

# Sommaire

## PATHOLOGIE INFECTIEUSE

- 85 **Détection de l'ARN et de l'antigène du virus de la rage dans des tissus de chiens infectés naturellement au Nigeria : hybridation *in situ* et études immunohistochimiques.** Baba S.S. (*en anglais*)
- 92 **Note de lecture**
- 93 **L'état sanitaire des porcs au Nord Cameroun.** Awa D.N., Njoya A., Ngo Tama A.C., Ekue F.N. (*en anglais*)
- 99 **Anémie infectieuse équine chez des chevaux sauvages au Pantanal, Brésil.** Silva R.A.M.S., Abreu U.G.P., Dávila A.M.R., Ramirez L. (*en anglais*)
- 102 **Note de lecture**

## PATHOLOGIE PARASITAIRE

- 103 **L'efficacité anthelminthique de quelques plantes indigènes dans la province du Nord-Ouest au Cameroun.** Nfi A., Ndi C., Bayemi P.H., Njwe R., Tchoumboue J., Njakoi H., Mopoi N., Njakoi M., Sali-Django (*en anglais*)
- 107 **Etude préliminaire des helminthes du tube digestif du poulet en Somalie.** Terregino C., Catelli E., Poglayen G., Tonelli A., Gadale O.I. (*en anglais*)
- 113 **Prévalence de *Rhinoestrus usbekistanicus* (Gan 1947) chez l'âne (*Equus asinus*) dans la région de Niamey, Niger.** Tibayrenc R., Garba D., Dorchie Ph. (*en français*)
- 117 **Prévalence de la coccidiose hépatique causée par *Eimeria stiedai* chez des lapins domestiques au Nigeria oriental.** Musongong G.A., Fakae B.B. (*en anglais*)
- 119 **Modifications sanguines et biochimiques chez des coatis (*Nasua nasua*) infectés naturellement par *Trypanosoma evansi* dans le Pantanal, Brésil.** Silva R.A.M.S., Victorio A.M., Ramirez L., Davila A.M.R., Trajano V., Jansen A.M. (*en anglais*)
- 123 **Essais préliminaires pour tester l'efficacité de Cymelarsan chez des chiens et des souris infectés artificiellement par *Trypanosoma brucei* isolé de chiens au Nigeria.** Anene B.M., Ogbuanya C.E., Mbah E.S., Ezeokonkwo R.C. (*en anglais*)
- 129 **Sensibilité à l'acéturate de diminazène et au chlorure d'isométabidium de trypanosomes isolés de chiens dans la région de Nsukka, Nigeria.** Anene B.M., Chukwu C.C., Anika S.M. (*en anglais*)
- 132 **Note de lecture**

## RESSOURCES ALIMENTAIRES

- 133 **Phosphates naturels et alimentation du bétail en zone sahélienne. I. Influence sur la santé et la croissance du zébu Gobra.** Fall S.T., Sawadogo G., Diop M. (*en français*)
- 146 **Note de lecture**
- 147 **Ingestibilité et digestibilité chez le mouton des foins de cinq graminées tropicales.** Kaboré-Zougrana C., Toguyeni A., Sana Y. (*en français*)

## RESSOURCES ANIMALES

- 154 **Note de lecture**
- 155 **Etude du statut phylogénétique du bovin Kouri du lac Tchad à l'aide de marqueurs moléculaires.** Souvenir Zafindrajaona P., Zeuh V., Moazami-Goudarzi K., Laloë D., Bourzat D., Idriss A., Grosclaude F. (*en français*)

# Contents

## INFECTIOUS DISEASES

- 85      **Detection of rabies virus RNA and antigen in tissues from naturally infected Nigerian dogs: *in situ* hybridization and immunohistochemical studies.** Baba S.S. (*in English*)
- 92      **Reading note**
- 93      **The health status of pigs in North Cameroon.** Awa D.N., Njoya A., Ngo Tama A.C., Ekue F.N. (*in English*)
- 99      **Swamp fever in wild horses from the Pantanal, Brazil.** Silva R.A.M.S., Abreu U.G.P., Dávila A.M.R., Ramirez L. (*in English*)
- 102     **Reading note**

## PARASITIC DISEASES

- 103     **The anthelmintic efficacy of some indigenous plants in the Northwest province of Cameroon.** Nfi A., Ndi C., Bayemi P.H., Njwe R., Tchoumboue J., Njakoi H., Mopoi N., Njakoi M., Sali-Django (*in English*)
- 107     **Preliminary study of the helminths of the chicken digestive tract in Somalia.** Terregino C., Catelli E., Poglayen G., Tonelli A., Gadale O.I. (*in English*)
- 113     **Prevalence of *Rhinoestrus usbekistanicus* (Gan 1947) in donkeys (*Equus asinus*) in the Niamey region, Niger.** Tibayrenc R., Garba D., Dorchie Ph. (*in French*)
- 117     **Prevalence of *Eimeria stiedai* infection in outbred domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in Eastern Nigeria.** Musongong G.A., Fakae B.B. (*in English*)
- 119     **Hematological and blood chemistry alterations in coatis (*Nasua nasua*) naturally infected by *Trypanosoma evansi* in the Pantanal, Brazil.** Silva R.A.M.S., Victorio A.M., Ramirez L., Davila A.M.R., Trajano V., Jansen A.M. (*in English*)
- 123     **Preliminary efficacy trial of Cymelarsan in dogs and mice artificially infected with *Trypanosoma brucei* isolated from dogs in Nigeria.** Anene B.M., Ogbuanya C.E., Mbah E.S., Ezeokonkwo R.C. (*in English*)
- 129     **Sensitivity to diminazene aceturate and isometamidium chloride of trypanosomes isolated from dogs in Nsukka area, Nigeria.** Anene B.M., Chukwu C.C., Anika S.M. (*in English*)
- 132     **Reading note**

## FEED RESOURCES

- 133     **Rock phosphates and cattle feeding in Sahel. I. Influence on the Gobra zebu health and growth.** Fall S.T., Sawadogo G., Diop M. (*in French*)
- 146     **Reading note**
- 147     **Feed intake and digestibility by sheep of five tropical grass hays.** Kaboré-Zougrana C., Toguyeni A., Sana Y. (*in French*)

## ANIMAL RESOURCES

- 154     **Reading note**
- 155     **Study on the phylogenetic status of Lake Chad Kuri cattle using molecular markers.** Souvenir Zafindrajaona P., Zeuh V., Moazami-Gouadarzi K., Laloë D., Bourzat D., Idriss A., Grosclaude F. (*in French*)

# Sumario

## PATOLOGIA INFECCIOSA

- 85 **Detección del virus ARN y del antígeno de la rabia en tejidos de perros nigerianos infectados en forma natural: estudios inmunohistoquímicos y de hibridación *in situ*.** Baba S.S. (*en inglés*)
- 92 **Nota de lectura**
- 93 **Estado de salud de los cerdos en el norte de Camerún.** Awa D.N., Njoya A., Ngo Tama A.C., Ekue F.N. (*en inglés*)
- 99 **La fiebre del pantano en caballos salvajes en el Pantanal, Brasil.** Silva R.A.M.S., Abreu U.G.P., Dávila A.M.R., Ramirez L. (*en inglés*)
- 102 **Nota de lectura**

## PATOLOGIA PARASITARIA

- 103 **Eficiencia antihelmíntica de algunas plantas autóctonas en la provincia del Noroeste de Camerún.** Nfi A., Ndi C., Bayemi P.H., Njwe R., Tchoumboue J., Njakoi H., Mopoi N., Njakoi M., Sali-Django (*en inglés*)
- 107 **Estudio preliminar de los helmintos del tracto digestivo del pollo en Somalia.** Terregino C., Catelli E., Poglayen G., Tonelli A., Gadale O.I. (*en inglés*)
- 113 **Prevalencia de *Rhinoestrus usbekistanicus* (Gan 1947) en el asno (*Equus asinus*) en la región de Niamey, Níger.** Tibayrenc R., Garba D., Dorchies Ph. (*en francés*)
- 117 **Prevalencia de la infección por *Eimeria stiedai* en conejos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) en el este de Nigeria.** Musongong G.A., Fakae B.B. (*en inglés*)
- 119 **Alteraciones hematológicas y de la química sanguínea del coatí (*Nasua nasua*), infectado en forma natural por *Trypanosoma evansi* en Pantanal, Brasil.** Silva R.A.M.S., Victorio A.M., Ramirez L., Davila A.M.R., Trajano V., Jansen A.M. (*en inglés*)
- 123 **Ensayo preliminar sobre la eficiencia de Cymelarsan en perros y ratones infectados en forma artificial con *Trypanosoma brucei* aislado en perros en Nigeria.** Anene B.M., Ogbuanya C.E., Mbah E.S., Ezeokonkwo R.C. (*en inglés*)
- 129 **Sensitividad al aceturato de diminaceno y al clorido de isometamidio de tripanosomas aislados en perros en Nsukka, Nigeria.** Anene B.M., Chukwu C.C., Anika S.M. (*en inglés*)
- 132 **Nota de lectura**

## RECURSOS ALIMENTICIOS

- 133 **Fosfatos naturales y alimentación del ganado. I. Influencia sobre la salud y el crecimiento del cebú Gobra.** Fall S.T., Sawadogo G., Diop M. (*en francés*)
- 146 **Nota de lectura**
- 147 **Ingestión y digestibilidad en el cordero de los henos de cinco gramíneas tropicales.** Kaboré-Zougrana C., Toguyeni A., Sana Y. (*en francés*)

## RECURSOS ANIMALES

- 154 **Nota de lectura**
- 155 **Estudio del estadio filogenético del bovino Kuri del lago Chad, mediante marcadores moleculares.** Souvenir Zafindrajaona P., Zeuh V., Moazami-Goudarzi K., Laloë D., Bourzat D., Idriss A., Grosclaude F. (*en francés*)

# Detection of rabies virus RNA and antigen in tissues from naturally infected Nigerian dogs: *In situ* hybridization and immunohistochemical studies

S.S. Baba<sup>1</sup>

## Key words

Dog - Rabies virus - Antigen - Nucleic acid - Hybridization - Immunohistochemistry - Nigeria.

## Summary

Postmortem formalin-fixed and paraffin-embedded tissues (cerebral cortex, hippocampus, cerebellum, trigeminal ganglion and salivary glands) from 25 dogs were acquired from a veterinary diagnostic laboratory in Nigeria and assayed for rabies virus RNA and antigen. Rabies virus genomic RNA and messenger RNA (mRNA) encoding the glycoprotein were detected in tissues with *in situ* hybridization (ISH) using <sup>3</sup>H-labeled single-stranded RNA probes. Rabies virus antigen was demonstrated with the avidin-biotin-complex (ABC) immunoperoxidase staining method. Viral mRNA was detected in tissues using digoxigenin-labeled RNA probes. Histopathological diagnosis by hematoxylin and eosin staining revealed Negri bodies in tissues from 8 dogs (32%), and 5 (20%) had inflammatory changes of viral encephalitis without Negri bodies. Antigen was detected in 11 (44%) of the dogs tested, i.e., in the tissues of all 8 dogs with Negri bodies, in 2 of 5 with inflammatory changes, and in 1 of 12 with negative histopathology. Genomic RNA and mRNA were detected in tissues from all dogs that were antigen positive, and the distribution of staining signals for both methods in the neurons and acinar cells of salivary glands was similar. mRNA was more abundant than genomic RNA, and radioactive grains had a diffuse distribution in the perikarya and dendritic processes of neurons, and in salivary acinar cells and ducts. Abundant mRNA was also found in neurons and acinar cells with digoxigenin-labeled probes, and the methodology was simpler. Signals indicating antigen and mRNA were most abundant, followed by genomic RNA, and Negri bodies/histopathology in order of decreasing quantities. The immunoperoxidase staining method and ISH technique using digoxigenin-labeled probes may be useful for rabies research and diagnosis, especially in developing countries, where the disease continues to be a major public health problem.

## INTRODUCTION

The rabies virus is highly neurotropic in humans and animals and causes acute infection of the central nervous system (CNS).

Despite the severity of clinical signs, there are no consistent macroscopic lesions and relatively scant microscopic lesions in animals that die of rabies. The most significant microscopic lesions occur in the CNS, and cranial and spinal ganglia. They consist of perivascular cuffing, focal and diffuse gliosis, neuronal degeneration, intracytoplasmic inclusions, or Negri bodies, in neurons (9). Lesions in the salivary glands consist of degeneration and necrosis of acinar epithelial cells, with infiltration of lymphocytes, neutrophils, and plasma cells.

1. Department of Veterinary Microbiology and Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Maiduguri, PMB 1069, Maiduguri, Nigeria

Tel.: 234 76 23 29 72

E-mail: yaysib@infoweb.abs.net

In most developing countries, formalin-fixed tissues are often used for making a diagnosis of rabies by examining histological sections prepared with acid fuchsin-methylene blue (16) for the presence of Negri bodies. Negri bodies can also be demonstrated in impression smears from fresh (glycerol-saline preserved) brain tissue, stained by the method of Sellers (14). However, these methods lack sensitivity. The standard diagnosis method is to reveal the rabies virus antigen in impression smears of fresh brain by immunofluorescence (IF) (5). The test takes only one to three hours to perform, and is of comparable sensitivity to mouse inoculation, with a concordance of 95-99% between the two methods when the IF test is performed by experienced investigators (2). Therefore, detection of the rabies virus antigen in CNS tissues, performed with either the IF or immunohistochemical (IHC) methods (3, 11) is very useful as a confirmation of rabies. The avidin-biotin-complex (ABC) immunoperoxidase staining technique (IP) is often used particularly when good morphology is important in addition to requirements for sensitive and specific detection of antigens (1, 11). Besides, the method becomes relatively suitable in laboratories where a fluorescent microscope is not available or where facilities for its operation are lacking. Furthermore, since immunoperoxidase-stained slides can be stored longer than IF slides without losing staining intensity, the method is convenient for staining of samples in the field and examination with a light microscope later on. The IF and IP techniques have been modified for retrospective studies involving detection of rabies virus antigens in postmortem formalin-fixed and paraffin-embedded tissues (4, 7, 15).

