

1
2 V0000568

m

568

ETUDE DE LA BRUCELLOSE BOVINE DANS UN VILLAGE DE BASSE-CASAMANCE
(SENEGAL)

II - DIAGNOSTIC ALLERGIQUE

FENSTERBANK (R.), DOUTRE (M.P.) & SAGNA (F.)

RÉSUMÉ

Trois cent quatre-vingt huit bovins d'un village de Basse-Casamance (Sénégal) ont reçu par voie intradermique un allergène protéique purifié pour le diagnostic de la brucellose. Du sang a été prélevé sur chaque animal et le sérum a été soumis au test au Rose Bengale et aux épreuves de séro-agglutination et de fixation du complément. Chez les animaux présentant un hygroma, une ponction a été effectuée en vue d'une analyse bactériologique.

Soixante douze heures plus tard, 362 animaux ont été examinés, 26 étant absents, et 33 (9,1 p.100) présentaient une réaction allergique. Cinquante huit étaient positifs en sérologie, Brucella abortus a été isolé chez 14 et, pour l'ensemble des épreuves, 64 (16,5 p.100) ont été considérés comme infectés.

Réalisé sur place, le RBT s'est révélé au moins aussi efficace que les épreuves sérologiques exécutées au laboratoire. Dans cette enquête, les résultats du test allergique ont été moins précis que ceux du RBT. Néanmoins, ce test, qui évite les prises de sang, a donné une indication valable sur la prévalence de la brucellose.

Dans les pays tropicaux, où se posent des problèmes de transport de sang et d'équipement des laboratoires, les épreuves pouvant être accomplies sur le terrain sont préférables. En fonction des moyens disponibles et de la précision recherchée, chacun des deux tests peut être utilisé seul pour une enquête épidémiologique, ou les deux associés pour une étude plus précise dans une zone déterminée.

SUMMARY

A STUDY ON BOVINE BRUCELLOSIS IN A BASSE-CASAMANCE VILLAGE (SENEGAL)

2 - ALLERGIC DIAGNOSIS.

Three hundred and eighty-eight bovines from a Basse-Casamance village (Senegal) were injected intradermally with a protein purified allergen for the diagnosis of brucellosis. Animals were bled and sera submitted to Rose Bengal (RBT), sero-agglutination and complement fixation tests. Some animals showing an hygroma were punctured and fluid collected for bacteriological analysis.

Seventy-two hours later, 362 animals were examined, 26 being absent, and 33 (9.1 p.100) showed an allergic reaction. Fifty-eight were positive in serology, Brucella abortus was recovered from 14, and by all tests, 44 (16.5 p.100) were found to be infected.

When carried out in the field, the RBT is at least as efficient as serology performed in a laboratory. In this survey, the allergic test has elicited less responses than the RBT. Nevertheless, without blood sampling, it gave a valuable indication of the prevalence of brucellosis.

In tropical countries, tests executed in the field might be preferable, because of problems of transporting blood samples and of laboratory facilities. According to the available means and the accuracy required, either RBT or allergic test could be used alone for an epidemiological survey, or both in association for a closer examination in a particular area.

ETUDE DE LA BRUCELLOSE BOVINE DANS UN VILLAGE DE
BASSE-CASAMANCE (SENEGAL)

2 - DIAGNOSTIC ALLERGIQUE.

R.FENSTERBANK*, M.P.DOUTRE** et F.SAGNA**

INTRODUCTION

Les Brucella, comme le Bacille tuberculeux et de nombreux autres germes pathogènes, provoquent chez l'animal qu'elles infectent un état de sensibilisation qui peut être révélé par l'injection d'un allergène préparé à partir de ces mêmes germes.

Les premiers allergènes brucelliques étaient obtenus, comme la tuberculine, à partir de bouillons de culture de Brucella abortus (abortine de M'FADEYEAN et STOCKMAN (16), ou de Brucella melitensis (mélitine de BURNET (3)). Ces allergènes donnent des résultats satisfaisants sur le plan du diagnostic mais présentent l'inconvénient de provoquer des réactions d'hypersensibilité de type mixte, immédiat et retardé, parfois cliniquement graves, et une élévation des titres en anticorps. Les recherches ultérieures ont eu pour but d'obtenir des produits purifiés afin de pallier ces inconvénients.

