des animaux-cibles ont été traités au Bérénil aussitôt après le premier prélèvement (visite n°6, décembre 1989), puis au trypanidium 15 ou 45 jours après.

Le tableau ci-dessous donne le détail de ces traitements.

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

Ces traitements étaient destinés à apprécier leurs effets sur l'antigénémie et à savoir s'il y avait ou non des souches de trypanosomes chimie-résistantes et, le cas échéant, la nature et le degré de la résistance.

Les autres innovations concernent la préservation des sérums avec du benzoate de sodium à la place de l'azide de sodium, l'usage d'un nouveau lot d'anticorps et de conjugué monoclonaux à diluer respectivement au 1/500 et au 1 /1000 au lieu de 1/100, d'une eau oxygénée livrée en pastilles effervescentes, à dissoudre dans de l'eau distillée, d'ABTS en poudre à reprendre également dans de l'eau distillée, ces deux derniers réactifs ayant été livrés prêts à l'emploi dans le premier trousseau. En effet, des éponges spéciales ont été utilisées pour égoutter les plaques après lavages, à la place des mouchoirs absorbants.

Il n'y a pas eu d'autre modification, ni du protocole de terrain, ni des analyses en laboratoire.

II. RESULTATS

2.1 - Hématocrite

Le tableau suivant donne les moyennes de l'hématocrite avant et après les traitements.

MOYENNE % DE L'HEMATOCRITE + INTERVALLE DE CONFIANCE A 5 P.100				
Avant bérénil	15 j. après bérénil	45 j. après bérénil	1 mois après trypan.	2 mois après trypan.
35,39 $\pm$ 2,41	37,34 $\pm$ 2,35	31,43 $\pm$ 6,37	37,16 $\pm$ 2,17	36,89 $\pm$ 3,43

L'effet des traitements trypanocides est net ici : remontée significative de l'hématocrite 15 jours après l'administration du Bérénil, suivie d'une chute également significative 45 jours après, c'est-à-dire un mois environ après la fin de l'action du médicament dans le lot qui n'a pas encore reçu de trypanimidium (bovins n°10 à 120).

Par contre, les animaux traités au trypanimidium 15 jours/le Bérénil ont gardé un hématocrite stable et élevé deux mois après ce traitement. Ce qui semble signifier une protection d'ensemble bonne mais de courte durée conférée dans un premier temps par le Bérénil, puis relayée par celle plus durable due au trypanimidium.

A noter seulement que quelques individus échappent à cette règle générale et obtiennent des hématocrites faibles tout au long de cette période.

2.3 - Coprologie

L'examen des selles prélevées en février 1990 (visite n°9) donne des résultats similaires à ceux obtenus lors de la première phase : infestations de niveau très faible par des Strongles, des Coccidies, des Douves et des Paramphistomes.

2.3 - Trypanosomes

La lecture de l'interphase sur le terrain puis des frottis en laboratoire n'a permis de déceler qu'un seul cas de T.congolense (bovin n°108) et un autre cas de T.theileri (n°89).

Ces cas se rapportent à la visite n°6, décembre 1989, avant le traitement au Bérénil.

T. vivax et T. brucei n'ont pas été visualisés.

2.4 - Autres hémoparasites

Il s'agit, principalement de Theileria mutans et Setaria labiatopapillosa, parasites non pathogènes et, plus rarement, Anaplasma marginale, qui peut quelquefois être hautement pathogène.

2.5 - Sérologie

Les figures I à IV indiquent à la fois les résultats d'ensemble des épreuves sérologiques et les fluctuations de l'antigénémie après les traitements trypanocides.

Les tableaux 1 à 3 donnent les détails chiffres de ces résultats;

En retenant la densité optique de 0,050 comme seuil de positivité, nous obtenons, sur 135 analyses :

T. brucei : 5 séro-positifs, soit 3,70 p. 100 ; aucun cas à l'examen des lames.

T. vivax : 23 cas, soit 17,03 p.100 ; là aussi, toutes les lames lues étaient négatives

T. congolense : 1 cas diagnostiqué au microscope et confirmé en sérologie ;
17 autres séro-positifs mais aparasitémiques. Au total donc
18 sur 135 analyses, soit 13,33 p.100.

Ces chiffres, bien qu'intéressants, donneraient à eux seuls une idée incomplète des résultats.

En les examinant en fonction des traitements (tableaux 1 à 3), on note :

- que les pourcentages de séro-positivité les plus élevés se rapportent aux prélèvements effectués avant les traitements. Sauf pour les sérums de 45 jours après le Bérénil pour T.vivax. Et ces sérums pourraient bien se ranger parmi les échantillons avant traitement puisqu'en 45 jours, l'activité du bérénil aura cessé depuis longtemps ;
- en période post-thérapeutique, 1 seul cas de séro-positivité à T. brucei, qui persiste 15 jours après traitement au bérénil, puis l'ensemble des prélèvements des visites suivantes sont négatifs ;
- pour T. congolense, persistance de quelques cas de séro-positivité jusqu'à 1 mois après le traitement au trypanidum ; au-delà de cette date, tous les échantillons sont négatifs pour cette espèce ;
- avec T.vivax, on n'obtient les 100 p. 100 de séro-négatifs que 3 mois après le traitement au trypanidum. Et cela seulement après la mort du n°87 qui, avec le 108 et le 114, sont restés longtemps séro-positifs malgré les deux traitements. Il y a certainement lieu de penser à l'existence dans cette zone de souches de T.vivax chimie-résistantes ;
- l'inoculation d'une chèvre avec du sang récolté sur le bovin n°108 ou 114 est prévue lors d'une de nos prochaines missions. S'il en résulte une sortie de trypanosomes, ce serait l'occasion de mieux étudier cette éventuelle chimie-résistance ;
- enfin, et sur un plan plus général, on retiendra la bonne corrélation entre la hausse significative de l'hématocrite post-thérapeutique et la baisse importante de l'antigénémie dans la même période.