Advances in recombinant DNA technology have resulted in the ability to detect viral nucleic acids in tissues using hybridization (ISH) techniques (6). ISH allows the localization of viral nucleic acids in tissues with preservation of the morphology of cells and tissues. The detection of messenger RNA (mRNA), that encodes different rabies virus proteins in the CNS of experimentally infected mice and in brain tissues from fatal cases of rabies, has been reported by ISH (11, 12). The method has potential applications for the diagnosis of rabies in selected cases to complement the results of IF or IHC and in future investigation of rabies pathogenesis.

In this study, postmortem tissues from 25 dogs submitted to a veterinary diagnostic laboratory in Nigeria for rabies diagnosis were examined for presence of rabies virus antigen by the ABC immunoperoxidase method. The presence of rabies genomic RNA and mRNA coding for rabies virus glycoprotein was demonstrated by ISH. Differences were noted between the quantities of genomic RNA, mRNA, and antigen in dog tissues.

## ■ MATERIALS AND METHODS

### *Dog tissues*

Postmortem formalin-fixed paraffin-embedded blocks of tissues (cerebral cortex, hippocampus, cerebellum, trigeminal ganglion, and salivary glands) from 25 dogs were acquired from a veterinary diagnostic laboratory in Nigeria. The dogs were either sacrificed for rabies diagnosis after biting humans or submitted to the laboratory after death from unknown causes. In most cases fresh or frozen whole heads were submitted to the laboratory. The tissues were fixed in 10%-buffered formalin for 10-14 days before they were processed and embedded in paraffin for histopathologic examination. Tissue sections were initially stained by hematoxylin and eosin (H&E) for histopathologic examinations. Tissue blocks from an experimental puppy used in physiological studies were also examined as controls.

### *Immunoperoxidase staining*

Tissue sections were stained for rabies virus antigen by the avidin-biotin-complex peroxidase method as previously described by Jackson and Wunner (12). Deparaffinized slides were successively reacted with 0.004% pepsin (Boehringer, Mannheim, Germany) in 0.01 N HCl at 37°C for 30 min, with 5% normal goat serum, with rabbit anti-rabies serum diluted 1:2000 (obtained from K.M. Charlton, Animal Diseases Research Institute, Nepean, Ontario, Canada), with biotinylated goat anti-rabbit immunoglobulin G diluted 1:200 (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA), with 1% hydrogen peroxide in methanol, with elite avidin-biotinylated horseradish peroxidase complex (Vector Laboratories), 3,3'-diamino-benzidine tetrachloride (Polysciences, Warrington, PA, USA) with 0.01% hydrogen peroxide, and finally with 0.5% cupric sulfate in 0.015 M sodium chloride, and the slides were counterstained with hematoxylin. Normal rabbit serum diluted 1:2000 was used as a primary antibody for tissues as control.

### *Preparation of RNA probes*

<sup>3</sup>H- and digoxigenin-labeled RNA probes were used for localization of rabies virus RNA in tissues. cDNA clone containing the coding sequences for rabies virus glycoprotein (gp) was used to prepare the radiolabeled as well as digoxigenin-labeled RNA probes. A 1.5 kb fragment of the sequence coding for the rabies virus gp of the ERA strain (obtained from Connaught Research Institute, Willowdale, Ontario, Canada) was excised with EcoRI and BamHI from cDNA clone and subcloned into the dual promoter-containing pGEM-2 vector (Promega, Madison, WI, USA). Positive-sense mRNA and negative-sense probes were synthesized in the presence of 5,6-<sup>3</sup>H UTP (ICN Radiochemicals, Irvine, CA, USA) using either SP6 or T7 RNA polymerase. Negative-sense genomic RNA was also produced in the presence of digoxigenin-11-UTP (Boehringer, Mannheim) using SP6 polymerase. An irrelevant control template was used to prepare <sup>3</sup>H-labeled RNA transcripts as control for the specificity of the hybridization reaction.

### *In situ hybridization*

*In situ* hybridization for rabies virus RNA and mRNA was performed as previously described by Jackson and Wunner (12). Briefly, tissue sections were deparaffinized, hybridized with labeled probes at 45°C for 4 h using hybridization mixture containing 0.2 µ of labeled RNA transcripts per milliliter, dipped in NTB2 nuclear tract emulsion (Eastman Kodak Company, Rochester, NY, USA) and exposed for eight weeks at 4°C and developed with D19 developer (Eastman Kodak Company) for 5 min. After development, the sections were counterstained with hematoxylin. With digoxigenin-labeled probe, hybridization products were detected immunologically by application of polyclonal sheep anti-digoxigenin Fab-fragments conjugated to alkaline phosphatase (Boehringer, Mannheim). For both methods, controls included tissue sections pretreated with RNase A (Boehringer, Mannheim), *in situ* hybridization on uninfected tissues with rabies virus RNA probes, and hybridization of rabies virus-infected tissues with the RNA probe prepared from the Riboprobe Gemini control template.

## ■ RESULTS

Histopathological examination using the H&E staining technique revealed Negri bodies in brain tissues from 8 (32%) dogs, and 5 (20%) dogs had inflammatory changes of viral encephalitis without Negri bodies (table I). The salivary glands from all 8 dogs



Table I

Distribution of test results performed on tissues from suspect dogs (n = 25)

Dog num.	NB	HTP	IP	ISH- <sup>3</sup> H	ISH-dig.
1	+	-	+	+	+
2	-	-	-	-	-
3	-	+	+	+	+
4	+	-	+	+	+
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	+	-	+	+	+
8	-	-	-	-	-
9	-	+	+	+	+
10	+	-	+	+	+
11	-	+	-	-	-
12	-	-	-	-	-
13	+	-	+	+	+
14	-	-	-	-	-
15	-	+	-	-	-
16	+	-	+	+	+
17	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-
19	+	-	+	+	+
20	-	+	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-
23	+	-	+	+	+
24	-	-	-	-	-
25	-	-	+	+	-
Total	8 (32)	5 (20)	11 (44)	11 (44)	10 (40)
positive (%)					

+: positive;

-: negative

NB: Negri bodies

HTP: histopathology

IP: ABC immunoperoxidase method

ISH-<sup>3</sup>H: *in situ* hybridization using <sup>3</sup>H-labeled probes

ISH-dig.: *in situ* hybridization using digoxigenin-labeled probes

with Negri bodies and 2 of 5 with inflammatory changes (table II) had degeneration of acinar epithelial cells with marked infiltration of lymphocytes and neutrophils (figure 1). Histopathological examinations did not reveal changes suggesting significant postmortem autolysis. The method appeared more sensitive for detection of pathological changes in the salivary glands than in other tissues (table II). Abundant rabies virus antigen was also detected in tissues from all 10 dogs with lesions in their salivary glands, as well as in 1 of 12 with negative histopathology and absence of Negri bodies (table I, figures 2 to 6). The sensitivity of ISH using different probes for detection of viral RNA was comparable with the IP method used for localization of viral antigen (tables I and II). Genomic RNA and mRNA were detected in tissues from all dogs that were antigen positive, and the distribution of staining signals for both methods in the infected neurons (figure not shown) and acinar cells of salivary glands (figure 6 to 8) was similar. However, the antigen was demonstrated with greater staining intensity than viral RNA by ISH in neurons (figure not shown). The staining intensity on salivary glands using both methods was comparable (figures 6 to 8). No definite signal was found in the control using digoxigenin (figure not shown) and <sup>3</sup>H-labeled probes (figure 9).

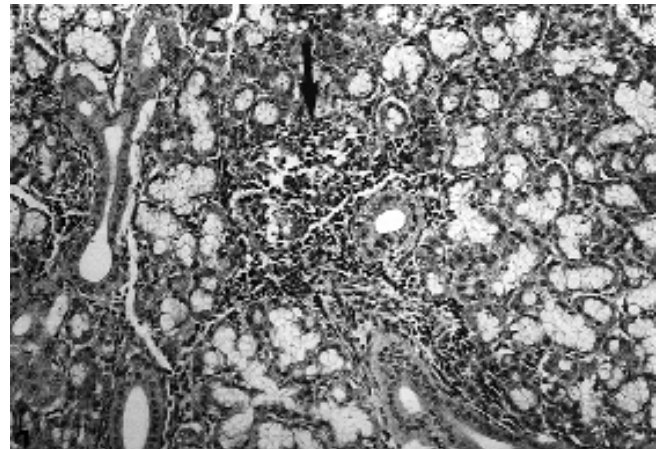


Figure 1: Dog with rabies; salivary gland. Marked infiltration of lymphocytes in the acinar cells and ducts (arrow). X 155 hematoxylin and eosin.

Table II

Results of tests performed on different tissues from suspect dogs

Tissues	Total num. tested	Num. positive for				
		NB only (%)	HTP only (%)	IP (%)	ISH- <sup>3</sup> H (%)	ISH-dig. (%)
Cerebral cortex	25 <sup>a</sup>	8 (32)	5 (20)	11 (44)*	11 (44)	10 (40)
Hippocampus	25	8 (32)	5 (20)	11 (44)	11 (44)	11 (44)
Cerebellum	25	8 (32)	5 (20)	11 (44)	11 (44)	11 (44)
Trigeminal ganglion	20 <sup>b</sup>	0	5 (25)	2 (10)	2 (10)	2 (10)
Salivary glands	20	NT	10 (50)	10 (50)	10 (50)	10 (50)

NB: Negri bodies; HTP: histopathology

IP: ABC immunoperoxidase method

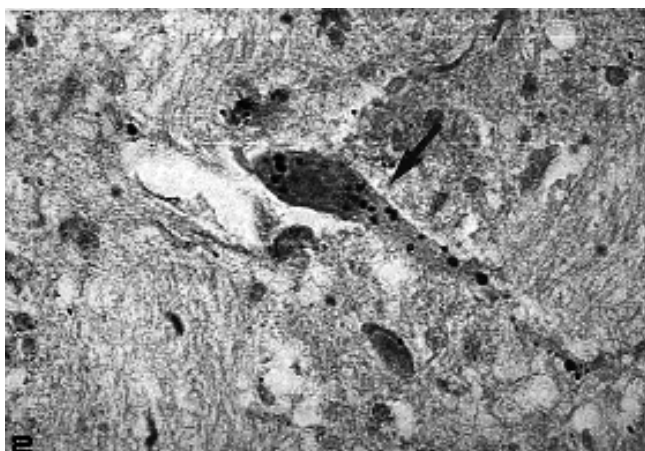
ISH-<sup>3</sup>H: *in situ* hybridization using <sup>3</sup>H-labeled probes

ISH-dig.: *in situ* hybridization using digoxigenin-labeled probes

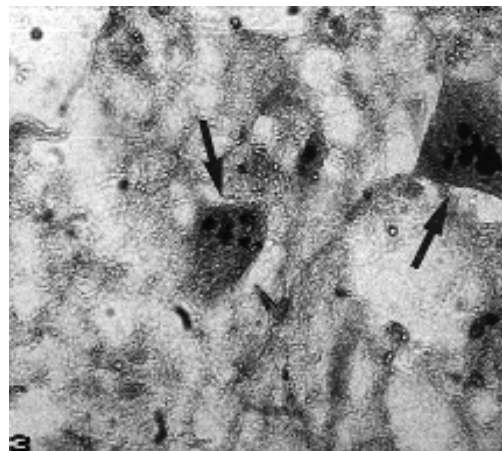
<sup>a, b</sup> Number of tissues available from 25 dogs (each tissue from individual dog)

\* Consisting of 8 positive for NB, 2 positive for HTP, and 1 negative for NB and HTP

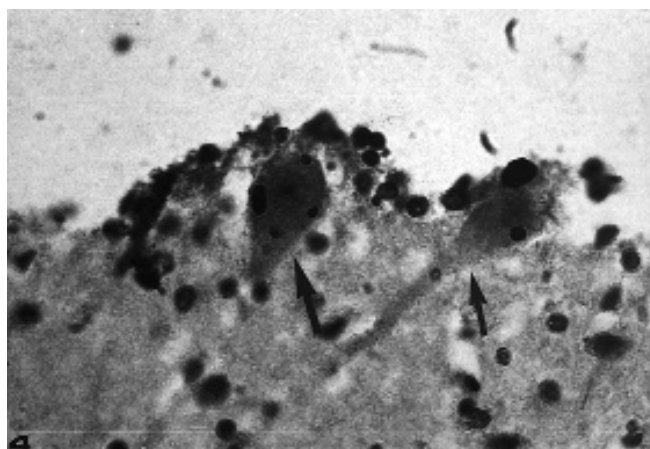
NT: not tested



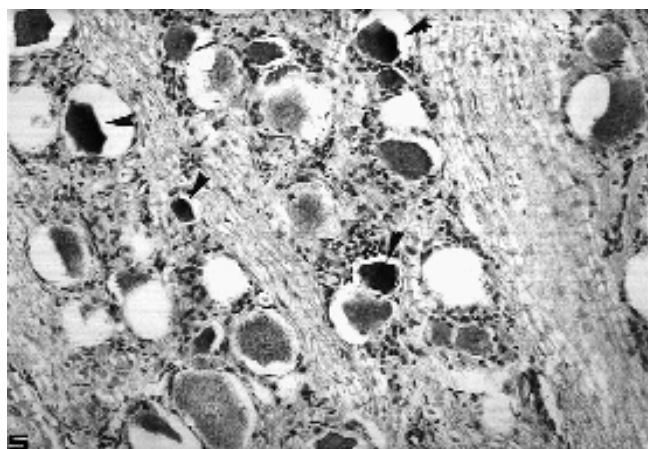
**Figure 2:** Dog with rabies; cerebral cortex. Multiple cytoplasmic inclusions (antigen) of various sizes within the perikarya and neuronal process (arrow). X 288 ABC immunoperoxidase and hematoxylin counterstain.



