

Z 1000 1097

REPUBLIQUE DU SENEGAL

MINISTERE DU DEVELOPPEMENT
RURAL ET DE L'HYDRAULIQUE

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

DIRECTION DES RECHERCHES SUR LES
PRODUCTIONS ET LA SANTE ANIMALES

LABORATOIRE NATIONAL DE L'ELEVAGE
ET DE RECHERCHES VETERINAIRES
DAKAR-HANN

CONVENTION AIEA/ISRA N° 4975/NL RELATIVE A
L'AMELIORATION DU DIAGNOSTIC ET DE LA
SURVEILLANCE DES TRYPANOSOMOSES ET
AUTRES MALADIES PARASITAIRES DU BETAIL
AFRICAIN PAR L'USAGE DE METHODES
SERO-IMMUNOLOGIQUES

RAPPORT FINAL SUR LES TRAVAUX REALISES
AU SENEGAL DE 1988 A 1992

Par

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

Ref.: 045/PATHO. ANIM.
Décembre 1992

APPLICATION DE LA TECHNIQUE **ELISA** DE DETECTION DES
ANTIGENES A L'ETUDE DE SOUCHES DE TRYPANOSOMES APPAREMMENT
CHIMIORESISTANTES AU SENEGAL

Par

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

RESUME

La technique **ELISA** de détection d'antigènes sériques de *Trypanosoma brucei*, *T. congolense* et *T. vivax* a été utilisée dans la zone centre-Sud du Sénégal infestée de glossines, dans une étude comportant deux volets: un premier volet visant l'implantation de cette technique à l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA) ainsi que la validation du test: puis un second volet portant sur l'utilisation de cette technique pour la détection de souches de trypanosomes apparemment chimiorésistantes, chez des bovins *Diakoré* (croisement Zébu-Ndama).

Les résultats obtenus ici à l'ISRA sont satisfaisants et sont en général concordants avec ceux des autres membres du réseau africain de validation de la technique **ELISA**-Antigène. En conséquence, le test a été reconnu comme méthode fiable de diagnostic des trypanosomoses animales en association cependant avec des méthodes déjà existantes.

Dans l'étude la chimiorésistance consécutive à la validation, plus de 1000 sérums de bovins Diakoré et autant de tubes à hématocrite ont été examinés après traitement des bovins concernés au Bérénil, au Samorin et/ou à l'Ethidium. En même temps, une centaine de sérums témoins récoltés sur des Zébus du Nord Sénégal indemne de glossines ont subi les épreuves sérologiques. Les résultats semblent indiquer que certaines souches de trypanosomes de la région centre-Sud sont chimiorésistantes. Des essais en laboratoire sur des animaux inoculés avec ces souches sont cependant nécessaires pour confirmer ces résultats.

MOTS-CLES

Trypanosomoses - **ELISA** - Chimiorésistance - Bovins - Sénégal

APPLICATION OF THE **ANTIGEN-ELISA** TECHNIQUE FOR THE DETECTION OF APPARENT DRUGRESISTANT TRYPANOSOME STRAINS IN SENEGAL

By:

A. DAITÉ, M. SEYE, G. VASSILIADES, A. MANÉ and T. NDIAYE

SUMMARY

The **Antigen-ELISA** technique for the detection of trypanosomal antigens in serum was used in a two-part study in the south of the central region of Senegal (Sokone region) which is infested by tsetse flies. The first part consisted of implementing the **Antigen-ELISA** method at the Senegalese Institute for Agricultural Research (ISRA) and the validation of the test. In the second part, the technique was used to detect apparently drugresistant trypanosome strains.

The **Antigen-ELISA** technique has been successfully implemented at the Institute. It is now considered, in association with other methods, as a good diagnostic technique after the synthesis of all results obtained through an African network in which Senegal was one of the countries involved.