Grâce aux travaux de BONGHIBHAT, ELBERG et CHEN (2) et à ceux de JONES, DIAZ et TAYLOR (11), nous disposons maintenant d'un allergène, la brucelline, donnant une réaction d'hypersensibilité de type retardé, ne sensibilisant pas et ne provoquant pas la formation d'anticorps décelables par la sérologie de routine. Les expérimentations sur ovins (12) et sur bovins (6, 7) en ont précisé les modalités d'utilisation et la validité des résultats. Confirmant les résultats obtenus sur cobaye, elles ont également montré que ce produit peut être employé plusieurs fois successives sur le même animal sans crainte de perturber le dépistage ultérieur par les épreuves allergiques ou sérologiques.

* : I.N.R.A. - Station de Pathologie de la Reproduction Nouzilly. France.

** : Laboratoire National de l'Elevage et de Recherches Vétérinaires
I.S.R.A.. DAKAR, Sénégal

Pour un diagnostic individuel, le test allergique doit être associé aux autres épreuves de routine (7, 14). Pour un dépistage sur de grands effectifs, il peut être utilisé seul si l'on désire simplement déterminer l'existence de la brucellose et estimer l'importance de l'infection. D'exécution facile, il est un instrument de choix pour l'épidémiologiste. Dans les pays tropicaux où se posent des problèmes de transport des prélèvements de sang et d'équipement des laboratoires, l'emploi de la brucelline utilisée seule constituerait un avantage pour le dépistage de la brucellose.

Au cours d'une enquête menée dans une région du Sénégal, la Casamance, dont le but et les conditions ont été décrits (5), nous avons utilisé conjointement le test allergique et les épreuves sérologiques pour comparer l'intérêt des diverses méthodes de diagnostic et proposer, en fonction de la précision voulue, différents protocoles simples de dépistage de la brucellose.

MATERIEL ET METHODES

1 - Animaux

Au cours d'une enquête menée dans le village de Kartiack (Sénégal) 388 bovins de race Ndama, répartis dans 12 troupeaux, ont fait l'objet d'une prise de sang en vue du diagnostic sérologique de la brucellose (5). Simultanément, ils ont reçu une injection de brucelline.

2 - Allergène

La brucelline (lot 73-1), préparée à la Station de Pathologie de la Reproduction de l'INRA à partir de la souche rough Brucella melitensis B 115, selon la méthode de JONES, DIAZ et TAYLOR (11), est un allergène de nature protéique, non toxique, ne donnant pas de réactions sur animaux non sensibilisés, ne produisant pas de sensibilisation, ni la formation d'anticorps décelables par la sérologie de routine (6). Le produit, lyophilisé, est dissout, au moment de l'emploi, dans une solution salée isotonique stérile et utilisé à la concentration de 100 µg pour 0,1 ml de solvant, dose pour un bovin (6).

3 - Exécution du test

Chaque animal reçoit la brucelline à l'encolure, par voie intradermique. Le lieu d'injection est repéré au moyen d'un crayon marqueur à défaut d'une marque au ciseau, impossible à réaliser du fait de la faible longueur des poils.

Les animaux sont examinés 72 heures plus tard. L'intensité des réactions est appréciée en fonction du degré d'induration et d'œdème de la peau au niveau de l'injection. Les appréciations cliniques sont notées de 1 à 3 : la note 1 correspond à une réaction faible, à la limite de la détection, la note 2, à une réaction d'intensité moyenne et la note 3, à une réaction intense ou très intense, avec parfois une zone de nécrose.

Tableau n°1
Comparaison des résultats des épreuves allergiques et sérologiques

Allergie	Sérologie	Nombre d'animaux
+	+	27
-	+	30
+	-	6
-	-	299
Absents au moment de la lecture des réactions	+	1
	-	25
TOTAL		388

Tableau n°2

Résultats, par troupeaux, des examens sérologiques, allergiques, bactériologiques et cliniques

- 1/ Proportion d'animaux reconnus infectés par l'ensemble des épreuves allergiques et sérologiques
 2/ Nombre d'isollements de Brucella abortus
 3/ Nombre d'animaux présentant un hygroma
 4/ Nombre de vaches ayant avorté (d'après les commémoratifs)

Troupeau	<u>Sérologies</u> <u>positives</u> Animaux prélevés	<u>Réactions</u> <u>allergiques</u> Animaux examinés	Animaux infectés (1)	Bactériologie (2)	Clinique	
					Hygromas (3)	Avortements (4)
1	18/36	11/36	19/36	3	4	5
2	7/41	4/41	7/41			
3	0/28	1/28	1/28			
4	0/24	1/22	1/34			
5	22/78	10/75	23/78	5	6	6
6	1/19	0/19	1/19			
7	0/14	0/13	0/14			
8	7/54	5/47	8/54	3	3	
9	0/6	0/6	0/6			
10	0/7	0/7	1/7			
11	1/44	0/36	1/44	1	1	
12	1/37	1/32	2/37			
TOTAL	58/388	33/362	64/388	12	14	11