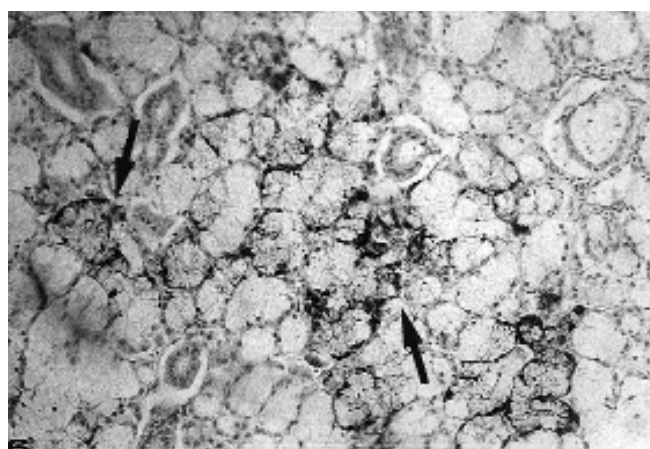
**Figure 3:** Dog with rabies; brain stem. Note multiple cytoplasmic inclusions (antigen) of various sizes within the perikarya of the neurons (arrow). X 288 ABC immunoperoxidase and hematoxylin counterstain.



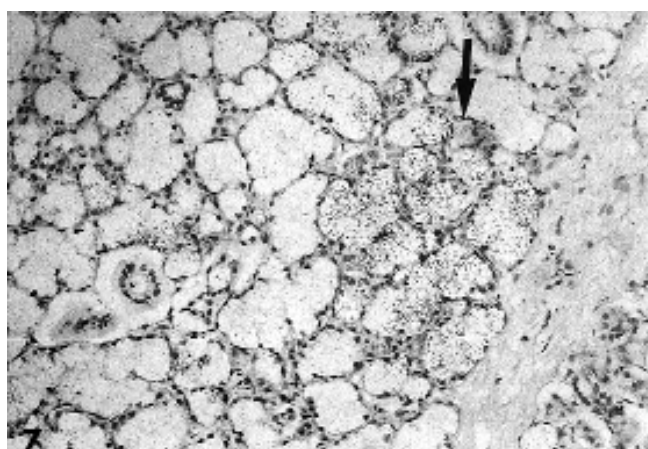
**Figure 4:** Dog with rabies; cerebellum. Multiple cytoplasmic inclusions of various sizes within the perikarya of Purkinje cells and processes (arrows). X 288 ABC immunoperoxidase and hematoxylin counterstain.



**Figure 5:** Dog with rabies; trigeminal ganglion. Massive viral antigen within the neurons (arrowheads). X 288 ABC immunoperoxidase and hematoxylin counterstain.

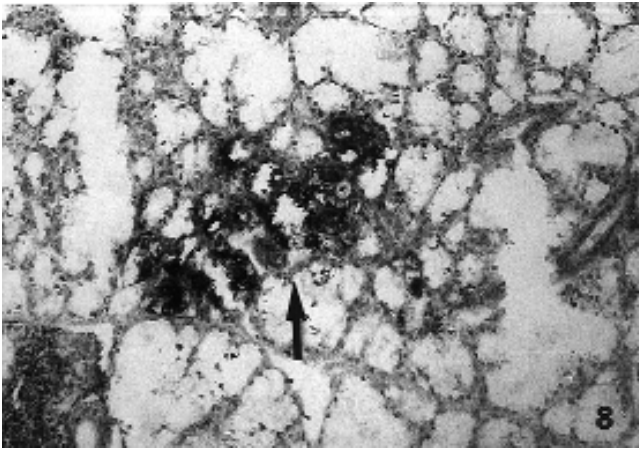


**Figure 6:** Dog with rabies; salivary gland. Massive viral antigen within the acinar epithelial cells and ducts (arrows). X 288 ABC immunoperoxidase and hematoxylin counterstain.

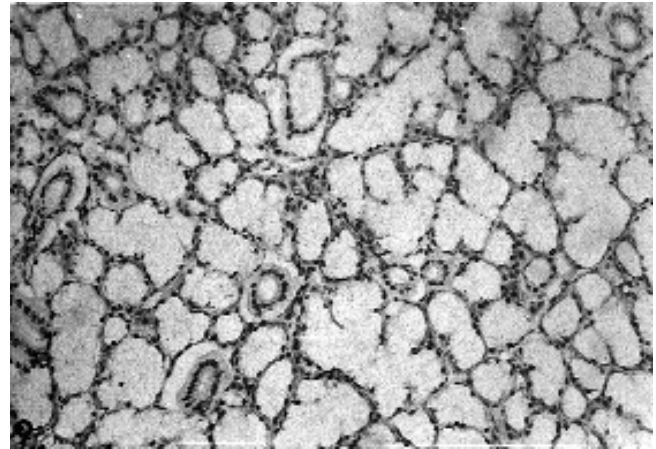


**Figure 7:** Dog with rabies; salivary gland. Abundant signal for mRNA in a multifocal distribution in the acinar cells (arrow). X 288 in situ hybridization ( $^3\text{H}$ -labeled probe) and hematoxylin counterstain.





**Figure 8:** Dog with rabies; salivary gland. Abundant signal for mRNA in a multifocal distribution in the acinar cells (arrow). X 288 in situ hybridization (digoxigenin-labeled probe); detected by polyclonal sheep anti-digoxigenin Fab-fragment conjugated to alkaline phosphatase.



**Figure 9:** Nonrabid dog; salivary gland (negative control). X 288 in situ hybridization ( $^3\text{H}$ -labeled probe) and hematoxylin counterstain.

Expectedly, signals indicating presence of mRNA were more abundant than genomic RNA, and radioactive grains had a diffuse distribution in the perikarya and dendritic processes of neurons, and in salivary acinar cells and ducts. Similar quantities of mRNA (based on distribution of staining signals in tissues) were found in neurons and acinar cells with digoxigenin-labeled probes, and the methodology was simpler than the ISH using  $^3\text{H}$ -labeled probes. Generally, staining signals indicating antigen and mRNA are more abundant when compared with other methods, followed in decreasing order of quantities by genomic RNA and Negri bodies (figures 2 to 8).

## ■ DISCUSSION

Viral proteins of rabies virus have been demonstrated in tissues for many years using antigen-detection techniques. Specimens are routinely submitted to diagnostic laboratories for the rapid detection of rabies virus antigens using immunofluorescence (5). Immunoperoxidase staining techniques have also been used to detect rabies virus antigens in tissues, especially when good morphology is important in addition to requirements for sensitive and specific detection of antigens (1, 4, 11).

In this study, the IP method was used to detect rabies virus antigen in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues from naturally infected dogs. There was no difference in the sensitivity of the method in the detection of rabies virus antigen either in the brain (cerebral cortex, hippocampus, cerebral cortex) or in the salivary glands of infected dogs. As a result, when the test is used for the detection of virus antigen in paraffinized sections, it is expected to facilitate retrospective studies of the disease and is therefore useful for field studies (7, 11). The disadvantages of IF test, which include the requirement for specialized laboratories and properly immunized personnel to carry out the test on fresh or frozen tissues, and the difficulty in using the technique on formalin-fixed, paraffin-embedded tissues, could be alleviated by the use of the IP method (7). Because of the inadequate transportation infrastructure and power supply as well as the high cost and maintenance of fluorescent microscopes, developing countries may find the use of the IF test prohibitive. Therefore, IP has potential applications for the diagnosis and investigation of rabies especially in developing countries as an alternative to the IF method.

This study has also demonstrated that rabies RNA can be detected in paraffin-embedded tissues in a sensitive and specific manner using *in situ* hybridization. The sensitivity of detection of rabies virus RNA correlated well with the sensitivity of detection of antigen as observed with the IP staining. Since routinely prepared formalin-fixed, paraffin-embedded blocks from naturally infected dogs were used for this study, the *in situ* hybridization technique can also be performed on routine autopsy specimens and may be done retrospectively. Formalin-fixed, paraffin-embedded tissues from routine autopsy materials could also be examined, even after storage for many years (13). A greater abundance of mRNA than genomic RNA was found in infected dog tissues. This finding contrasted with the observation for detection of rabies virus RNA in brains from fatal cases of human rabies, but agreed with that noted in brains of street-virus-infected mice (11, 12). The relative abundance of genomic RNA observed in the human brain has been associated with the possibility of a long-duration postmortem period and the temperature of the body during this interval, which might have influenced the integrity or recovery of mRNA. Changes in the levels of specific RNAs may have occurred in human cases during the agonal state (8, 12). In the case of tissues from infected dogs used in this study, histopathologic examination did not reveal changes suggesting significant postmortem autolysis. Besides, the results of the tests on dog tissues are in concordance with those obtained in other animals including mice (11).

Development of non-isotopic methods, e.g., using biotin-labeled or digoxigenin-labeled probes, have in most cases comparable sensitivity with radiolabeled probes and could be quicker, less expensive, and technically less difficult for wide applications (10). This study revealed that there is little difference in sensitivities between the  $^3\text{H}$ -labeled and digoxigenin-labeled probes in the detection of rabies virus mRNA in the tissues from infected dogs. However, the methodology using the digoxigenin-labeled probe was simpler and could be adopted for use in developing countries where facilities and expertise for handling radioactive elements are lacking. *In situ* hybridization is not likely to become a routine diagnostic test for rabies in the near future. Nevertheless, the method could be applied in selected cases when antigen detection techniques (IF or IP staining) are equivocal and viral isolation is negative or tissues are unavailable for isolation studies. *In situ* hybridization also has the potential for applications in the study of rabies pathogenesis.



## ■ CONCLUSION

ABC-elite immunoperoxidase and *in situ* hybridization have been used for the specific detection of rabies virus antigen and RNA, respectively, in postmortem tissues from naturally infected dogs. The methods can be applied to infected and paraffin-embedded tissues to facilitate retrospective studies and ensure good cell morphology in addition to sensitive and specific detection of the viral antigen and RNA. The use of non-isotopic probes for detection of rabies virus RNA in infected tissues has comparable sensitivity with radiolabeled probes and could be quicker, less expensive and technically less difficult than the use of the latter probes. The non-isotopic probe has the potential for applications in developing countries for the diagnosis and investigation of virus diseases.

## Acknowledgments

This study was undertaken while the author was the recipient of the John Alexander Steward Fellowship from the Department of Medicine, Queen's University at Kingston, Ontario, Canada.

## REFERENCES

1. BOURGON A.R., CHARLTON K.M., 1987. The demonstration of rabies antigen in paraffin-embedded tissues using peroxidase-antiperoxidase method: A comparative study. *Can. J. vet. Res.*, **51**: 117-120.
2. BOURHY H., ROLLIN P.E., VINCENT J., SUREAU P., 1989. Comparative field evaluation of the fluorescent-antibody test, virus isolation from tissue culture, and enzyme immunodiagnosis for rapid laboratory diagnosis of rabies. *J. clin. Microbiol.*, **27**: 519-523.
3. FEIDEN W., KAISER E., GERHARD L., DAHME E., GYLSTORFF B., WANDELER A., EHRENSBERGER F., 1988. Immunohistochemical staining of rabies virus antigen with monoclonal and polyclonal antibodies in paraffin tissue sections. *Zentralbl. Veterinaermed.*, **35**: 247-255.
4. FEKADU M., GREER P.W., CHANDLER F.W., SANDERLIN D.W., 1988. Use of avidin-biotin peroxidase system to detect rabies antigen in formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *J. Virol. Methods*, **19**: 91-96.
5. GOLDWASSER R.A., KISSLING R.E., 1958. Fluorescent antibody staining of street and fixed rabies virus antigens. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **98**: 219-223.
6. HAASE A., BRAHIC M., STOWRING I., BLUM H., 1984. Detection of viral nucleic acids by *in situ* hybridization methods. *Virology*, **7**: 189-226.
7. HAMIR A.N., MOSER G., 1994. Immunoperoxidase test for rabies: utility as a diagnostic test. *J. vet. Diagn. Invest.*, **6**: 148-152.
8. HARRISON P.J., PEARSON R.C.A., 1990. *In situ* hybridization histochemistry and study of gene expression in the human brain. *Prog. Neurobiol.*, **34**: 271-312.
9. INNES J.R.M., SAUNDERS L.Z., 1962. Rabies. In: Comparative neuropathology. New York, NY, USA, Academic Press.
10. JACKSON A.C., 1992. Detection of rabies virus mRNA in mouse brain by using *in situ* hybridization with digoxigenin-labeled RNA probes. *Mol. cell. Probes*, **6**: 131-136.
11. JACKSON A.C., REIMER D.L., WUNNER W.H., 1989. Detection of rabies virus RNA in the central nervous system of experimentally infected mice using *in situ* hybridization with RNA probes. *J. Virol. Methods*, **25**: 1-12.
12. JACKSON A.C., WUNNER W.H., 1991. Detection of rabies virus genomic RNA and mRNA in mouse and human brains by using *in situ* hybridization. *J. Virol.*, **65**: 2839-2844.
13. MOECH T.R., GRIFFIN D.E., OBRIECHT C.R., VAISBERG A.J., JOHNSON R.T., 1988. Acute measles in patients with and without neurological involvement: Distribution of measles virus antigen and RNA. *J. infect. Dis.*, **158**: 433-442.
14. SELLERS T.F., 1954. Rabies. In: Harrison T.R., ed., Principles of internal medicine. New principles of internal medicine. New York, NY, USA, McGraw-Hill.
15. UMOH J.U., EZEOKOLI C.D., OKOH A.E.J., 1985. Immunofluorescent staining of trypsinized formalin-fixed brain smears for rabies antigen: Results compared with those obtained by standard methods for 221 suspect animal cases in Nigeria. *J. Hyg.*, **94**: 129-134.
16. VAN DER MERWE J.L. de B., 1962. A routine stain for rabies. *J. South Afr. vet. Med. Ass.*, **33**: 341-345.