In the drugresistance study, more than 1000 bovine sera and as many buffy coats were examined in the tsetse-infested area while a hundred of samples were taken from Zebu cattle living in two tsetse-free areas in the Northern part of Senegal. The animals of the infested zone were treated with Berenil, then with Samorin or Ethidium according to a defined protocol. The results obtained seem to indicate the existence of drugresistant trypanosome strains, but more investigations, including subinoculation of animals and laboratory trials are needed to confirm these findings

KEY-WORDS

Trypanosomosis - ELISA - Drugresistance - Cattle - Senegal.

APPLICATION DE LA TECHNIQUE ELISA DE DETECTION DES ANTIGENES A L'ETUDE DE SOUCHES DE TRYPANOSOMES APPAREMMENT CHIMIORESISTANTES AU SENEGAL

Par

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

INTRODUCTION

Sur une superficie totale de 196 000 km², 70 000, soit 36% sont occupés par les glossines au Sénégal. Les deux espèces présentes sont *Glossina palpalis gambiensi* et *G. morsitans submorsitans*, qui transmettent ici *Trypanosoma brucei brucei*, *T. congolense* et *T. vivax* chez les animaux.

La région de Sokone, située dans le centre-sud du pays, est totalement infestée par *G. morsitans submorsitans* et, dans une moindre mesure, par *G. palpalis gambiensi*. Les bovins qui y vivent sont principalement de race *Diakori* (croisement Zébu-Ndama) et possèdent un degré de trypanotolérance intermédiaire entre la sensibilité du Zébu et la tolérance de la Ndama (1). Ces *Diakori* sont largement utilisés dans la culture attelée ainsi que pour la production de lait et de viande.

Les éleveurs locaux, très avertis en matière trypanosomose animale, font constamment appel aux agents vétérinaires pour des traitements trypanocides. L'utilisation intensive des deux principaux trypanocides vétérinaires, le Bérénil et le Samorin, depuis plusieurs décennies, a rendu ces deux médicaments apparemment moins efficaces aujourd'hui dans cette zone. Les agents vétérinaires locaux, en effet, se plaignent de plus en plus de traitements infructueux,

Il est donc apparu nécessaire de mener des investigations pour savoir s'il s'agissait de souches de trypanosomes chimiorésistantes et, le cas échéant, évaluer le degré de la résistance, son étendue dans la zone, et enfin définir une méthode de lutte efficace.

De telles investigations requièrent des méthodes de diagnostic performantes, qui optimisent les chances de détection des trypanosomes lorsqu'ils sont présents chez l'animal examiné. Or les techniques classiques de diagnostic, bien qu'ayant des avantages certains, ne sont pas toujours suffisamment sensibles et peuvent donner de faux résultats négatifs, surtout dans les cas de trypanosomose chronique. Pour remédier à cela, il est indiqué d'associer autant que possible deux ou plusieurs techniques reconnues complémentaires. Dans la présente situation, l'emploi simultané de la méthode de lecture de l'interphase (BCT) et de la technique ELISA de détection de antigènes nous a semblé approprié.

L'étude a comporté deux phases:

- une première phase portant sur l'implantation de la technique ELISA-Antigène à l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA) et la validation du test comme moyen fiable de diagnostic de trypanosomoses bovines:
- et dans une seconde phase, l'utilisation de cette technique pour la détection éventuelle de souches de trypanosomes chimiorésistantes.

* : Service de Parasitologie, ISRA/LNERV, BP 2057, Dakar, Sénégal.

1 - MATERIEL ET METHODES

1.1 - Phase d'implantation et de validation

1.1.1 - Animaux cibles

Quarante bovins *Diakori* de la zone de Sokone ont été retenus et identifiés par pose de boucles numérotées à l'oreille. Ces animaux appartiennent à deux troupeaux de deux villages situés à côté de forêts classées infestées par *G. morsitans submorsitans*. Parallèlement, 95 sérums témoins ont été récoltés sur des bovins Zébus vivant à Dahra et Podor, localités situées dans le Nord du Sénégal indemne de glossines ,

1.1.2 - Prélèvements - Analyses - Traitements

Sur chacun de ces 40 bovins de la zone à glossines, les prélèvements et analyses suivants ont été effectués entre décembre 1988 et juin 1989, à raison d'une visite par mois, sauf au mois de mai où la visite n'a pas pu se faire.

