

TRYPANOSOMOSE DU DROMADAIRE AU MAROC. ÉPIDÉMIOLOGIE, IDENTIFICATION GÉNÉTIQUE DE L'AGENT RESPONSABLE, ESSAI DE LUTTE

Touriya ATARHOUC^{*}, Mohamed RAMI^{*},
Rkia AZLAF^{*} & Allal DAKKAK^{*}

1. INTRODUCTION

La trypanosomose est une des maladies jugées les plus graves chez le dromadaire (OIE, 1999). Elle serait un frein majeur au développement de l'élevage de cet animal, source principale de protéines animales dans les régions où cet élevage est pratiqué.

La première identification de cette maladie au Maroc remonte au début du siècle (Boin, 1904 *in* Barotte, 1925). Cependant aucune étude épidémiologique ne lui a été consacrée depuis. Les méthodes de diagnostic ainsi que les outils moléculaires (anticorps spécifiques dirigés contre les immunoblobulines du dromadaire, amorces PCR spécifiques de *Trypanosoma evansi*) n'étaient pas disponibles au démarrage de ce travail.

Durant ces quatre dernières années, dans le cadre d'une convention inter universitaire entre l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II et la Vrije Universiteit Brussel, une étude a été conduite en vue :

- D'étudier l'épidémiologie de la maladie au Maroc.
- D'introduire des tests de diagnostic immunologiques {CATT (Card Agglutination Test for Trypanosomosis, Institute for Tropical Medicine of Antwerp, Belgium), Ab-ELISA (Antibody Enzyme-linked Immunoabsorbant Assay)} et d'analyse de l'ADN par PCR (Polymerase Chain Reaction), ces deux techniques ayant été mises au point dans notre laboratoire.
- De constituer une sérothèque et une cryothèque contenant des isolats de *T. evansi*.
- De mettre au point un plan de lutte dans une zone hautement endémique et de suivre son application sur le terrain.
- D'identifier les isolats marocains de *T. evansi* par RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA).

^{*} Laboratoire de Biologie Moléculaire, Département de Parasitologie et des Maladies parasitaires. Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II. BP6202-Instituts, 10101 Rabat, Maroc

- De transférer les techniques moléculaires développées vers les LRAIV (Laboratoires Régionaux d'Analyses et de Recherches Vétérinaires).
- De diffuser l'information collectée par l'organisation de séminaires et par la rédaction d'articles.

Le support logistique apporté par les Directions du Ministère de l'Agriculture (Direction de l'Élevage, Offices de Mise en Valeur Agricole du Tafilalet et de Ouarzazate, Directions Provinciales du Ministère de l'Agriculture de Tiznit, Guelmim, Tata, Tanger et Tétouan) a permis la réalisation de cette étude dans de bonnes conditions.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude épidémiologique a été menée dans les régions des versants sud de l'Anti-Atlas et du Haut-Atlas. Elle a englobé les provinces de Tiznit, Guelmim, Tata, Ouarzazate, Zagora et Errachidia ainsi que la région de Tanger-Tétouan considérée comme témoin négatif (Figure 1).