Reçu le 24.9.98, accepté le 26.7.99

## Résumé

**Baba S.S.** Détection de l'ARN et de l'antigène du virus de la rage dans des tissus de chiens infectés naturellement au Nigeria : hybridation *in situ* et études immunohistochimiques

Des tissus post mortem (du cortex cérébral, de l'hippocampe, du cervelet, des ganglions trigéminaux et des glandes salivaires), fixés dans du formaldéhyde et inclus dans de la paraffine, de 25 chiens ont été obtenus dans un laboratoire de diagnostic vétérinaire du Nigeria et soumis à des tests de recherche de l'ARN et de l'antigène du virus de la rage. L'ARN génomique et l'ARN messager (ARNm) du virus de la rage codant pour la glycoprotéine ont été détectés dans les tissus par la technique d'hybridation *in situ* (HIS) en utilisant des sondes d'ARN à simple brin marquées au  $^3\text{H}$ . L'antigène du virus de la rage a été mis en évidence par immuno-marquage avec de la peroxydase et le complexe avidine-biotine. L'ARNm viral a été détecté dans les tissus en utilisant des sondes d'ARN marquées à la digoxigénine. Le diagnostic histopathologique par coloration à l'hématoxyline-éosine a révélé des corps de Negri dans les tissus de 8 (32 p. 100) chiens ; 5 (20 p. 100) autres chiens ont présenté des modifications inflammatoires dues à des encéphalites virales sans corps de Negri. L'antigène a été détecté chez 11 (44 p. 100) des chiens examinés, soit dans les tissus des 8 chiens chez lesquels des corps de Negri ont été observés, de 2 des 5 chiens ayant présenté des modifications inflammatoires et d'un chien sur les 12 dont l'histopathologie était négative. L'ARN génomique et l'ARNm ont été détectés dans les tissus de tous les chiens où se trouvait l'antigène, et la distribution des signaux colorant pour les deux méthodes dans les neurones et dans les acini des glandes salivaires a été similaire. L'ARNm était plus abondant que l'ARN génomique et les signaux radioactifs étaient distribués de manière diffuse dans les périkaryons et les processus dendritiques des neurones, et dans les acini et les canaux salivaires. L'ARNm a également été trouvé en abondance dans les neurones et dans les acini avec des sondes marquées à la digoxigénine ; la méthode était plus simple. Par ordre décroissant de quantités, les marqueurs de l'antigène et de l'ARNm étaient les plus nombreux, venaient ensuite ceux de l'ARN génomique et enfin ceux des corps de Negri et d'histopathologie. La méthode de coloration par immunoperoxydase et la technique HIS utilisant des sondes marquées à la digoxigénine peuvent permettre d'effectuer des recherches sur la rage et d'en établir le diagnostic, en particulier dans les pays en développement où cette maladie continue de poser un problème de santé publique de grande importance.

**Mots-clés** : Chien - Virus de la rage - Antigène - Acide nucléique - Hybridation - Immunohistochimie - Nigeria.

## Resumen

**Baba S.S.** Detección del virus ARN y del antígeno de la rabia en tejidos de perros nigerianos infectados en forma natural: estudios inmunohistoquímicos y de hibridación *in situ*

Tejidos post-mortem fijados en parafina y en formalina (corteza cerebral, hipocampo, cerebelo, ganglio trigémino y glándulas salivales), provenientes de 25 perros, se adquirieron en un laboratorio de diagnóstico veterinario en Nigeria y fueron sometidos a pruebas para la detección del virus ARN y del antígeno de la rabia. El ARN genómico del virus de la rabia y el ARN mensajero (ARNm) que codifican la glicoproteína fueron detectados en tejidos con una hibridación *in situ* (ISH), mediante probadores de ARN uni linear marcados con  $^3\text{H}$ . El antígeno del virus de la rabia se determinó mediante el método de tinción con inmunoperoxidasa del complejo biotina avidina (ABC). El ARNm viral fue detectado en los tejidos gracias a probadores de ARN marcados con digoxigenina. El diagnóstico histopatológico con tinciones de hematoxilina y eosina reveló corpúsculos de Negri en tejidos provenientes de 8 perros (32%) y 5 (20%) presentaron cambios inflamatorios de encefalitis viral sin corpúsculos de Negri. El antígeno fue detectado en 11 (44%) de los perros examinados, o sea, en los tejidos de todos los perros con corpúsculos de Negri, en 2 de los 5 con cambios inflamatorios y en 1 de los 12 con histopatología negativa. El ARN genómico y el ARNm se detectaron en los tejidos de todos los perros que fueron positivos para el antígeno, con una distribución similar de las señales de tinción mediante ambos métodos, tanto en las neuronas como en las células acinares de las glándulas salivales. El ARNm fue más abundante que el ARN genómico y los gránulos radioactivos presentaron una distribución difusa en los procesos dendríticos y en la pericarya de las neuronas, así como en los ductos y las células acinares. El ARNm también se encontró en forma abundante en las neuronas y en las células acinares con probadores marcados con digoxigenina y con una metodología más simple. Las señales indicadoras del antígeno y del ARNm fueron las más abundantes, seguidas por el ARN genómico y en orden decreciente, la histopatología/corpúsculos de Negri. El método de tinción con inmunoperoxidasa y la técnica ISH, mediante el uso de probadores marcados con digoxigenina, pueden ser útiles para la investigación y el diagnóstico de la rabia, principalmente en los países en desarrollo, en donde la enfermedad representa aún un problema importante para la salud pública.

**Palabras clave** : Perro - Virus de la rabia - Antígeno - Acido nucleico - Hibridación - Inmunohistoquímica - Nigeria.

## A Pocket Guide to Recognising and Treating Pig Diseases

M.R. Muirhead,  
T.J.L. Alexander

□ Ce livre de petit format en langue anglaise constitue en fait le condensé d'un ouvrage de référence plus important des mêmes auteurs paru lui aussi en 1998 : *Managing Pig Health and the Treatment of Diseases*. Il s'agit d'un petit guide sur la santé des porcs en élevage industriel, avec un accent mis davantage sur la description des maladies que sur le traitement vétérinaire de celles-ci. Le livre comprend quatre parties :

### 1. Comprendre les médicaments et leur emploi

Ce court chapitre introductif donne des informations de base sur les médicaments vétérinaires, leur mode d'utilisation : grandes classes de produits et principes d'action, dosage, modalités d'administration, etc. Certains rappels peuvent être très utiles au non-spécialiste : les conseils pratiques sont très concrets et bien expliqués.

### 2. Cheptel reproducteur et porcelets avant sevrage

Cette partie est la plus volumineuse de l'ouvrage. Elle traite des maladies du cheptel reproducteur (troues en lactation ou en gestation et jeunes porcelets). Elle commence par un tableau des principaux symptômes avec une liste de leurs causes possibles. Puis, chaque maladie est décrite succinctement : symptômes, causes, moyens de diagnostic, traitements.

### 3. Animaux sevrés, en croissance ou finition

Les maladies du porc en croissance ou finition sont exposées sur le même principe que dans le chapitre précédent. Les maladies communes aux porcs reproducteurs et charcutiers ne sont pas re-

prises ici : un simple renvoi à la partie précédente est parfois complété par des spécificités (diagnostic ou traitement) des porcs en croissance.

### 4. Gestion des porcs malades et traitements appliqués

Cette très courte partie évoque l'organisation de l'élevage en matière de santé des animaux : présence de zones d'infirmerie, gestion des animaux malades, etc. Un tableau récapitulatif donne ensuite des conseils sur les actions à entreprendre immédiatement lors de l'identification de certaines maladies : élimination des animaux concernés, traitement, mise en observation.

Ce petit manuel est très synthétique et accessible à des utilisateurs non-spécialistes. L'acception du terme « maladies » (*diseases*) est très large, puisqu'il s'applique aussi bien à des symptômes (fièvre, comportement anormal), à des accidents (fractures, électrocution) ou à des carences qu'à des maladies au sens strict du terme. Tous les paramètres de la santé animale en élevage industriel sont ainsi abordés. En revanche, les affections « exotiques », moins fréquentes ou absentes dans les pays occidentaux, ne sont pas évoquées ici, mais font l'objet d'un chapitre complet dans l'ouvrage de référence associé à ce guide.

En guise d'introduction et de rappel utile, chaque affection est décrite dans ses grandes lignes, sa fréquence est précisée et les circonstances de son apparition sont mentionnées. Une liste des symptômes est ensuite proposée avec parfois quelques notes complémentaires (fréquence ou visibilité des symptômes). Vient ensuite une liste des causes, complétée par un paragraphe sur le diagnostic qui donne une idée du recoupement des informations, des observations à faire pour valider la suspicion de l'affection. Le traitement est décrit de manière succincte, en insistant surtout sur les précautions à prendre, le besoin éventuel d'isolement des animaux concernés par l'affection, les pratiques d'élevage pouvant réduire le risque de cette affection. Les conseils sur les médicaments sont beaucoup plus parcimonieux, ce guide n'étant pas un mémento vétérinaire proprement dit. Pour les maladies les plus communes, les principes et les molécules des médicaments indiqués sont brièvement décrits, ainsi que les noms commerciaux des préparations vétérinaires lorsqu'elles font autorité.

L'aide au diagnostic proposée est une liste de symptômes, pour chaque type d'animaux, avec en regard une liste des

causes possibles de ces symptômes. Les causes les plus probables sont mises en évidence. Sans être un véritable outil de diagnostic puisqu'il s'agit d'une clé à entrée simple, cette récapitulation sous forme de tableaux permet de survoler les hypothèses à considérer en présence d'un symptôme. L'utilisateur non-spécialiste y trouvera donc un aide-mémoire lui évitant de se focaliser à tort sur les quelques maladies qu'il connaît mieux. La liste des « maladies » présentée ensuite est facile d'accès puisque classée par ordre alphabétique. Cette classification n'est toutefois pas particulièrement didactique car elle rapproche des affections très différentes et, par conséquent, ne montre pas les grandes familles d'affections.

Il est clairement rappelé au début de l'ouvrage qu'il s'agit d'un guide de base et que, hormis les affections simples à diagnostiquer et à traiter, l'intervention du vétérinaire est fortement souhaitable. L'objectif n'est donc pas de faire du lecteur un vétérinaire, mais seulement de lui permettre de résoudre des problèmes simples, de réagir correctement en cas d'anomalie et de comprendre la santé de son élevage. Toutefois, il semble illusoire d'utiliser ce petit guide sans l'ouvrage de référence dont il constitue une version de poche, car il comporte beaucoup de renvois aux chapitres de cet ouvrage. Le recours très fréquent à ce type de renvois rend parfois l'utilisation du manuel un peu frustrante. De même, seul l'ouvrage complet comporte un véritable exposé de l'anatomie et de la physiologie des animaux, ainsi qu'un lexique expliquant la terminologie employée. Si ce manuel est donc trop simple pour un vétérinaire d'élevage, il est aussi probablement un peu trop simplifié pour un utilisateur de base qui aura besoin de revenir régulièrement à l'ouvrage complet pour comprendre ou compléter son information. Il faut par conséquent considérer les deux livres comme complémentaires et indissociables au risque de se retrouver avec un outil qui ne se suffit pas entièrement à lui-même.

Denis BASTIANELLI  
Cirad-emvt

Muirhead M.R., Alexander T.J.L., 1998. A Pocket Guide to Recognising and Treating Pig Diseases, 302 p. 5M Enterprises Ltd., PO Box 233, Sheffield S35 0BP, UK.

E-mail: 5m@fivementerprises.demon.co.uk  
ISBN 0 9530150 1 7  
<http://www.fivementerprises.demon.co.uk>

# The health status of pigs in North Cameroon

D.N. Awa<sup>1</sup> A. Njoya<sup>1</sup>  
A.C. Ngo Tama<sup>1</sup> F.N. Ekue<sup>2</sup>

## Key words

Swine - Health - African swine fever - ELISA - Cameroon.

## Summary

A study was conducted to identify among other constraints pathological conditions affecting pig productivity and potential as a livestock subsector in the semiarid North Cameroon. Data were collected in three phases: a cross-sectional survey, a one-year monitoring of a cohort of selected herds and a one-year pork inspection. Results indicated that lousiness due to *Haematopinus suis* was the most common pathological condition with a herd prevalence above 50% during the monitoring phase and of 75.8% in a sample of 750 slaughtered pigs. Gastroenteritis prevalence was low (4%), but highly associated with piglet mortality. Pathological lesions of public health importance recorded during pork inspection were tuberculosis and cysticercosis lesions with prevalences of 33.2 and 12.3%, respectively. Indirect ELISA serological results on 150 samples were 98% negative for the African swine fever virus (ASF), suggesting that the region was ASF-free. The region can thus be regarded as potentially suitable for the development of the country's pig industry. Proper pork inspection and hygiene measures should be enforced to protect human health from infected meat.

## INTRODUCTION

In 1980, the pig population in Cameroon was estimated at 1,470,000, and more than 95% of them were located in the southern part of the country. The African swine fever (ASF) epidemic that was reported in Cameroon for the first time in 1982 (3) decimated an estimated 80% of the country's pig population. Epidemics were limited to the South of the country (figure 1) and, to date, no outbreak of ASF has been reported in the three northern provinces (Adamawa, North and Far North) stretching from latitude 6°N to Lake Chad (latitude 13°N). As ASF remains endemic in the South, pig production is gaining ground in the North and Far North provinces. More than 80% of pigs produced in this region are sold in the South in major cities like Yaounde and Douala (figure 1). In 1996, the pig population in both provinces was estimated at 200,000 (8) compared to about 15,000 in 1986 (7). The growing importance of pig production in this region therefore calls for the identification of constraints and potentials with a view to improving productivity and developing the country's pig industry in a region that is free from ASF. This

livestock subsector could easily follow the example of Thailand (10), where pig production progressed from backyard type to one of Thailand's major industrial livestock sectors within two decades.