RÉSULTATS

Résultats de l'épreuve allergique

Au moment de la lecture, 362 animaux seulement ont été examinés, 26 n'ayant pas été présentés. Trente-trois réagissent à la brucelline (9,1 p.100) et la moyenne des notes attribuées aux réactions est de 2,1. Des réactions allergiques sont observées dans sept troupeaux sur 12. Dans quatre, la fréquence des réactions est élevée : 30,5 p.100 dans le troupeau n°1, 13,3 p.100 dans le n°5, 10,6 p.100 dans le n°8 et 9,8 p.100 dans le n°2. Trois troupeaux (n°s 3, 4 et 12) ont chacun un seul réagissant et cinq (n°s 6, 7, 9, 10 et 11) aucun.

Comparaison avec les résultats de la sérologie

Les résultats de la séro-agglutination (SAW), de la fixation du complément (FC) et de l'épreuve au Rose Bengale (RBT) ont été donnés dans l'article précédent (5) : 58 animaux ont été trouvés positifs, 49 simultanément par les trois épreuves, sept par le RBT seul et deux par la FC seule.

Parmi les 33 animaux ayant réagi à la brucelline, 27 sont positifs en sérologie et six, négatifs. Trente bovins à sérologie positive ne présentent pas de réaction allergique et un, positif aussi en sérologie, était absent au moment de la lecture des réactions (tabl.1).

Dans les quatre troupeaux où la proportion d'animaux réagissant à la brucelline est élevée, celle des animaux positifs en sérologie l'est également. Dans les trois troupeaux contenant chacun un seul réagissant, un animal sur 89 est positif en sérologie et quelques autres présentent des titres bas en SAW. Dans les cinq troupeaux où aucune réaction allergique n'est observée, trois animaux sur 90 sont positifs en sérologie (tabl. 2).

Comparaison avec les résultats des observations cliniques et de la bactériologie

Quatorze animaux présentent un hygroma du genou (5) et neuf réagissent à la brucelline. Onze vaches avaient avorté et neuf présentent une réaction allergique. Parmi les 14 animaux chez lesquels Brucella abortus a été isolée, neuf réagissent à la brucelline.

Résultats globaux

Soixante-quatre animaux sur 388 (16,5 p.100) sont positifs à l'une au moins des épreuves allergiques, bactériologiques et/ou sérologiques : 27 le sont

simultanément aux épreuves allergiques et sérologiques, 22 autres à l'ensemble des épreuves sérologiques, sept de plus au RBT seul, six de plus au test allergique seul et deux par la FC seule.

Des animaux infectés ont été trouvés dans 10 troupeaux; seuls, les troupeaux n°^s 7 et 9 n'en contiennent pas.

DISCUSSION

Sur les animaux du village de Kartiack, les réactions allergiques, caractérisées par une induration et un épaississement de la peau, avec de l'œdème et parfois une zone de nécrose, sont en moyenne plus intenses que celles notées au cours d'enquêtes précédentes (moyennes respectives : 2,1 et 1,64) (7).

Vingt-sept animaux sont positifs simultanément aux épreuves allergiques et sérologiques. N'ayant jamais reçu de vaccin antibrucellique qui aurait pu les sensibiliser ou provoquer la formation d'anticorps, ces animaux sont considérés comme infectés.

Six animaux présentent une réaction allergique et sont négatifs en sérologie. Cette discordance entre les résultats des différentes épreuves est connue (7, 13, 14, 17). Elle pose le problème de la signification de la sérologie et de la réaction d'hypersensibilité. D'une part, la sérologie ne dépiste pas tous les animaux infectés et l'interprétation des faibles titres en agglutinines est parfois difficile (8, 19). D'autre part, la réaction à la brucelline est spécifique et signifie que l'animal réagissant a été en contact avec des Brucella qui ont pu, ou non, déclencher la maladie, et l'animal infecté a pu guérir. L'existence de l'infection brucellique chez les animaux à sérologie négative et réagissant à la brucelline, déjà démontrée par KAC'YANOV (13), est à nouveau mise en évidence ici par l'isolement de Brucella chez la vache n°159 qui avait avorté trois fois et dont le sérum était, au moment de l'enquête, négatif aux épreuves de SAW, FC et RBT.