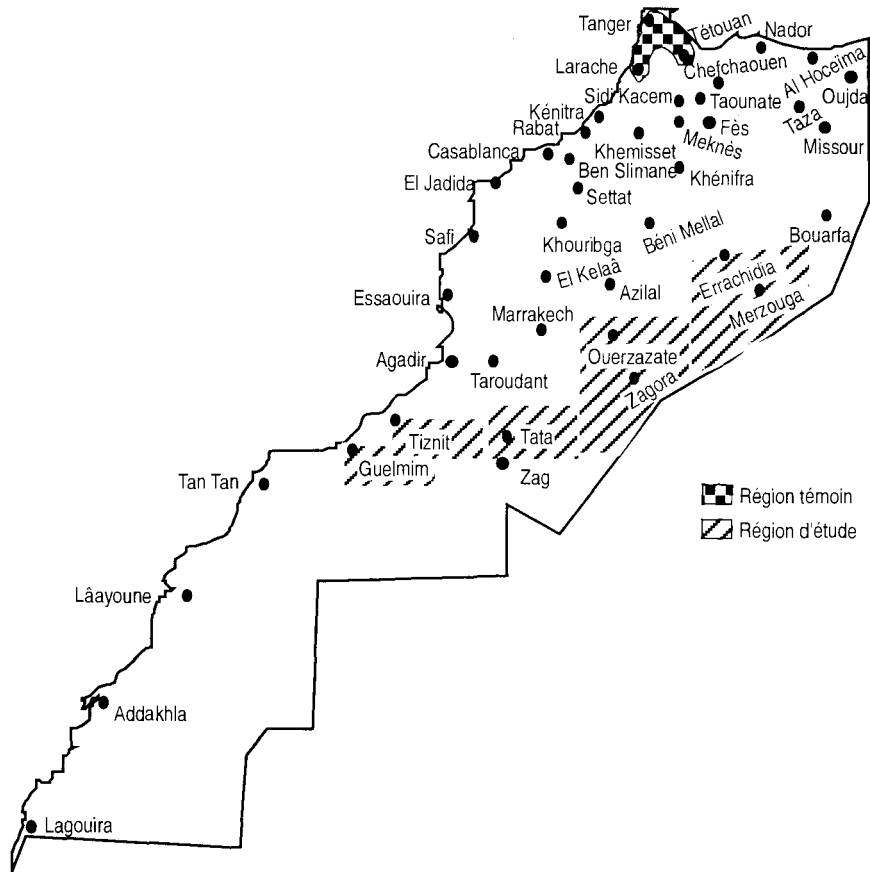


Figure 1. Régions de l'étude épidémiologique

L'étude a porté sur 1 561 dromadaires dont 1 030 transhumants dans les provinces de Guelmim, Tiznit, Tata, Ouarzazate, Zagora et Errachidia et 531 sédentaires dans les régions de Tanger et Tétouan au Nord, et de Zagora et Merzouga au Sud (Tableau 1).

Tableau 1. Distribution des animaux par classe d'âge et par région

	Guelmim	Tiznit	Tata	Ouarzazate	Zagora	Tafilalet	Merzouga	Nord	Total
0 – 2 ans	24	12	23	44	2	79	4	7	195
2 – 15 ans	165	55	73	215	211	270	230	32	1251
> 15 ans	14	6	22	17	34	14	5	3	115

Sur le terrain, une enquête d'abord menée auprès des éleveurs a porté sur :

- la conduite de l'élevage et la connaissance en matière de trypanosomose ;
- les antécédents pathologiques des animaux ;
- l'identification des animaux (boucle, marque au feu, nom donné par le propriétaire, couleur de la robe,...) ;
- la détermination de l'âge et du sexe ;
- l'examen clinique complet avant d'effectuer un prélèvement sanguin.

La détermination de l'hématocrite, la réalisation du test CAIT, l'observation des étalements sanguins sont réalisées dans un laboratoire ambulancier. Les échantillons parasitologiquement positifs ou suspects sont inoculés à des souris. Des isolats de *T. evansi* sont ainsi isolés et conservés dans le glycérol à – 80°C.

Au laboratoire à Rabat, le test Ab-ELISA est effectué sur l'ensemble des sera. La PCR est réalisée sur tous les échantillons suspects en vue de détecter la présence de l'ADN du parasite.

La zone de Merzouga, où l'on a constaté que la trypanosomose évolue sous une forme endémique, a été sélectionnée pour appliquer un plan de lutte utilisant les données épidémiologiques en vue de réduire la fréquence de la maladie.

Le plan de lutte comporte une campagne de traitement trypanocide (Cymelarsan N.D.) généralisée en juillet, en octobre 1998 et en février 1999. Tous les animaux (120 à 160 par campagne) n'ayant pas été présents à chaque traitement, le nombre total de traitements par animal variait de 0 à 3.

Le suivi des animaux inclus dans le programme de lutte utilise une méthode pratiquée lors de l'enquête épidémiologique. Les échantillons des cas les plus intéressants sont soumis à un diagnostic à l'aide de la PCR par la recherche de l'ADN du parasite (Wuyts *et al.*, 1994).

L'identification génétique de l'agent responsable a été réalisée à l'aide de la RAPD qui a donné de bons résultats pour d'autres trypanosomes (Mathieu-Daudé *et al.*, 1997).

3. ÉTUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

Deux paramètres ont été retenus pour juger de l'état de santé des animaux: l'amaigrissement (examen clinique) et l'anémie (examen clinique et mesure de l'hématocrite en considérant un seuil limite de 23 %). Le tableau 2 résume les données de l'hématocrite ainsi que les séroprévalences obtenues à l'aide des tests CATT et Ab-ELISA.

Tableau 2. Importance de l'anémie et séroprévalence de la trypanosomose

	Guelmim	Tiznit	Tata	Ouarzazate	Zagora	Tafilalet	Merzouga	Nord
Animaux anémiés ^a	3	3	64	33	50	3	40	38
CATT ^b	1	0	0	4,7	35	4,9	42	0
Ab.Elisa ^b	3	1	4	7,2	44	9,8	50	0

a : pourcentage d'animaux anémiés, dont le PCV est inférieur à 23%

b : séroprévalence

On constate les faits suivants :