## MATERIALS AND METHODS

The study consisted of three phases:

1. A rapid survey (cross-sectional study) which provided information on the present state of pig production including population estimates, breeds, reproduction parameters, pathology, mortality and general management practices
2. A twelve-month monitoring period of a cohort of selected herds
3. A twelve-month collection of pork inspection data

### The rapid survey phase

In February 1996, a survey was carried out involving 357 pig farms in 38 sites containing about 6000 pigs. Figure 2 shows the major towns and villages visited to which the remaining sites were associated. The data collected included among other information the clinical manifestations observed and mortalities recorded throughout the year by the farmer. Blood was collected from 2 to 3 randomly-selected animals over 1 year of age in herds of at least 10 pigs. Sampling was evenly performed throughout the survey area. A total of 150 samples from 71 males and 79 females were collected for ASF serology.

1. Institute of Agricultural Research for Development (IARD), PO Box 1073, Garoua, Cameroon

2. IARD, PO Box 2067, Yaounde, Cameroon



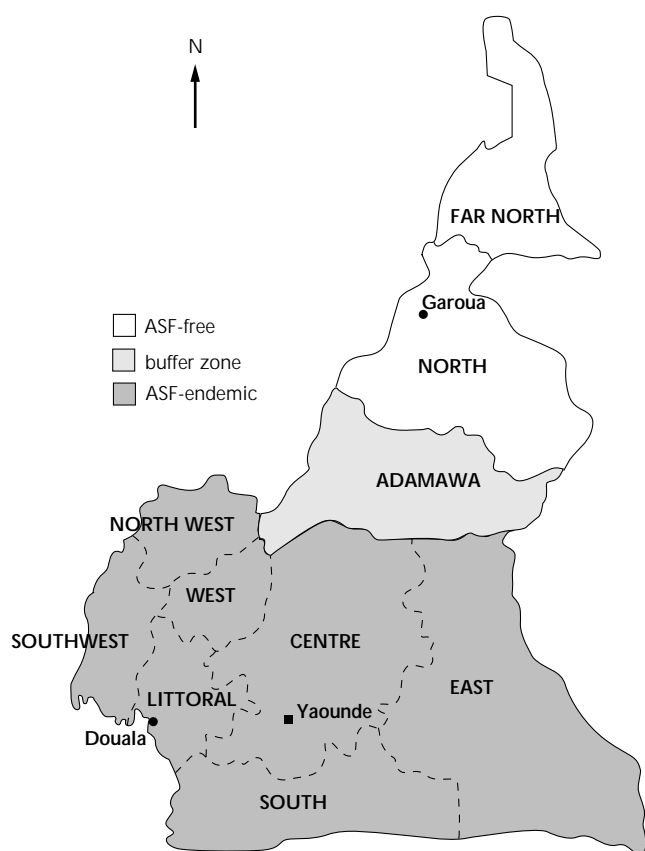


Figure 1: Presumed African swine fever virus distribution map of Cameroon.

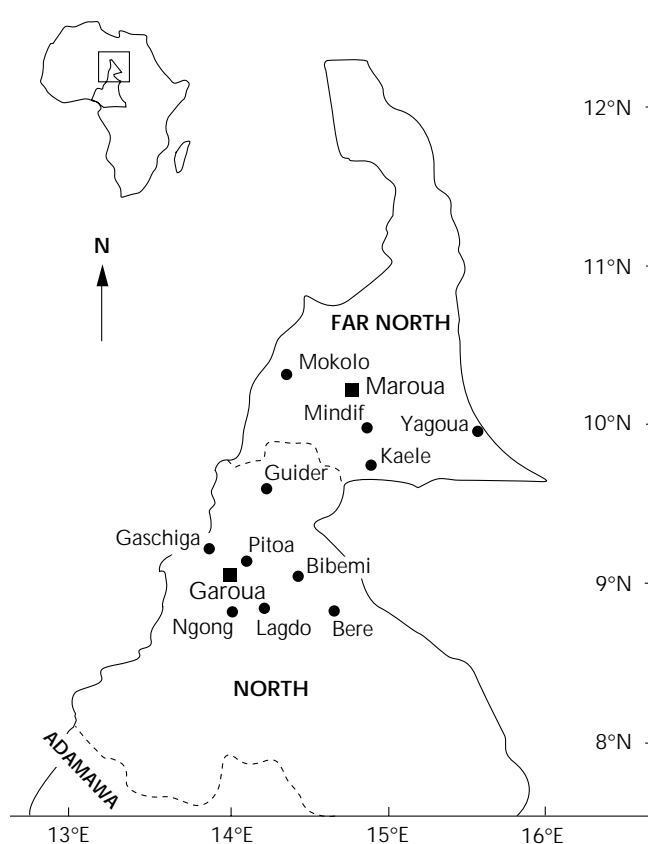


Figure 2: Major sites in northern Cameroon where survey data on pig production were recorded and samples for African swine fever serology collected.

### The cohort phase

A total of 24 pig farms averaging about 20 heads each were monitored from July 1996 to June 1997. Farm choice was based on three criteria as follows: representativity of the different rearing systems identified as intensive, semi intensive and free roaming (8), a minimum herd size of 15 animals as initial population and the willingness of the farmer to participate. The monitoring health aspect consisted in noting clinical symptoms in the course of fortnightly visits as well as mortalities and their possible causes through autopsy findings.

### The inspection phase

Systematic antemortem and postmortem inspections were carried out at pig slaughter points in Garoua for twelve months from August 1997 to July 1998, and all pathological findings were recorded. A total of 750 pigs were inspected.

### Serological analysis

Serum samples were assayed by the indirect ELISA at the Pirbright virology laboratory, UK. Polystyrene ELISA plates (NUNC Immuno-plate 1) were used. The antigen was treated to a two-fold dilution with carbonate/bicarbonate buffer and 100  $\mu$ l were dispensed into each well and stored overnight at room temperature. The reference antiserum (50  $\mu$ l) was also treated to a two-fold dilution in PBS, 0.05% Tween 20, 1% Marvel® and added to each well after washing the plate four times with PBS (Dulbecco's modification) and incubated at 37°C for one hour on an orbital shaker. The plate was then washed four times with PBS and 50  $\mu$ l of 1:2000 dilution of protein A conjugate was added and

incubated at 37°C for one hour. After a final wash with PBS, 50  $\mu$ l of substrate solution (30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in ortho-phenylenediamine) was added to each well and the reaction was stopped after 10 min by adding 50  $\mu$ l of 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> to each well. The optical density was read at 492 nm wavelength.

### Statistical analysis

The chi-square test was used to compare the appearance of clinical signs and mortalities in the different rearing systems of the monitoring phase and to assess the age, sex of the animal and season as risk factors influencing the occurrence of certain pathological findings at postmortem.

## ■ RESULTS

Survey results indicated that the main clinical observations as reported by the farmers were itching (lousiness), cough, diarrhea and the presence of *Ascaris suum* in pig feces, in descending order of magnitude (figure 3). Lousiness prevalence in herd was above 50%. Figure 3 also shows the incidence of cough and diarrhea, which were the main symptoms observed during the 12-month monitoring phase. Cough prevalence was higher during the dry season from December to May while diarrhea was more prevalent from July to September corresponding to the peak of the wet season (figure 4). The occurrence of clinical signs did not depend on the rearing system. Annual mortality rates were 57.5, 54.5 and 37.6% in intensive, semi-intensive and free-roaming systems, respectively. There was no significant difference between the rates due to the high variation from one herd to another. Mortality distribution according to age group is presented in figure 5. Most

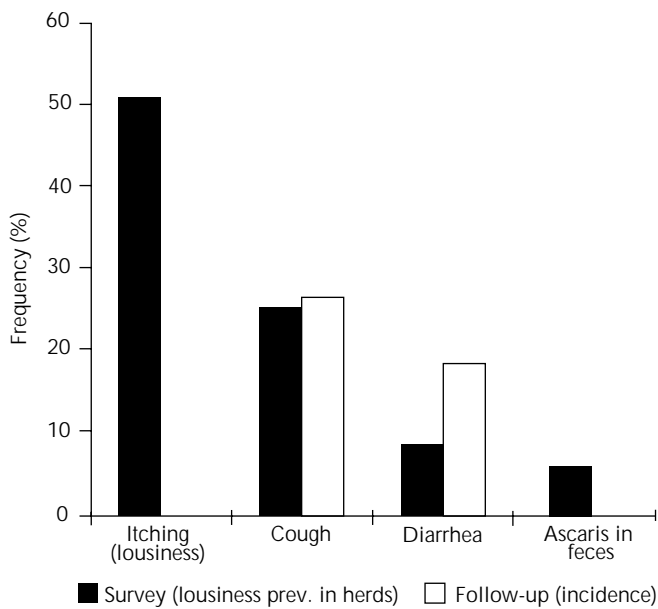


Figure 3: Frequency of appearance of clinical symptoms in monitored herds in northern Cameroon.

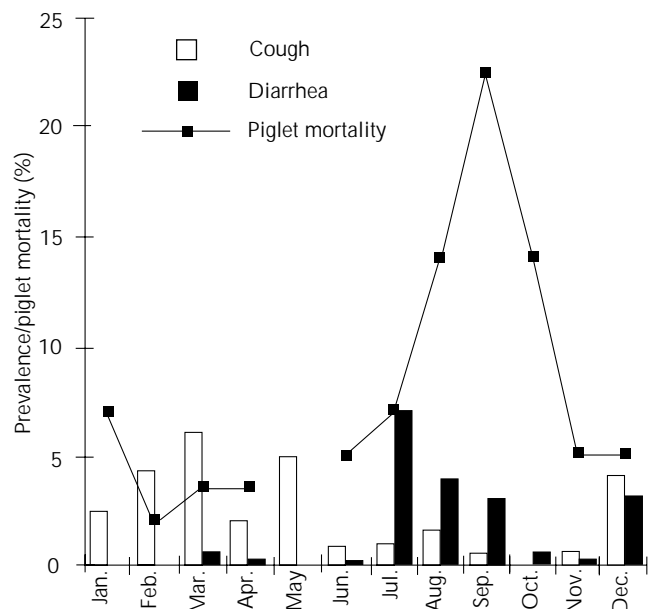


Figure 4: Seasonal prevalence of the main clinical symptoms and piglet mortality in monitored herds in northern Cameroon.

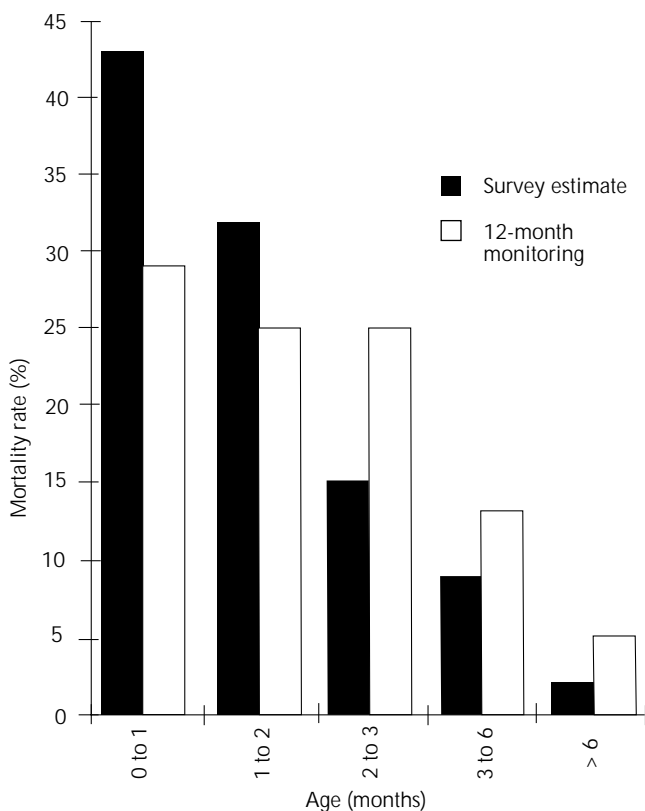


Figure 5: Distribution of piglet mortality by age groups.

mortalities occurred in piglets of the preweaning age of three months and below. The most important cause of mortality (23.6%) was poor mothering ability (crushing or eating of young) due to poor housing and inadequate nutrition, followed by diarrhea (14.5% of total mortalities). There were similarities in mortality pattern by age group between survey estimates and monitored data (figure 5).

Serological results for ASF were globally negative. Of the 150 samples analyzed 147 were negative and 3 positive. Incidentally, the positive three were from females.