- récolte de sang périphérique à l'oreille (deux tubes capillaires par animal), centrifugation sur place et lecture immédiate du PCV et de l'interphase(BCT);

- confection de frottis de sang, coloration et lecture au laboratoire;

- collecte de sang jugulaire sur vacutainer sec, centrifugation, récolte du sérum et adjonction de 0,01% d'azide de Sodium; conservation à -20°C jusqu'à l'emploi;

- épreuve ELISA de détection d'antigènes sériques de *T. brucei*, *T. congolense* et *T. vivax* avec les réactifs et le protocole du trousseau FAO/AIEA/ILRAD;

- prélèvement de selles fraîches tous les trois mois et coprologie au laboratoire;

- traitement au Bérénil, 7,0 mg/kg, I.M., des bovins positifs à *Trypanosom*;

- traitement anthelminthique des bovins positifs en coprologie;

- bain anti-tiques des animaux cibles et non cibles des troupeaux suivis, par suite du diagnostic d' *Ehrlichia bovis*; chez certains bovins: traitement de ces derniers à la Terramycine Longue Action (TLA).

1.2 - Phase d'application à l'étude de la chimiorésistance

En première partie de cette phase, 26 parmi les 40 bovins de la phase de validation ont été à nouveau retenus. Ainsi que les 95 Zébus témoins de Dahra et Podor. Cette investigation a duré 1 an.

En deuxième partie, 211 autres *Diakor* ont été sélectionnés dans 5 troupeaux de Sokone et numérotés à l'oreille. Ces animaux comportaient toutes les tranches d'âge et étaient composés de femelles, de mâles entiers et de mâles castrés. Le suivi post-thérapeutique a duré ici 5 mois.

Les traitements trypanocides effectués au début de chacune de ces deux parties figurent aux tableaux 1 et 2.

Les trois premières visites pour chaque partie ont eu lieu à 15 jours d'intervalle; les visites suivantes étaient espacées de 30 jours.

Les récoltes de sang et les techniques d'analyse sont celles de la première phase, sauf qu'ici le benzoate de Sodium a été employé à la place de l'azide comme préservatif des sérums. En outre, il n'y a pas eu cette fois de prélèvements de selles ni de frottis de sang.

II - RESULTATS -DISCUSSION

2.1 - Implantation - Validation

La technique BCT et les épreuves ELISA-Ag ont donné des résultats différents: sur un total de 72 cas de trypanosomose, 2 sont trouvées par les deux techniques, 5 par le BCT seul et 65 par l'ELISA seule.

En outre, l'ELISA a détecté 1,5 % de cas de *T. brucei* 9.7 % de *T. vivax*, alors qu'aucune de ces deux espèces n'a été visualisée au BCT (tableau 3 et 4). Cependant, parmi les 95 bovins prélevés en zone indemne, 1 seul a été antigénémique à *T. vivax*, une espèce de trypanosome pouvant être transmise par d'autres insectes que les glossines.

Ces résultats nous ont semblé traduire une bonne spécificité de la technique ELISA-Ag.

En définitive, les deux techniques nous sont apparues complémentaires et leur utilisation combinée est fortement souhaitable pour obtenir des résultats plus complets sur les infections trypanosomiennes dans une zone donnée (2).

Des résultats et conclusions similaires ont du reste été trouvés au niveau du réseau africain de validation du test sérologique.

2.2 - Etude de la chimiorésistance

2.2.1 - Première partie

La tendance constatée en phase de validation a été retrouvée ici: la sensibilité de la technique ELISA-Ag est au moins cinq fois supérieure à celle du BCT: sur 298 prélèvements, 79 cas de trypanosomose ont été diagnostiqués; 14 seulement relevaient du BCT contre 72 pour l'ELISA-Ag (tableau 5).