Trente animaux, positifs en sérologie, ne présentent pas de réaction allergique. Cette absence de réponse à la brucelline rappelle le phénomène de l'anergie, déjà connu avec la tuberculine. Il est signalé par les auteurs ayant utilisé un allergène brucellique (7, 13, 14, 17). Sa fréquence est cependant plus élevée que dans nos enquêtes précédentes (respectivement : 50 et 25 p.100 environ des animaux positifs aux différentes épreuves) (7). Il semble que les réactions intenses ont été bien lues, mais que des réactions de faible intensité

ont échappé à l'observateur. La différence entre les moyennes des notations données dans cette enquête et dans les précédentes tend également à le démontrer. Ces omissions nous paraissent dues à deux causes :

- 1/ au moment de la lecture, le repérage du lieu d'injection avait disparu chez presque tous les animaux. Devant l'impossibilité de marquer aux ciseaux le lieu d'inoculation de la brucelline, nous avons envisagé d'exécuter le test au pli sous-caudal où le repérage est facile (6). L'épaisseur et la dureté de la peau à cet endroit, chez les animaux de race Ndama, ne nous l'ont pas permis.
- 2/ un examen méticuleux n'a pas été possible dans certains troupeaux où la contention était insuffisante.

Une partie de l'information a sans doute été perdue ainsi, car toutes les réactions, quelle que soit leur intensité, doivent être notées. Néanmoins, le test allergique utilisé seul a montré l'existence de la brucellose dans le village de Kartiack et de plus, la fréquence des réactions dans un troupeau a permis d'avoir une indication sur la gravité de l'infection au sein de ce même troupeau, résultats globalement confirmés par ceux de la sérologie. Enfin, la majorité des animaux présentant un hygroma et des vaches ayant avorté ont réagi à la brucelline.

La carte de la brucellose au Sénégal, document préliminaire indispensable à toute entreprise de prophylaxie, pourrait être dressée à partir des résultats de sondages répartis sur tout le territoire. Le diagnostic par les épreuves sérologiques faites au laboratoire (SAW et FC) est classique, mais le transport des prélèvements de sang et l'équipement des laboratoires posent des problèmes techniques et économiques importants. Les tests de diagnostic pouvant être exécutés sur place paraissent préférables : c'est pourquoi plusieurs auteurs ont utilisé le ring-test sur laits individuels (1, 2, 9, 10, 15, 18, 20). Cette épreuve est efficace, facile à exécuter et économique, mais ne concerne que les vaches en lactation, donc une partie réduite de la population bovine. Aussi avons-nous proposé le test au Rose Bengale (5) qui, utilisé seul, a dépisté 56 des 64 (87,5 p.100) des animaux reconnus infectés par l'ensemble des épreuves utilisées. L'information est suffisante pour un sondage et même supérieure, dans cette enquête, à celle donnée par les épreuves de SAW et de FC. Si l'on désire davantage de précision, le protocole appliqué à Kartiack (RBT et test allergique conjoints) peut être retenu : 62 des 64 animaux (97 p.100) reconnus infectés l'ont été de cette façon.

Bien qu'il n'ait pas donné ici tous les résultats escomptés, le test allergique peut être utilisé seul pour savoir si la brucellose existe dans une région et avoir une indication sur sa prévalence. La brucelline ne donnant pas de réaction chez les animaux non sensibilisés - par certaines vaccinations anti-brucelliques ou par infection - l'utilisation des techniques sérologiques devient superflue lorsqu'aucune réaction allergique n'est observée au sein d'une population animale importante en nombre. Des prises de sang fastidieuses peuvent ainsi être évitées.

Le test allergique peut être aussi appliqué aux petits ruminants. La brucelline est injectée chez les ovins par voie sous-cutanée à la paupière inférieure (12) et chez les caprins, par voie intradermique à l'encolure, où les réactions sont très intenses (FENSTERBANK, travaux personnels). Les résultats sont semblables à ceux observés chez les bovins.

Dans les pays tropicaux où seule une prophylaxie médicale semble pouvoir être envisagée, l'information, présence ou absence de brucellose, est nécessaire et suffisante. Le test allergique peut la donner, en évitant le recours aux épreuves sérologiques.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Ministère français de la Coopération qui a financé notre mission, B.DIALLO et les agents techniques du Service de la Santé et des Productions Animales, à Bignona, qui l'ont organisée, L.SADIO et les habitants de Kartiack pour leur amical accueil et l'intérêt qu'ils nous ont témoigné.

Station de Pathologie de la
Reproduction - Centre de
Recherches de Nouzilly
(I.N.R.A.)