Pork inspection findings are represented in table I. About 76% of slaughtered pigs were infested by the louse *Haematopinus suis*. Tuberculosis (TB) lesions were the most common postmortem pathology with a prevalence of 33.2%. Other important lesions were cysticercosis (cystic stage of the tapeworm *Taenia solium*), liver milkspots and presence of *Ascaris suum* larvae in the lungs. The age and sex of the animal and the season were considered as predisposing factors to the occurrence of some of the pathological conditions encountered at pork inspection. Table II shows that these factors had no influence on the occurrence of tuberculosis lesions and cysticercosis. However, female pigs were more vulnerable to *Ascaris suum* larvae in the lungs than males ( $p = 0.002$ ) and this condition was also significantly more common in the dry season ( $p = 0.048$ ). Lousiness was highly associated

Table I  
Prevalence of pathological findings at pork inspection in Garoua, North Cameroon

Pathology	Prevalence (%)
Lousiness	75.8
Tuberculosis	33.2
Heart cysts	12.3
Milkspots	12.3
<i>Verminous pneumonia</i>	10.0
Oral cysts	7.9
Skin lesions (non-specific)	4.7
Gastroenteritis	4.0
Orchitis	1.4
Metritis	1.3
<i>Stephanurus dentatus</i> (kidneys)	1.2
Mastitis	0.9
<i>Ascaris suum</i>	0.3
Foot and mouth disease	0.1

Table II

Relative risk (RR) of occurrence of pathological lesions associated to various factors at pig inspection in North Cameroon

Lesion	Predisposing Factor	Relative risk (RR)	Confidence interval	Mantel-Haenszel P value
TB	Age	1.15	0.83 < RR < 1.60	0.39
	Sex	1.00	0.81 < RR < 1.24	0.99
	Season	1.05	0.84 < RR < 1.31	0.68
Heart cysts	Age	1.53	0.77 < RR < 3.06	0.21
	Sex	1.29	0.85 < RR < 1.95	0.23
	Season	1.19	0.79 < RR < 1.79	0.41
<i>Verminous pneumonia</i>	Age	1.07	0.55 < RR < 2.07	0.84
	Sex	2.03	1.28 < RR < 3.23	0.002 <sup>a</sup>
	Season	1.56	1.00 < RR < 2.41	0.048 <sup>b</sup>
Lousiness	Age	1.28	1.09 < RR < 1.51	0.0002 <sup>c</sup>
	Sex	1.01	0.93 < RR < 1.10	0.82

<sup>a</sup> Significantly, more females than males were affected

<sup>b</sup> More cases significantly occurred during the dry season

<sup>c</sup> More adults were significantly infested than young ones

<sup>d</sup> There was a significantly higher prevalence during the dry season

with older animals ( $p = 0.0002$ ) and with the dry season ( $p = 0.0001$ ). Seasonal variation of the main diseases is presented in figure 6. It shows that lousiness prevalence is high throughout the dry season and early in the rainy season, dropping sharply in August and remaining low until October, i.e., at the peak and until the end of the rainy season. Although gastroenteritis is not presented in figure 6, the 4% cases (table I) were all recorded in August and September (at the peak of the rainy season).

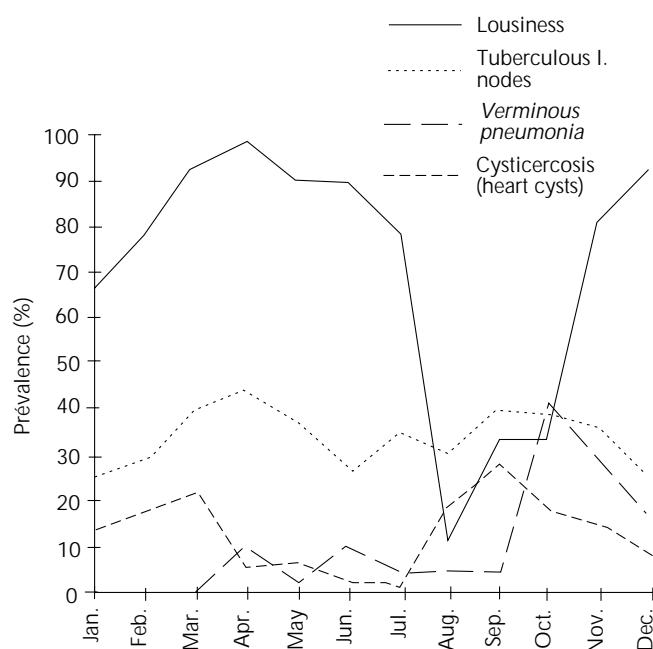


Figure 6: Monthly prevalence of main pathological lesions.

## DISCUSSION

Results of this study have shown that although diseases may not be a major constraint to pig production in North Cameroon, they are not, however, negligible. Louse infestation by *Haematopinus suis* can cause considerable production losses because of the biting nuisance, especially when prevalence is as high as 75.8% as recorded in slaughtered pigs. This prevalence was more than 10 times higher than that of 7.2% reported by George *et al.* (6) from clinical records in a similar climatic region of northern Nigeria. Treatment of pigs against ectoparasites is uncommon in North Cameroon. Readily available acaricides such as deltamethrin (BUTOX®) are in oily suspensions and their use in pigs is generally ill-advised because of possible accumulation in subcutaneous fats.

High humidity during the rainy season is not conducive to lice development, which explains the low lousiness prevalence from August to October. No explanation could be found for a lower prevalence of lice in younger pigs (less than 6 months old).

Although of lower prevalence (4% in slaughtered pigs), gastroenteritis (diarrhea) was highly associated with mortalities in young pigs between July and September as illustrated in figure 4. No identification of microbial pathogens associated with gastroenteritis was done in this study. Atti *et al.* demonstrated that rotavirus antigens were present in 45% of diarrheic piglets against zero in normal ones (2). Adetosoye and Adeniran associated *Campylobacter faecalis* to gastroenteritis of piglets in Gongola State of Nigeria (1), neighboring the region of the present study. It would be necessary, however, to carry out a specific diagnosis of this condition in North Cameroon for more efficient treatment.

Although the prevalence of *Ascaris suum* larvae in the lungs was high (10%), it did not seem to be of clinical importance. The period of high prevalence, from October to December (figure 6), did not coincide with that of cough from December to May (figure 4). Cough might have been induced by other causes.

The apparent ASF-free condition of North Cameroon should be strictly maintained. Ekue *et al.* stated that ASF is endemic in Cameroon (5). This followed epidemiological studies that were only carried out in the South of the country. Outbreaks have been confirmed in all seven provinces of the South as opposed to none in the three northern provinces. It is possible that the Adamawa province is not completely free from the ASF virus since it is a buffer zone between the endemic South and the free northern zones. But it seems safe to state that the zone of the study, i.e., from latitude 9°N northwards, is ASF-free. The recorded three positive cases could be false positives, giving the test a 98% specificity, which is acceptable. Paradoxically, the reservoir host of the ASF virus, the warthog, is absent in the ASF-endemic South but present in the North (4). These authors also reported the absence of the vector tick, *Ornithodoros moubata* in the South of Cameroon. It appears necessary to carry out more epidemiological studies. They should include: 1) the determination of the virus carrier status of the warthog; 2) resampling with more sensitive and specific tests such as PCR in areas where the serologically positive cases were recorded; and 3) sampling in the buffer zone, i.e., the Adamawa province, to help draw the ASF virus distribution map of Cameroon.

While pork inspection did not reveal significant pathological findings affecting pig productivity, it was the opposite with regard to public health. A prevalence level above 33 and 12% for tuberculosis lesions and human tapeworm cysts, respectively, caused pork to be a potential public health hazard. Prevailing pig rearing practices in the region, where pigs were allowed to roam freely, contributed to the situation as pigs were often exposed to

human pathogens. The situation could only be corrected through intensive pig rearing and proper pork inspection and condemnation when appropriate.

## ■ CONCLUSION

Diseases were not an important production constraint in pig farming in North Cameroon. It is however necessary to identify gastrointestinal pathogens and treat pigs accordingly. Powdery acaricides are becoming more readily available and their use in treating against lice and other ectoparasites is advised. African swine fever is apparently absent from the region, thus, making it a region of choice for the development of the country's pig industry. Intensive sampling and search for the ASF virus still need to be carried out in the three northern provinces of Cameroon in order to declare them a virus-free zone. The high prevalence of zoonosis observed at pork inspection calls for a more proper and rigorous inspection and enforcement of public health hygiene.

## Acknowledgments

The authors thankfully acknowledge the financing of this study by the project of Développement paysannal et gestion de terroirs of the cotton-producing zone of North Cameroon. The serological analysis carried out by the Pirbright International Virology Laboratory free of charge is well appreciated. The authors finally thank Messrs. Kammegni Jacob and Choupamoum Jean of IARD, Garoua Station, for their technical assistance, and the pig farmers for their collaboration.

## REFERENCES

1. ADETOSOYE A.I., ADENIRAN M.O.A., 1987. *Campylobacter enteritis* in animals in Ile-Ife, Oyo State, Nigeria. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **40**: 39-40.
2. ATII D.J.I., OJEH C.K., DUROJAIYE O.A., 1989. Detection of rotavirus antigen in diarrhoeic and non-diarrhoeic piglets in Nigeria. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **42**: 494-496.
3. EKUE F.N., TANYA V.N., 1985. The 1982 African swine fever epizootic in Cameroon. *Revue sci.tech., Série Sci. Zootech.*, **1**: 65-70.
4. EKUE N.F., WILKINSON P.J., 1990. Absence of *Ornithodoros moubata*, the vector of African swine fever virus from the main pig producing area of Cameroon. *Trop. Anim. Health Prod.*, **22**: 127-131.
5. EKUE N.F., WILKINSON P.J., WARDLEY R.C., 1989. Infection of pigs with the Cameroon isolate (Cam/82) of African swine fever virus. *J. comp. Pathol.*, **100**: 146-154.
6. GEORGE J.B.D., OTOBO S., OGUNLEYE J., ADEDIMINIYI B., 1992. Louse and mite infestation in domestic animals in northern Nigeria. *Trop. Anim. Health Prod.*, **24**: 121-124.
7. LETENNEUR L., DOUFISSA A., NANKO G., LOBRY J.C., 1995. Etude du secteur élevage au Cameroun. Rapport définitif. Maisons-Alfort, France, Cirad-emvt, 520 p.
8. NJOYA A., AWA D.N., MOUSSA C., NGO TAMA A.C., CARDINALE E., EBANGI L., NGANGUE J.M., 1996. L'élevage porcin au Nord Cameroun : situation actuelle et possibilités d'amélioration. Rapport technique. Garoua, Cameroun, IRAD, 51 p.
9. NJOYA A., AWA D.N., NGO TAMA A.C., EBANGI L., 1997. Amélioration de la productivité porcine par l'alimentation et la prophylaxie. Rapport technique. Garoua, Cameroun, IRAD, 26 p.
10. TISDELL C., MURPHY T., KEHREN T., 1997. Characteristics of Thailand's commercial pig and poultry industries, with international comparisons. *World Anim. Rev.*, **89**: 2-11.

Reçu le 7.5.99, accepté le 16.9.99



**Résumé**

**Awa D.N., Njoya A., Ngo Tama A.C., Ekue F.N.** L'état sanitaire des porcs au Nord Cameroun

Une étude a été menée pour identifier, entre autres contraintes, les conditions pathologiques qui affectent la productivité des porcs et leur potentiel en tant que filière de l'élevage dans la zone semi-aride du Nord Cameroun. Les données ont été collectées en trois étapes : une enquête transversale, un suivi des troupeaux sélectionnés au cours d'une année et une inspection de la viande porcine pendant une année. Les résultats ont montré que les infestations dues à *Haematopinus suis* étaient la condition pathologique la plus fréquente avec une prévalence supérieure à 50 p. 100 dans les troupeaux au cours de la phase de suivi et de 75,8 p. 100 dans un échantillon de 750 porcs abattus. Les gastro-entérites étaient de faible prévalence (4 p. 100), mais fortement associées à la mortalité des porcelets. Les lésions pathologiques importantes pour la santé publique enregistrées à l'inspection de la viande porcine étaient celles de la tuberculose et de la cysticercose avec des prévalences respectivement de 33,2 et 12,3 p. 100. Les résultats de la sérologie indirecte par Elisa effectuée sur 150 échantillons étaient négatifs à 98 p. 100 pour le virus de la peste porcine africaine (PPA), ce qui laisse à penser que la région était indemne de PPA. Cette région pourrait par conséquent être considérée comme une zone favorable au développement de l'industrie porcine dans le pays. L'inspection de la viande de porc et les mesures d'hygiène devraient être mis en œuvre pour assurer la protection de la population humaine contre les viandes infectées.

**Mots-clés :** Porcin - Santé - Peste porcine africaine - Test Elisa - Cameroun.

**Resumen**

**Awa D.N., Njoya A., Ngo Tama A.C., Ekue F.N.** Estado de salud de los cerdos en el norte de Camerún

Un estudio fue llevado a cabo, con el fin de identificar, entre otros, las condiciones patológicas que afectan el potencial y la productividad porcina, como sub sector de producción animal en la zona semi árida del Norte de Camerún. Los datos se recolectaron en tres fases: un estudio cruzado, un seguimiento de cohortes de un año en hatos seleccionados y una inspección de los cerdos durante un año. Los resultados indican que las pérdidas debidas a *Haematopinus suis* representaron la condición patológica más común, con una prevalencia en el hato de más de 50% durante la fase de monitoreo y de 75,8% en una muestra de 750 cerdos sacrificados. La prevalencia de gastroenteritis fue baja (4%), pero altamente asociada con la mortalidad de los lechones. Las lesiones patológicas con importancia para la salud pública, registradas durante la inspección porcina, fueron de tuberculosis y cysticercosis, con prevalencias de 33,2 y 12,3% respectivamente. Noventa y ocho por ciento (98%) de los resultados serológicos de un test ELISA indirecto, realizado en 150 muestras, fueron negativos para el virus de la fiebre porcina africana (ASF), lo que sugiere que la región esta libre de ASF. Por lo tanto, esta zona puede considerarse potencialmente apropiada para el desarrollo de la industria porcina del país. Con el fin de proteger la salud humana contra carne infectada, deben reforzarse, tanto las medidas de higiene, como una inspección porcina adecuada.

**Palabras clave:** Cerdo - Salud - Peste porcina africana - ELISA - Camerún.

# Swamp fever in wild horses from the Pantanal, Brazil

R.A.M.S. Silva<sup>1</sup> U.G.P. De Abreu<sup>2</sup>  
A.M.R. Dávila<sup>3</sup> L. Ramirez<sup>4</sup>

## Key words

Horse - Wild animal - Equine infectious anemia - Pantanal - Brazil.