S'agissant de la spécificité du test sérologique, nous avons noté, comme dans la première phase, que l'ensemble des cas de *T. brucei* et de *T. vivax* ont été trouvés uniquement en ELISA. Il fallait donc établir que ces cas représentaient de réelles infections trypanosomiennes. A cet effet, tous les sérums positifs en ELISA mais négatifs au BCT ont été envoyés au Centre International de la Trypanotolérance en Gambie pour la recherche d'anticorps anti-trypanosomes. Par la technique d'Immunofluorescence indirecte, ils se sont tous révélés positifs, y compris le sérum de la zone indemne antigénémique à *T. vivax*. Pendant ce temps, un lot de 39 autres sérums récoltés sur des Zébus de Podor (région Nord du Sénégal sans glossines) était séronégatif à 100 % en ELISA-Ag. De tout cela nous avons conclu que le test était effectivement spécifique. Et que les *Diakon* prélevés pour ce travail possédaient sans doute un bon degré de trypanotolérance, qui leur permet de maintenir les souches locales de *T. vivax* à des niveaux de parasitémie inférieurs au seuil de détection. Et ce d'autant plus que *T. vivax* a été visualisé chez des animaux trypanosensibles de la zone (chevaux et ânes), prouvant ainsi l'existence effective de *T. vivax* dans la région. Quant à *T. brucei*, sa fréquente localisation cérébrale explique certainement la difficulté à le visualiser dans le sang.

Concernant les premiers essais de détection de souches de trypanosomes chimiorésistantes, les résultats ont montré que pour *T. brucei* et *T. congolensi*, le traitement au Bérénil ou au Samorin était généralement efficace: après l'administration du Bérénil, tous les animaux suivis étaient négatifs au BCT dès la visite suivante; après traitement au Samorin, ils sont restés négatifs au BCT et en ELISA-Ag pendant 5 mois pour *T. congolensi* et quasi-définitivement pour *T. brucei* (tableau 5).

Mais des cas de séropositivité à *T. vivax* persistaient (tableau 5). Notamment le bovin n° 87, qui est resté en permanence antigénémique à *T. vivax* malgré tous les traitements trypanocides. Cet animal est finalement mort, avec des symptômes cérébraux selon l'éleveur propriétaire. Il s'agit là, probablement, d'une souche chimiorésistante. Des études plus poussées étaient toutefois nécessaires pour se prononcer sur la résistance et, en cas de confirmation, en connaître le degré et l'étendue pour pouvoir définir des moyens de lutte. C'est l'objet de la seconde partie de cette phase.

2.2.2 - Deuxième partie

Les résultats d'ensemble des examens parasitologiques et des épreuves sérologiques sont présentés au tableau 6. D'une manière générale, le nombre de cas de trypanosomose a régulièrement baisse après les traitements trypanocides. Cependant, pour *T. congolense* et *T. vivax*, des cas de séropositivité post-thérapeutique ont été relevés.

En outre, des différences importantes ont été notées selon que les animaux ont reçu l'un ou l'autre des trypanocides utilisés (tableau 7). Dans le lot traité au Bérénil seul et une seule fois, les infections ont chuté à la visite effectuée 15 jours après ce traitement. Par la suite elles ont connu une hausse et sont restées très proches de leur niveau d'avant traitement. Cela traduit sans doute l'activité essentiellement curative du Bérénil. Une évolution différente est notée dans le lot traité au Samorin: le nombre d'infections post-thérapeutiques a baissé significativement et n'a jamais regagné son niveau initial. Il en est de même dans le lot traité à l'Ethidium. L'effet prophylactique de ces deux médicaments semble donc évident ici.

Par ailleurs et concernant l'ensemble des trois lots, on constate que les infections ont été cette fois décelées aussi bien en ELISA-Ag qu'au BCT, avec une sensibilité plus élevée de l'ELISA. Cela semble confirmer l'hypothèse que nous avons émise pour expliquer les faux résultats négatifs du BCT dans la phase précédente. Et cela signifierait qu'au sein d'une race animale réputée trypanotolérante, l'aptitude à contrôler la parasitémie se manifestait mieux chez certains individus que chez d'autres.