- Le Nord est une région indemne de trypanosomose.
- Les zones étudiées du Sud-Ouest (Tiznit, Guelmim et Tata) présentent une faible séroprévalence.
- Les régions du Sud-Est (Ouarzazate, Zagora et Tafilalet) sont plus touchées mais, comme indiqué dans le tableau 2, ne dépassent pas 5 % (test CATT) et 10 % (Ab-ELISA).
- Deux foyers hautement endémiques sont présents, l'un à Zagora et l'autre à Merzouga dans la province d'Errachidia. Les prévalences y varient entre 35 et 50 % selon le test et la zone considérée (Tableau 2). Ces foyers seraient la cause de la forte endémicité des provinces environnantes du Tafilalet et d'Ouarzazate.
- Les animaux de Tata, Ouarzazate, Zagora et Merzouga sont fortement anémiés. Une corrélation importante a pu être établie entre l'anémie et la séroprévalence pour les animaux des zones endémiques de Zagora et Merzouga.
- Les dromadaires du Nord présentent curieusement un hématocrite faible qui n'est pas corrélé avec les résultats de l'examen clinique de la conjonctive.

Ces résultats ont permis :

- De constituer une sérothèque de 1 561 sera et une cryothèque de 20 isolats de *T. evansi*, conservés à Rabat. Les échantillons sont disponibles pour des analyses ultérieures.
- D'envisager une étude pour l'identification génétique des 20 isolats de *T. evansi* (§ 3.3).

- D'identifier deux foyers : Zagora et Merzouga.
- D'établir un plan de lutte contre la maladie dans la zone de Merzouga.

3.1. Plan de lutte à Merzouga

Dans un tel contexte, un plan de lutte a été jugé réalisable contre la maladie. Il a été mis au point et appliqué à Merzouga.

Les résultats globaux du suivi de la séroprévalence dans la région à chaque passage sur le terrain sont rapportés dans le tableau 3. La séroprévalence a ainsi été réduite de 36,3 % à 8,2 % (CATT) et de 42 % à 16,3 % (Ab-ELISA) en un an. De même, un seul traitement permet d'observer une baisse du taux d'anticorps anti-trypanosomes : la densité optique moyenne observée en ELISA est de 0,34 avant traitement ; elle est réduite à des valeurs inférieures au seuil calculé de 0,15 (Tableau 4).

Tableau 3. Suivi de la situation sanitaire dans la région de Merzouga durant l'application du plan de lutte

Date	7/98	10/98	2/99	6/99
Nombre de traitements	0	1	2	3
Animaux anémiés ^a	38	36	15	26
CATT ^b	36,3	19	9	8
Ab.Elisa ^b	42	29	22	16

a : PCV est inférieur à 23 % ; b : séroprévalence

Tableau 4. Effet des traitements sur la valeur moyenne de l'Ab-ELISA

Nombre de traitements	0	1	2	3
Densité optique moyenne (AB-ELISA)	0,34	0,14	0,09	0,08

De même, l'importance de l'anémie a été réduite : 38 % des animaux étaient anémiés au début de l'étude alors qu'après deux traitements trypanocides en février 1999, seulement 15 % des animaux l'étaient encore. L'augmentation de la proportion d'animaux anémiés à 26 %, observée en juin 1999 est certainement due aux facteurs de l'environnement comme la chaleur extrême, l'approvisionnement en eau et en nourriture (Chartieret *al.*, 1986).

Cependant, environ 20 % des animaux nouveaux-arrivants sont séropositifs et constituent une source importante d'infection. Une étude incluant l'ensemble des régions à vocation d'élevage camelin devrait être envisagée pour identifier d'autres foyers potentiels.

L'ensemble de ces résultats a été présenté lors de Journées d'études organisées à Ouarzazate en mai 1998, à Lâayoune en juin 1998 et à Errachidia en mai 1999 au profit des vétérinaires et des techniciens de l'élevage qui assurent l'encadrement sanitaire des animaux de ces régions.

3.2. Identification génétique de *T. evansi*

Dans le contexte épidémiologique, l'identification du parasite apporte des informations sur son origine et permet donc de mettre sur pied la stratégie de lutte la plus adaptée. Une dizaine d'amorces RAPD ont été testées. Certaines ont pu permettre de distinguer les isolats marocains des isolats asiatiques (Figure 2). De même, deux isolats marocains ont pu être différenciés (Figure 3).