## Summary

The Pantanal is a large wetland with an area of 140,000 km<sup>2</sup>, located in the center of South America. In the Pantanal some very large ranches (usually over 40,000 ha) have populations of wild horses. The objective of this study was to evaluate the occurrence of equine infectious anemia (EIA) in a population of wild horses in an EIA-endemic region. In this study seropositivity to EIA was 5.6% in wild horses and 34.1% in domestic horses belonging to the same ranch. The observed prevalence rates were 5.7% in wild male horses and 5.3% in wild females. The observed prevalence rate in domestic male horses was 34.1%. Mean ages of domestic seropositive and domestic seronegative horses were 9 and 5.8 years old, respectively. Mean ages of wild seropositive and wild seronegative horses were 3.2 and 1.7 years old, respectively. No sex influence was observed in the wild animals. There was a very significant ( $P < 0.001$ ) difference between the EIA prevalence in wild and domesticated horses in the studied farm. The hypothesis formulated by the authors is that man had played an important role in the EIA virus transmission to domesticated horses in the Pantanal. On the other hand, in wild populations insect vectors probably played a fundamental role in EIA transmission in the region.

## ■ INTRODUCTION

The Pantanal is a large wetland with an area of 140,000 km<sup>2</sup>, ranging in altitude from 80 to 130 m above sea level, located in the center of South America, between 16 and 21°S, and 55 and 58°W (figure 1). Extensive cattle farms of 10,000 to 200,000 hectares occupy the majority of this floodplain. Feral pigs excepted, studies of diseases in domestic animals that turned to a feral state are very rare. Free-ranging populations of horses can be found in the Americas and Australia. These wild horses are feral animals whose ancestors were once domesticated. The process of feralization is straightforward; it merely involves an animal fending for itself. Wild horses once lived in South America where they were abundant on the Falkland Islands as well as in Argentina, Brazil, Chile, Peru, and Venezuela (2). In the Pantanal, some very large ranches, with areas usually over 40,000 ha, have populations of wild horses. Equine infectious anemia (EIA) is worldwide known

as swamp fever and is caused by a retrovirus belonging to the lentivirus subfamily that infects members of the Equidae family. EIA causes a persistent infection in horses resulting in periodic episodes of fever, anemia, thrombocytopenia, leukopenia and weight loss. Transmission can be vertical or horizontal by contaminated needles, mothers' milk and fly bites (5). Blood from persistently infected horses is the major source of EIA virus (EIAV) transmission occurring mechanically either because of man or blood-feeding vectors. The majority of horses infected with the EIA virus did not appear to demonstrate any of the clinical abnormalities listed above, as observed by Foil and Issel (4). EIA prevalence is higher in regions with long vector seasons. In the United States, EIAV infections are commonly observed in the states bordering the Gulf of Mexico, presumably because the semitropical environment favors a long season for blood-feeding vectors that mechanically transmit the EIA virus (4). The aim of this study was to evaluate in an endemic region the occurrence of EIA in a horse population that had no contact with men.

## ■ MATERIALS AND METHODS

The study was carried out on a 45,000 ha ranch with a herd of about 700 horses, of which 252 only were domesticated. All domesticated and 268 wild horses (268/448) were sampled. The horses were bled from the jugular vein using a vacuum system (Vacuum II, Labnew, Campinas, SP, Brazil). The diagnosis was

1. Laboratory of Animal Health, EMBRAPA/CNPISA, BR 153, Vila Tamandua, CEP: 89700-000, Concórdia, SC, Brazil

2. Department of Animal Science, EMBRAPA, Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal, rua 21 de Setembro, 1880, CEP 79320-900, Corumbá, MS, Brazil

3. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, CEUC/DAM, Av. Rio Branco 1270, Corumbá, MS, Brasil

4. Lab. of Molecular Biology of Trypanosomoses, DBBM, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, CEP: 21045-900, Av. Brasil 4365, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

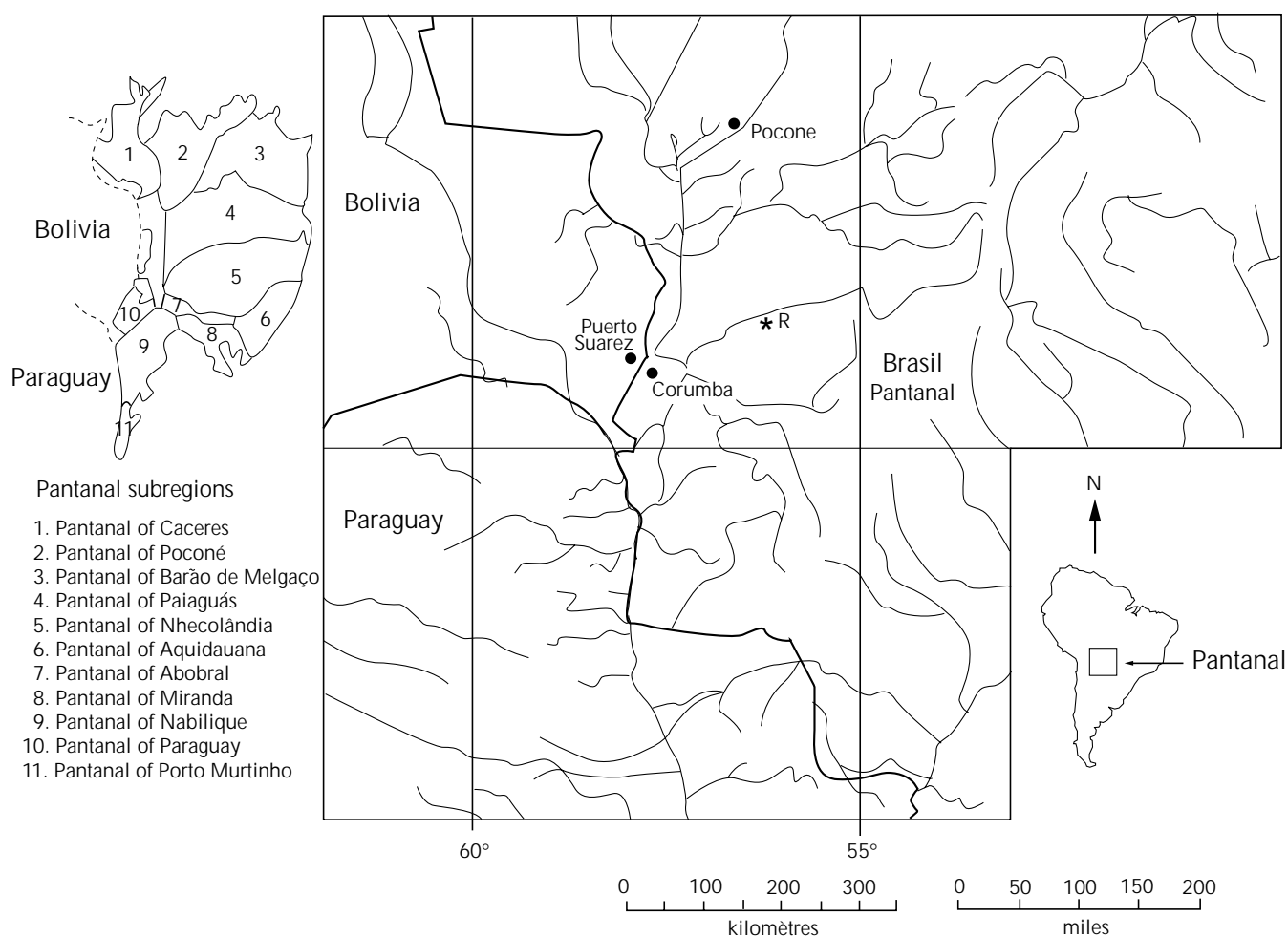


Figure 1: Study area. Location of the Pantanal, its subregions and the sampled ranch (R).

made using agar gel immunodiffusion test (D-Tec AIE, Pitman Moore, São Paulo, SP, Brazil). A binary analysis (0 or 1) indicating the occurrence or not of the disease in each animal was performed with the following factors: coat color, age, sex, and class.

## ■ RESULTS

In the ranch where the study on EIA in wild horses was carried out seropositivity rates in domesticated and wild horses were 34.1 and 5.6%, respectively. In domesticated males (in this farm only males were domesticated) the observed prevalence rate was 34.1%; The mean ages of seronegative and seropositive horses were 5.8 and 9 years old, respectively. In wild horses the observed prevalence rate was 5.7% in males and 5.3% in females; The mean ages of seronegative and seropositive horses were 1.7 and 3.2 years old, respectively. In wild horses no influence of sex or coat color was observed ( $P < 0.05$ ). There was a very significant difference ( $P < 0.001$ ) regarding the prevalence and age of seropositive wild horses compared to those of domesticated horses.

## ■ DISCUSSION

According to Issel *et al.*, although man has undoubtedly played an important role in EIAV transmission, the majority of today's EIA new cases in most developed countries are thought to result from the mechanical transfer of EIAV-infected blood to uninfected horses by hematophagous insects (5). According to Pearson and

Knowles, the larger percentage of EIA positive tests in the southern and eastern United States may be due to the prevalence of insect vectors in these regions (7). Tabanids (horseflies, deerflies, clegs) are large telmophagous insects that inflict painful bites and are strong fliers (3). They have been associated with the transmission of over 35 pathogenic agents (6). Barros identified 25 Tabanidae species belonging to 15 genera and three subfamilies in the Pantanal (1). The same author studying the ecology of tabanids in the region observed that the vector season occurs in the first half of the rainy season, from September/October to December/January. However, the tabanids still remain in high numbers until the end of the rainy season. This season could represent the period of major risk of EIA and other blood-transmitted diseases by these insects because they are in abundance and there is a population peak of species with high vector potential, notably *Tabanus importunus* (8).

## ■ CONCLUSION

There was a significant difference between EIA prevalence in wild and domesticated horses on the farm. The hypothesis formulated by the authors is that man played an important role in the EIA virus transmission to domesticated horses by injection (direct role) or by increasing the concentration (density) of domesticated horses, thus, furthering the transmission by arthropods. On the other hand, a lesser density associated with wild horses may explain the discrepancy in the results.

## Acknowledgments

We wish to thank Mrs. Idete Herman for the figure. This research project was supported by EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), project No. 06.094.623/02, and CECITEC (Conselho Estadual de Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul), project No. 50-10012-009-92.

## REFERENCES

1. BARROS A.T.M., 1992. Tabanidae (Diptera) do Pantanal: Espécies da região de Corumbá. In: Proc. Congresso Latino-Americano de Zoologia, Belém, Pará, Brazil, 1992. Belém, Pará, Brazil, Sociedade Brasileira de Zoologia/Universidade Federal do Pará/Museu Paraense Emilio Goeldi, p. 56.
2. BERGER J., 1986. Wild horses of the great Basin: Social competition and population size. Chicago, IL, USA, The University of Chicago Press, 335 p.

3. FOIL L.D., ADAMS W.W. JR., ISSEL C.J., PIERCE R., 1984. Tabanids (Diptera) populations associated with an equine infectious anemia outbreak in an apparently infected herd of horses. *J. med. Entomol.*, **21**: 28-30.
4. FOIL L.D., ISSEL C.J., 1991. Transmission of retroviruses by arthropods. *Annu. Ver. Entomol.*, **36**: 355-381.
5. ISSEL C.J., MACMANUS J.M., HAGIUS S.D., FOIL L.D., ADAMS W.V. JR., MONTELARO R.C., 1990. Equine infectious anemia: Prospects for Control. *Develop. biol. Stand.*, **72**: 49-57.
6. KRINSKY W., 1976. Animal disease agents transmitted by horseflies and deerflies (Diptera: Tabanidae). *J. med. Entomol.*, **13**: 225-275.
7. PEARSON J.E., KNOWLES R.C., 1984. Standardization of the equine infectious anemia immunodiffusion test and its application to the control of the disease in the United States. *J. Am. vet. Med. Assoc.*, **184**: 298-301.
8. SILVA R.A.M.S., BARROS A.T.M., HERRERA H.M., 1995. Trypanosomiasis outbreaks due to *Trypanosoma evansi* in the Pantanal, Brazil. A preliminary approach on risk factors. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **48**: 315-319.

Reçu le 19.2.99, accepté le 21.7.99

## Résumé

**Silva R.A.M.S., Abreu U.G.P., Dávila A.M.R., Ramirez L.** Anémie infectieuse équine chez des chevaux sauvages au Pantanal, Brésil

Le Pantanal est une grande étendue marécageuse, d'une superficie de 140 000 km<sup>2</sup> et situé au centre de l'Amérique du Sud. Au Pantanal, quelques très grandes propriétés (en général de plus de 40 000 ha) hébergent des populations de chevaux sauvages. Le but de cette étude a été d'évaluer la présence de l'anémie infectieuse équine (AIE) chez une population de chevaux sauvages dans une région d'enzootie de l'AIE. Dans cette étude, la séropositivité pour l'AIE a été de 5,6 p. 100 chez les chevaux sauvages, et de 34,1 p. 100 chez les chevaux domestiques appartenant tous à la même propriété. Les taux de prévalence observés chez les chevaux mâles sauvages ont été de 5,7 p. 100 contre 5,3 p. 100 chez les femelles sauvages. Le taux de prévalence observé chez les chevaux mâles domestiques a été de 34,1 p. 100. L'âge moyen des chevaux domestiques séropositifs a été de 9 ans, alors que celui des chevaux domestiques séronégatifs a été de 5,8 ans. L'âge moyen des chevaux sauvages séropositifs a été de 3,2 ans, mais celui des chevaux sauvages séronégatifs a été de 1,7 an. L'influence du sexe n'a pas été observée chez les animaux sauvages. Il y a eu une différence très significative ( $P < 0,001$ ) entre la prévalence de l'AIE chez les chevaux domestiques et chez les chevaux sauvages dans la propriété étudiée. Les auteurs émettent l'hypothèse que l'homme a été un acteur important dans la transmission du virus de l'AIE aux chevaux domestiques au Pantanal. Cependant, les insectes vecteurs ont probablement joué un rôle fondamental dans la transmission de l'AIE aux populations de chevaux sauvages dans cette région.