En dehors de ces tendances générales, on relève des cas particuliers, qui sont intéressants du point de vue de la chimiorésistance. Le tableau 8 montre ces cas: le bovin n° 554 du lot Bérénil est resté constamment séropositif avec *T. congolense* et *T. brucei*; le n° 514 quasi-constamment avec *T. vivax*, et le n° 544 avec *T. congolense*. Et il faut signaler que le n° 514 est du même troupeau que le bovin n° 87 qui avait montré une antigénémie persistante à *T. vivax*, et que les bovins n° 544 et 554 appartiennent à un même troupeau d'un autre village.

De l'ensemble de ces résultats et observations, se dégage une forte présomption de l'existence effective de souches chimiorésistantes de trypanosomes dans cette zone.

S'agissant de l'effet de la chimiothérapie et de la chimioprophylaxie sur l'hématocrite des animaux suivis, la tendance est à la hausse du PCV après le traitement. Ainsi, les bovins qui avaient les moyennes les plus faibles avant traitement ont finalement rejoint le niveau des autres à la dernière visite (tableau 9).

En conclusion, on peut dire du test ELISA-Ag qu'il a une sensibilité élevée et une spécificité satisfaisante. Et que ses performances paraissent meilleures dans les infections trypanosomiennes chroniques que dans les cas aigus. Pour ces derniers, la technique du BCT s'est montrée supérieure. L'utilisation combinée de ces deux méthodes, accompagnée d'une analyse statistique des données de l'hématocrite, est à notre avis une bonne option pour avoir des résultats plus précis.

Une option qui nous semble particulièrement indiquée dans les régions où l'on soupçonne l'existence de souches chirmiorésistantes de trypanosomes. Mais les résultats devront être confirmés par des travaux en laboratoire sur des souches isolées à partir des animaux des régions concernées. Signalons brièvement le premier essai que nous avons réalisé à ce sujet. Deux moutons Peulh du Sahel (race trypanosensible) achetés en zone indemne de glossines et négatifs tous les deux au BCT, ont été confiés respectivement au berger du bovin n° 514 et à celui des bovins 544 et 554. Ces moutons ont séjourné pendant 8 jours dans la zone de Sokone. Ils sont allés tous les jours au pâturage en compagnie des troupeaux de bovins, pour être en contact quotidien avec les glossines. Les examens parasitologiques restent encore négatifs, près de deux mois après,

Ces essais d'isolement de souches de trypanosomes se poursuivront ultérieurement avec un protocole différent. Il s'agira, en résumé, d'obtenir des isolats de *T. vivax* dans les villages concernés et de faire des cultures au laboratoire sur petits Ruminants. Le degré de résistance sera déterminé en élevant progressivement la dose de trypanocide. Un stabilat sera cryopréservé à chaque étape.

REMERCIEMENTS

- La Division conjointe FAO/AIEA de Vienne a bien voulu apporter une contribution financière tout en fournissant le matériel et les réactifs utilisés dans ces investigations, Nous tenons à la remercier vivement.

- Des éleveurs de la zone de Sokone ont bien voulu mettre leurs animaux à notre disposition et ont ainsi rendu possible ce travail. Les agents vétérinaires locaux nous ont également apporté une précieuse assistance. Qu'ils trouvent ici nos sincères remerciements.