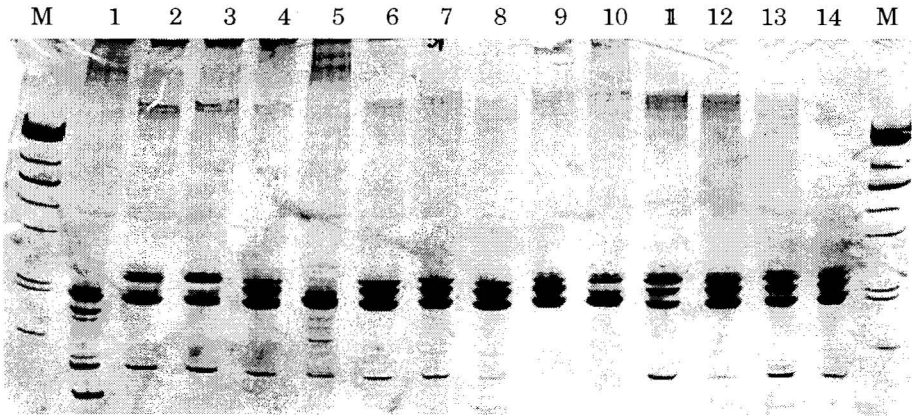


Figure 2. Marqueur RAPD

Puits M : Marqueur ADN

Puits 2,3 & 10 : Souches asiatiques

Puits 5 : *T. spp.*

Puits 1 : *T. rhodesiense*

Puits 4, 6-9 & 11-14 : souches marocaines

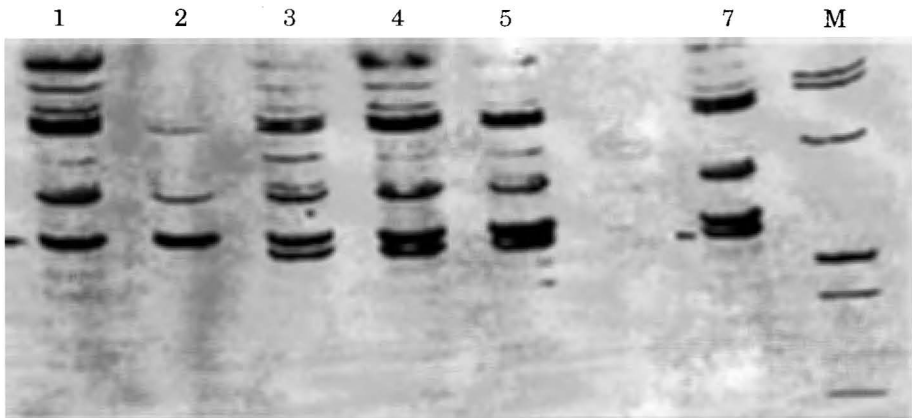


Figure 3. Marqueur RAPD différenciant les souches marocaines

Puits M : Marqueur ADN

Puits 1 & 2 : souches α

Puits 3, 4, 5 & 7 : souches β

L'intérêt de cette étude se justifie dans un contexte régional où tous les partenaires sont confrontés à une pathologie importante du dromadaire, mais sans disposer des informations épidémiologiques et des techniques de diagnostic nécessaires à une action efficace concertée.

4. CONCLUSION

Ce travail a permis :

- D'introduire les outils moléculaires nécessaires au diagnostic de la trypanosomose cameline.
- De dresser un tableau de l'importance de cette maladie dans les régions des versants sud de l'Anti-Atlas et du Haut-Atlas.
- D'appliquer un plan de lutte qui s'est révélé efficace dans la réduction de la fréquence de la maladie.
- De contribuer à l'identification génétique de l'agent pathogène.
- De transférer les techniques de diagnostic et de diffuser les informations collectées.
- D'envisager la création, au laboratoire de Parasitologie et des Maladies Parasitaires de l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II (Prof. Dakkak), d'un réseau régional pour la diffusion des techniques maîtrisées à Rabat, à savoir les méthodes de diagnostic et de spéciation moléculaire ainsi que la production locale d'anticorps anti-dromadaire chez le lapin, indispensables à tout test immunologique (Hamers-Casterman *et al.*, 1993).

RÉFÉRENCES CITÉES

- Boin J. (1916) Trypanosomiase du dromadaire au Maroc Occidental. *Rev. Méd. Vét.* 15 Août-15 Sept., 436-466
- Barotte J. (1925) Les trypanosomiasés d'Afrique du Nord. *Mémoires de la Société des Sciences Naturelles du Maroc* (11) 183 p.
- Chartier C., Chartier F., Lepers J.P. & Pesce J.L. (1986) Étude préliminaire de quelques paramètres sanguins usuels du dromadaire mauritanien *Camelus dromedarius*. *Rev. Elev. Med. Vét. Pays Trop.* 39 (3-4) : 395-401
- Hamers-Casterman C., Atarhouch T., Muyltermans S., Robinson G., Hamers C., Bayana-Songa E., Bendahman M.N. & Hamers R. (1993) Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature* 363 : 446-448

- Mathieu-Daudé F, Ralph D. & McClelland M. (1997) Arbitrarily primed PCR Fingerprints in Laboratory Methods for the Detection of Mutations and Polymorphisms. Ed G. Taylor, CRC Press
- Wuyts N, Chokesajjawatee N. & Paniym S. (1994) A simplified and Highly sensitive Detection of *Trypanosoma evansi* by DNA amplification. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 25 (2) : 266-271