Laboratoire national de l'Elevage
et de Recherches Vétérinaires
(I.S.R.A.)

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - BLANCHARD (A.), COULIBALY (S.).- Recherches sur la Brucellose bovine en Haute-Volta. Rev.Elev.Méd.Vét.Pays trop., 1954, 7, 153-157.
- 2 - BONGHIBHAT (N.), ELBERG  CHEN (T.H.) •  Characterization of brucella skin-test antigens. J.Infect.Dis., 1970, 122, 70-80.
- 3 - BURNET (E.).- Sur un nouveau procédé de diagnostic de la fièvre méditerranéenne. C.R.Acad. Sci., 1922, 171, 421-423.
- 4 - CHAMBRON (J.).- La Brucellose bovine au Sénégal. Rev.Elev.Méd.vét.Pays trop., 1965, 18, 19-38.
- 5 - DOUTRE (M.P.), FENSTERBANK (R.), SAGNA (F.) • - Etude de la Brucellose bovine dans un village de Basse-Casamance. 1 - Diagnostic sérologique et bactériologique. Soumis pour publication à la Rev.Elev.Méd.vét. Pays trop.
- 6 - FENSTERBANK (R.), PARDON (P.).- Diagnostic allergique de la Brucellose bovine. 1 - Conditions d'utilisation d'un allergène protéique purifié : la brucelline. Soumis pour publication aux Ann.Rech.Vét.
- 7 - FENSTERBANK (R.).- Diagnostic allergique de la Brucellose bovine. 2 - Utilisation du test allergique dans les troupeaux infectés. Soumis pour publication aux Ann.Rech.Vét.
- 8 - GAUMONT (R.).- Sur le manque de signification des réactions d'agglutination de titre peu élevé en matière de Brucellose. Bull.Off.Int.Epizoot., 1967, 63, 1047-1054.
- 9 - GIDEL (R.), ALBERT (J.P.), LE MAO (G.), RETIF (M.).- La Brucellose en Afrique Occidentale et son incidence sur la santé publique. Résultats de dix enquêtes épidémiologiques effectuées en Côte d'Ivoire, Haute-Volta et Niger, de 1970 à 1973. Rev.Elev.Méd.Vét.Pays trop., 1974, 27, 403-418.
- 10 - IBRAHIM (A.E.).- Milk hygiene and bacteriology in the Sudan. The use of brucella ring-test for the detection of Brucella abortus antibodies in the milk of dairy cows. Bull.Epizoot.Dis.Afr., 1973, 21, 163-166.
- 11 - JONES (L.M.), DIAZ (R.), TAYLOR (A.G.).- Characterization of allergens prepared from smooth and rough strains of Brucella melitensis.- Brit. J.Exper. Pathol., 1973, 54, 1047-1054.
- 12 - JONES (L.M.), MARLY (J.).- Titration of brucella protein allergen in sheep sensitized with Brucella melitensis. Ann.Rech.Vet., 1975, 6, 173-178.
- 13 - KAS'YANOV  •  Signification du diagnostic allergique de la Brucellose bovine dans les troupeaux récemment infectés (en russe). Trudy Vsesoyuz. Ord. Lenina Inst. Exper. Vet., 1974, 42, 269-273.

- 14 - LIVE (I.), STUBBS (E.L.) .- Intracutaneous brucellosis tests in cattle.
Am. J. Vet. Res., 1974, 8, 380-385.
- 15 - MAHLAU (E.A.), HAMMOND (J.A.) .- A brucellosis survey of the western areas
of Tanganyika. Bull. Epizoot. Dis. Afr., 1962, 10, 511-516.
- 16 - M'FADYEAN (J.), STOCKMAN (S.), cité par STOCKMAN .- Epizootic abortion.
J. Comp. Pathol., 1914, 27, 237-246.
- 17 - OTTOSEN (H.E.), PLUM (N.) .- A non antigenic allergic agent for intradermal
brucellosis tests. Am. J. Vet. Res., 1949, 10, 5-11.
- 18 - PERREAU (P.) .- La Brucellose bovine au Tchad. Rev.Elev.Méd.Vét.Pays trop.,
1956, 9, 247-250.
- 19 - RENOUX (G.), PHILIPPON (A.), PLOMET (M.) .- Valeur des faibles titres agglu-
tinants pour le diagnostic de la Brucellose bovine. Bull.Acad.Vét.,
1968, 41, 379-381.
- 20 - SACQUET (E.) .- La Brucellose bovine au Tchad. Rev.Elev.Méd.Vét.Pays trop.,
1965, 8, 5-7.