REFERENCES CONSULTÉES

1. S. M. TOURE, A. GUEYE, M. SEYE, M.A. BA, et A. MANE •
Expérience de pathologie comparée entre bovins Zébus et Ndama soumis à l'infection naturelle par des trypanosomes pathogènes.
Rev. Ele v. Méd. Vét. Pays trop., 1978, 31 (3):293-313
2. A.DIAITE, M. SEYE, A. MANE et T. NDIAYE - Convention AIEA/ISRA n°4975/NL portant sur l'utilisation de la technique ELISA de détection des antigènes dans l'étude de l'incidence de la trypanosomiase animale en zone d'élevage du *Diakori* (croisement Zébu-Ndama).
Rapport Parasito, LNERV, Dakar, n°24, AVRIL 1990:14pp.
3. V.M. NANTULYA. - Immunological approaches to the control of Animal Trypanosomiasis.
Parasitology Today, vol.2, n°2, 1986
4. V.M. NANTULYA, A.J. MUSOKE, F.R. RURANGIRWA, N. SAIGAR, S.H. MINJA • Monoclonal antibodies that distinguish *Trypanosoma congolense*, *T. vivax* and *T. brucei*.
Parasit. Immunology, 1987, n° 421 -431.
5. V.M. NANTULYA, E. BANANA SONGA, R. HAMERS - Detection of circulating trypanosomal antigens in *Trypanosoma evans*-infected animals using a *T. bruce* group-specific monoclonal antibody.
Trop. Med. Parasit., 40(1 989):263-266.
6. V.M. NANTULYA, K.J. LINDQVIST • Antigen-detection enzyme immunoassays for the detection of *Trypanosoma vivax*, *T. congolense* and *T. bruce* infections in cattle.
Trop. Med Parasit., 40 (1 989): 267-272.
7. V.M. NANTULYA • Trypanosomiasis in domestic animals: the problems of diagnosis.
Re v. Sci. Off. int. Epiz., 1990, Y(2): 357-367.
8. MURRAY M., P.K. MIJRRAY and W.I.M. McINTYRE - An improved parasitological technique for diagnosis of African trypanosomiasis.
Trans. Ro v. suc. trop. Méd. Hyg., 71(1977): 325-326.

Tableau 1 : Traitements trypanocides initiaux en première partie de la phase 2

LOT	TRAITEMENT	
	Bérénil IM	Samorin 0,5 mg/kg, IM
N° 81 à 90	10,5 mg/kg	15 jours après Bérénil
N°100 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

* Désistement de l'éleveur propriétaire de ces 10 animaux :
données non pris en compte ici.

Tableau 2 : Traitements initiaux en deuxième partie de la 2ème phase

LOT	Nombre de bovins	TRAITEMENT		
		Bérénil 10,5 mg/kg IM	Samorin 0,5 mg/kg IM	Ethidium 1,0 mg/kg IM
1	107	Visite 1 avant les prélèvements (A.P.)		
2	60	V 1 A.P.	15 jours après Bérénil	
3	44	V 1 A.P.	15 jours après Bérénil	30 jours après Samorin

Tableau 3 : Résultats du diagnostic des trypanosomoses par le BCT et par l'ELISA-Ag en phase d'implantation et de validation

Technique	Nombre d'analyses	Nombre de cas de :							
		Tb	Tc	Tv	TbTc	TbTv	TcTv	TbTcTv	TOTAL
BCT	196		7						7
ELISA-Ag	196	3	22	18	12		10	2	67
COMBINÉS*	196	3	27	18	12		10	2	72

Tb = T.brucei, Tv = T.vivax, Tc = T.congolense

* : combinés = résultats positifs du BCT et/ou de l'ELISA-Ag.

Tableau 4 : Evolution du nombre d'infections trypanosomiennes selon les mois de visite et selon les espèces (phase d'implantation = validation)

Mois	Nombre d'analyses	Nombre de cas de :													
		Tb		Tc		Tv		Tb Tc		Tb Tv		Tc Tv		lb Tc Tv	
		BCT	EL	BCT	EL	BCT	EL	BCT	EL	BCT	EL	BCT	EL	BCT	EL
Janvier	40	-	-	1	4		2		3				2		1
Février	40	-	-	-	10		2		1				4		
Mars	39	-	-		3		3		1				2		1
Avril	40		3	1	1		7		6				1		
Juin	37	-	-	5	4		5		1				1		
Total	196		3	7	22		19		12				10		2

Tableau 5 : Chimiorésistance, première partie : Diagnostic par BCT et par ELISA-Ag des trypanosomoses chez des bovins traités au Bérénil puis au Samorin et suivis pendant 1 an