Les essais se poursuivent toujours sur le terrain et en laboratoire.

Notre souhait est qu'ils permettent finalement de distinguer l'accidentel du fait constant et reproductible. Ce serait là une contribution à la validation de cette technique, objet de beaucoup d'espoir dans la lutte contre les trypanosomiasés.

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - V.M. NANTULYA - An antigen detection enzyme immoassay for the diagnosis of rhodenense sleching sickness.
Parasite immonology 1989, 11 : 69-75.
- 2 - V.M. NANTULYA, E. BAJYANASONGA, R. HAMERS : Détection of circulating trypanosomal antigens in trypanosoma evansi infected animal using a T. brucei group specific monoclonal antibody.
Trop. Med. Parasit., 40 (1989) : 263-266.
- 3 - V.M. NANTULYA, K.J. LI NDQVIST - Antigen - detection enzyme immuno-assay for the diagnosis of Trypanosoma vivax, T. congolense and T. brucei infections in cattle.
Trop. Med. Parasit., 40 (1989) : 267-272.
- 4 - V.M. NANTULYA, K.J. LINDQVIST, O. DIALLO, O. LAHO MUKANI -
Two simple antigen detection enzyme immuno-assays for the diagnosis of trypanosoma evansi infections in the dromadery camel (Camelus dromaderius)
Trop. Med. Parasit., 40 (1989) : 415-418.

Tableau 1 : Plaques à **T. brucei**

		Avant Bérénil	15 jours après Bérénil	45 jours après Bérénil	1 mois après trypamidium	2 mois après trypamidium	3 mois après trypamidium
Nombre d'analyses		35	35	7	25	18	15
Séro-positifs	n	5	1	0	0	0	0
	%	14,28	2,85	0,00	0,00	0,00	0,00
Séro-négatifs	n	30	34	7	25	18	15
	%	85,72	97,15	100	100	100	100

Tableau 2 : Plaques à **T. vivax**

		Avant Bérénil	15 jours après Bérénil	45 jours après Bérénil	1 mois après trypamidium	2 mois après trypamidium	3 mois après trypamidium
Nombre d'analyses		35	35	7	25	18	15
Séro-positifs	n	8	5	4	4	2	0
	%	22,85	14,28	57,14	16,00	11,11	0,00
Séro-négatifs	n	27	30	3	21	16	15
	%	77,15	85,72	42,86	84,00	88,89	100

Tableau 3 : Plaques à **T. congolense**

		Avant Bérénil	15 jours après Bérénil	45 jours après Bérénil	1 mois après trypamidium	2 mois après trypamidium	3 mois après trypamidium
Nombre d'analyses		35	35	7	25	18	15
Séro-positifs	n	12	3	2	2	0	0
	%	34,213	8,57	28,57	8,00	0,00	0,00
Séro-négatifs	n	23	32	5	23	18	13
	%	65,82	91,43	71,43	92,00	100	100

Figure 1 : Résultats de microscopie et de sérologie

M = trypanosomes décelés au microscope
S = Séro-positif
Ø = non examiné

N°	TRAITEMENTS T.b	Avant Bérénil			15 jours après Bérénil (avant trypamidium)			1 mois après trypamidium			2 mois après trypamidium			3 mois après trypamidium		
		T.v	T.c	T.b	T.v	T.c	T.b	T.v	T.c	T.b	T.v	T.c	T.b	T.v	T.c	
81	BERENIL : 10,5 mg/kg TRYPAMIDIUM 15 JOURS APRES															
82		S		S		S										
83				S		S										
84				S												
85																
86																
87		S	S	S		S	S		S	S		S		Ø	Ø	Ø
88																
89									S							
90																
111	BERENIL : 7,0 mg/kg TRYPAMIDIUM 15 JOURS APRES		S			S										
113													Ø	Ø	Ø	
114			S			S		S	S		S					
115			S													
116																
117																
118				S												
120														Ø	Ø	Ø
92	BERENIL : 3,5 mg/kg TRYPAMIDIUM 15 JOURS APRES															
93																
94																
95			S	S		S		NON EXAMINE								
96			S					(DESISTEMENT)								
97				S												
98																
99		S	S	S												
100																
LOT TRAITE AU TRYPAMIDILIM								45 JOURS APRES BERENIL 10,5 mg/kg								
		Avant Bérénil			15 jours après Bérénil			45 jours après Bérénil			1 mois après trypamidium			2 mois après trypamidium		
101				S					S				Non	prélevé		
102				S									"	"	"	
103		S			S				S	S						
105								Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø			
106																
107																
108				S		S			S	S		S				
109		S	S	S					S					"	"	