Visite	Nombre d'analyses	% BCT positif	% positifs avec l'antigène de :						
			Tb	TC	TV	Tb Tc	Tb Tv	Tc Tv	Tb Tc Tv
15 décembre*	26	4		19	12	8			8
30 décembre **	26		4	8	12			4	
Janvier	25				12			16	
Février	25				12				
Mars	15								
Avril	23				4				
Mai	21				19				
Juin	21	5		5	5				
Juillet	21	5			5			5	
Août	22	9		9	9				
Septembre	20	25		20	10				
Octobre	19	11		16	26			11	5
Novembre	17			29	18			16	
Décembre	17	12		12	6			6	

* = Animaux traités au Bérénil

** = Traitement au Samorin.

Tableau 6 : Résultats d'ensemble des examens parasitologiques et des épreuves ELISA-Ag pour le diagnostic des trypanosomoses (chimiorésistance, deuxième partie)

Visite	Nombre d'analyses	Nombre de cas selon le BCT et/ou l'ELISA-Ag							Total
		Tb	Tc	Tv	Tb/Tc	Tb/Tv	Tc/Tv	Tb/Tc/Tv	
1	211	3	11	13	4		1	2	34
2	177		2	8	3		2	2	17
3	164	1	6	3	1			1	12
4	175		5	6	2				13
5	156	1	3	6	1				11
Total ⁿ (%)	883	5 (0,6)	27 (3,0)	36 (4,1)	11 (1,2)	(0,3)	3 (0,6)	5 (9,8)	87

Tableau 7 : Résultats comparés et combinés du BCT et de l'ELISA-Ag dans les différents lots traités (chimiorésistance, deuxième partie)

Visite	Nombre de cas dans chaque lot selon BCT et l'ELISA-Ag											
	Lot Bérénil				Lot Samorin				Lot Ethidium			
	"Anal.	BCT	ELISA	COMB*	ⁿ Anal.	BCT	ELISA	COMB*	"Anal.	BCT	ELISA	COMB*
1	107	2	6	7	60	5	11	14	44	5	9	13
2	73	-	2	2	60	-	6	6	44		9	9
3	87	5	1	5	33	1	2	3	44	2	2	4
4	90	6	4	9	50	-	2	2	35	1	1	2
5	65	3	2	5	56	1	2	3	35	-	3	3

: COMB. = positif au BCT et/ou en ELISA-Ag.

Tableau 8 : Exemples d'évolution post-thérapeutique de l'antigénémie
(chimiorésistance, deuxième partie)

Visite	Bovin N°	554*	514**	544***
	Séropositif avec l'antigène de			
1		Tb Tc	Tv	Tv Tc
2		Tb Tc		Tb Tc Tv
3		Tb Tc	0	Tb Tc Tv
4		Tb Tc	Tv	Tc
5		Tb Tc	Tv	0

* = Bovin du lot traité au Bérénil

** = Bovin du lot Samorin

*** = Bovin du lot Ethidium

0 = Non examiné.

Tableau 9 : Evolution du PVC dans les 3 lots après les traitements (chimiorésistance, deuxième partie)

Visite	Moyenne % de l'hématocrite intervalle de confiance à 5 %							
	Lot Bérénil		Lot Samorin		Lot Ethidium		Dans les 3 lots	
	Nbre Bov.	Moy. ± IC	Nbre Bov.	Moy. ± IC	Nbre Bov.	Moy. ± IC	Nbre Bov.	Moy. ± IC
1	107	30,3 ± 0,8	60	24,2 ± 0,6	44	24,7 ± 1,1	211	27,4 ± 0,2
2	73	28,7 ± 0,9	60	25,9 ± 0,9	44	25,8 ± 1,3	177	27,0 ± 0,6
3	87	31,9 ± 1,0	33	28,3 ± 1,2	44	28,5 ± 1,2	164	30,4 ± 0,4
4	90	30,8 ± 0,8	50	30,9 ± 0,9	35	27,6 ± 1,2	175	30,0 ± 0,6
5	65	31,0 ± 0,9	56	30,6 ± 1,8	35	30,4 ± 1,0	156	30,7 ± 6,6
Total	422	30,5 ± 0,4	259	27,8 ± 0,5	202	27,3 ± 0,6	883	28,9 ± 0,3