**Mots-clés :** Cheval - Animal sauvage - Anémie infectieuse du cheval - Pantanal - Brésil.

## Resumen

**Silva R.A.M.S., Abreu U.G.P., Dávila A.M.R., Ramirez L.** La fiebre del pantano en caballos salvajes en el Pantanal, Brasil

El Pantanal es una gran zona húmeda de 140 000 km<sup>2</sup>, localizada en el centro de Sur América. En Pantanal, algunos ranchos enormes (usualmente de más de 40 000 ha) tienen poblaciones de caballos salvajes. El objetivo de este estudio fue el de evaluar la incidencia de la anemia infecciosa equina (AIE) en una población de caballos salvajes, en una región endémica de AIE. En el presente estudio, la seropositividad para AIE fue 5,6% en los caballos salvajes y 34,1% en los caballos domésticos del mismo rancho. Las prevalencias observadas fueron de 5,7% en caballos salvajes y de 5,3% en yeguas salvajes. La prevalencia observada en machos domésticos fue de 34,1%. La edad media de los caballos domésticos seropositivos y seronegativos fue de 9 y 5,8 años respectivamente. La edad media de los caballos salvajes seropositivos y seronegativos fue de 3,2 y 1,7 años respectivamente. No se observó influencia del sexo en los animales salvajes. En la finca del estudio, se encontró una diferencia muy significativa ( $P < 0,001$ ) en la prevalencia de AIE entre caballos salvajes y domésticos. Los autores sugieren la hipótesis de que el hombre debe haber jugado un papel importante en la transmisión del virus de AIE a los caballos domésticos en Pantanal. Por otro lado, en las poblaciones salvajes los insectos vectores han jugado, probablemente, un papel fundamental en la transmisión en la región.

**Palabras clave:** Caballo - Animal salvaje - Anemia infecciosa equina - Pantanal - Brasil.



## Veterinary Microbiology

D.C. Hirsh, Y.C. Zee

□ Ce livre est dédié aux étudiants vétérinaires aussi bien qu'aux vétérinaires pour lesquels la microbiologie n'est pas le principal centre d'intérêt. Il est divisé en trois parties de tailles inégales.

La première est une introduction d'une soixantaine de pages qui présente de façon très synthétique les notions de base concernant le parasitisme et le pouvoir pathogène, la réponse immune aux agents infectieux, le diagnostic de laboratoire, la thérapeutique antimicrobienne, les stratégies d'emploi des agents antimicrobiens et les vaccins.

La deuxième, avec 240 pages, est la plus longue. Elle rassemble, selon la tradition anglo-saxonne, les bactéries et les champignons pathogènes. La présentation ne suit pas l'ordre de la classification mais regroupe, en 49 chapitres, les pathogènes en fonction de leur localisation préférentielle. Ainsi un chapitre décrit-il le tractus digestif en tant qu'écosystème microbien. Il est naturellement suivi de chapitres décrivant les entérobactéries, les anaérobies non sporulés, etc. Plus loin les chapitres décrivent les *Pasteurella*, *Actinobacillus*, etc., font suite à une description du système respiratoire comme écosystème microbien. Bien entendu, certains pathogènes ne peuvent pas rentrer dans un cadre aussi strict, par exemple *Bacillus anthracis*. Cet agent pathogène qui survit dans le sol sous forme sporulée peut donner, selon la voie d'inoculation, des lésions initiales cutanées, des localisations digestives ou bien des septicémies. Chaque chapitre est organisé selon un plan type qui comprend successivement une description de la bactérie (morphologie, anatomie cellulaire, produits sécrétés d'intérêt médical, caractères de croissance), des notions d'écologie bactérienne (réservoir, transmission et pouvoir pathogène), quelques points liés à

l'immunité, le diagnostic de laboratoire, le traitement et le contrôle, et enfin des références bibliographiques.

Une troisième partie de 150 pages regroupe la description des agents pathogènes viraux. Les deux premiers chapitres sont dédiés aux propriétés générales des virus et à leur pouvoir pathogène. Ces deux chapitres sont très concis et permettent, notamment, de comprendre aisément les bases de la classification ainsi que le mode de répliation des virus appartenant aux différentes familles. Les chapitres suivants sont des monographies qui respectent l'ordre de la classification. Certains chapitres sont très courts, trois pages pour les Iridoviridae, d'autres peuvent atteindre 15 voire 20 pages pour les herpesvirus ou les rétrovirus. Enfin un court chapitre est consacré aux encéphalites spongiformes transmissibles. Chaque chapitre comprend une description de la maladie, une description de l'agent viral associé (propriétés physiques, chimiques et antigéniques, résistance aux agents physiques et chimiques, infectivité pour d'autres espèces ou systèmes cellulaires), des notions sur les relations entre l'hôte et le virus (répartition, réservoir et transmission, pouvoir pathogène), la réponse de l'hôte, le diagnostic de laboratoire, le traitement et le contrôle, et enfin des références bibliographiques.

L'ensemble de l'ouvrage se présente en fait comme une suite de notes relativement courtes qui permettront de retrouver les éléments marquants des principaux agents pathogènes intéressants les vétérinaires. La présentation est très sobre avec des illustrations uniquement en noir et blanc, ce qui nuit certainement à l'ouvrage et le rend un peu austère. Chaque chapitre est suivi d'une liste de références bibliographiques. Les auteurs ont volontairement favorisé des références récentes qui sont des revues générales et permettront aux lecteurs d'approfondir leurs recherches.

Bien entendu, l'ampleur du sujet abordé ne permet pas d'obtenir une description complète pour chaque agent pathogène. En particulier, l'ouvrage ne traite pas en détail la pathologie tropicale, ce n'était pas l'objectif des auteurs qui enseignent à l'Université de Californie à Davis, États-Unis. Il ne s'agit pas non plus d'un manuel pratique. Les lecteurs qui s'intéressent au diagnostic devront se reporter à d'autres ouvrages pour obtenir des renseignements plus précis. En ce qui concerne la bactériologie et la

mycologie on peut citer un ouvrage qui fait référence aussi bien pour la clarté de ses exposés que pour la richesse de ses illustrations en couleurs : *Clinical Veterinary Microbiology* de P.J. Quinn, M.E. Carter, B. Markey et G.R. Carter.

Il manque peut-être à cet ouvrage un ou deux chapitres introductifs présentant les bactéries pathogènes d'intérêt vétérinaire au sein de l'ensemble du monde bactérien, les avancées de la classification bactérienne liées aux comparaisons de séquence ADN et au bouleversement prévisible qui en découle pour le diagnostic avec les technologies d'amplification génique. Ces chapitres auraient pu permettre aux étudiants de faire le lien entre la description classique des agents pathogènes et leur identification avec les nouvelles méthodes auxquelles ils risquent d'être confrontés dans un avenir très proche.

Il semble utile de signaler également que des recherches de références peuvent se faire maintenant très facilement et gratuitement par l'intermédiaire de serveurs sur Internet comme celui du NCBI :

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/medline.html>

Avec un peu de pratique il est possible de formuler les interrogations de façon pertinente et de sélectionner les références afin de ne pas être submergé par le nombre. Cela permet de consulter les résumés et de ne commander que les articles les plus intéressants car ce qui fait actuellement la qualité d'une liste de références bibliographiques ce n'est pas le nombre mais la pertinence des articles cités.

En conclusion, *Veterinary Microbiology* est un ouvrage qui pourra être utile à tous ceux qui souhaitent obtenir, dans un même volume, une présentation rapide des pathogènes vétérinaires. Cette présentation favorise le passage d'un chapitre à un autre et des comparaisons rapides. Cependant, tous les lecteurs qui souhaitent des renseignements plus précis devront se reporter à d'autres ouvrages plus spécialisés.

François THIAUCOURT  
Cirad-emvt

Hirsh D.C., Zee Y.C., 1999. *Veterinary Microbiology*, 480 p. Blackwell Science Ltd., Osney Mead, Oxford OX2 0EL, UK.  
Tel.: +44 (0)1865 206 206;  
Fax: +44 (0)1865 721 205 - ISBN: 0-86542-543-4

# The anthelmintic efficacy of some indigenous plants in the Northwest province of Cameroon

A. Nfi<sup>1</sup> C. Ndi<sup>2</sup> P.H. Bayemi<sup>2</sup>  
R. Njwe<sup>3</sup> J. Tchoumboue<sup>4</sup> H. Njakoi<sup>3</sup>  
N. Mopoi<sup>5</sup> M. Njakoi<sup>3</sup> Sali-Django<sup>2</sup>

## Key words

Cattle - Calf - *Terminalia glaucescens* - *Vernonia amygladina* - *Solanum aculeastrum* - *Khaya anthotheca* - Anthelmintics - Efficiency - Cameroon.

## Summary

Experiments were conducted in nine groups of eight calves to determine the anthelmintic efficacy of four indigenous plants; namely, *Terminalia glaucescens*, *Vernonia amygladina*, *Solanum aculeastrum*, and *Khaya anthotheca*. Calf fecal samples were collected at days 0, 7, 14, 21, 28, 35, and 42 for fecal egg counts by the McMaster slide technique. Results showed that *Solanum aculeastrum*, *Khaya anthotheca* and *Vernonia amygladina* were efficacious with fecal egg count reductions of 34.4, 55.8, and 52.4%, respectively, at full doses at day 21 posttreatment.

## INTRODUCTION

Cattle production in the Northwest province of Cameroon is carried out mainly by Fulani herders who have evolved from a nomadic to a semi-nomadic or transhumant cattle production system. In order to cope with the cattle disease situation the Fulani herders have adopted strategies or selected management practices, often designed to protect animal health.

The Fulani herders are deeply involved in ethnoveterinary practices, which were introduced in Cameroon at the end of the last century by nomadic Fulani pastoralists, from neighboring Nigeria and Chad, in search of new pastures (10). The high cost and scarcity of commercial veterinary drugs in Cameroon as in many other developing countries (4, 6) have aroused an interest in traditional veterinary remedies as alternatives to expensive commercial drugs. Another reason could be the unpredictable value of commercial anthelmintics sold in some parts of Africa (8) and the fact that anthelmintic plants are sustainable and environmentally acceptable (2).

Herders are generally very knowledgeable about a lot of plants for the most common diseases and ailments affecting their livestock,

like gastrointestinal parasitism in cattle. Even though Fulani pastoralists have used ethnoveterinary remedies for a very long time and they strongly believe in their efficacy, there is hardly any scientific evidence to confirm such allegation. Hence, studies have been carried out not only to scientifically determine their efficacy (3, 5, 9) and their toxicity, but also to standardize the dosage (10).

This work was conducted to determine the anthelmintic properties of four indigenous plants that were commonly used by the cattle farmers of the province. The efficacy of each plant preparation was compared to that of a commonly used orthodox injectable anthelmintic: levaject 100 (levamisole). The plants studied were:

Bawshihi (*Terminalia glaucescens*)  
Suwaaka (*Vernonia amygladina*)  
Gitte-nai (*Solanum aculeastrum*)  
Kahi (*Khaya anthotheca*)

## MATERIALS AND METHODS

### Plant materials

#### Preparation of herbal medicines

##### Decoction

The plant parts were boiled in water for 15-20 min from the time the water started boiling. Ideally, plant materials were decocted twice in order to extract their active ingredients thoroughly. This was filtered after allowing to cool down.

1. IRAD Mankon, PO Box 125, Mankon, Cameroon  
2. IRAD Bambui, PO Box 51, Bamenda, Cameroon  
3. HPI, PO Box 467, Bamenda, Cameroon  
4. Dschang University, Department of Science, Cameroon  
5. Plan International, BP 25236, Yaounde, Cameroon

### ■ Infusion

Hot or cold water was poured into the fresh or dry plant material and allowed to stand. The preparation was covered tightly to prevent losing important ingredients. The length of time needed to prepare an infusion depended on the type of plant material and whether the water was hot or cold. In general, a hot infusion was allowed to stand for 5-15 min while a cold infusion might require up to 24 h. The preparation was filtered before administering to the infected animal.

### Preparation of experimental plants

#### ■ *Terminalia glaucescens* (Bawshihi)

For the treatment of one calf, 200 g of the freshly harvested and washed bark of Bawshihi was added to 10 g of burnt and powdered limestone and boiled for 30 min in 1.5 l of water until the liquid turned dark brown. The resultant decoction was allowed to cool, was then sieved and ready for use as an anthelmintic drench. Two dosages—0.25 l (half dose) and 0.5 l (full dose)—were administered per calf for each treatment group. The calves were drenched once every morning for three consecutive days.

#### ■ *Vernonia amygladina* (Suwaaka)

For the treatment of one calf 140 g of freshly harvested and washed leaves of Suwaaka were macerated and soaked in 1 l of cool water. This infusion was then filtered through a sieve. Ten grams of burnt and powdered limestone were added to the infusion and used as a drench. Two dosages of 0.25 l and 0.5 l per calf were administered in the treatment groups only once as half and full doses, respectively.

#### ■ *Solanum aculeastrum* (Gitte-nai)

For each calf 340 g of fresh roots of Gitte-nai were harvested, washed and boiled for one hour with 10 g of limestone in 1.5 l of water. The resultant decoction was cooled and the filtrate used as an anthelmintic drench. Two dosages—0.25 l (half dose) and 0.5 l (full dose)—were administered per calf for the respective treatment groups for two consecutive days.

#### ■ *Khaya anthotheca* (Kahi)

For each calf 340 g of the freshly harvested and washed bark of Kahi were boiled with 4 g of limestone in one liter of water. The resultant concoction was cooled and filtered through a sieve and the filtrate used as a drench. Two dosages—0.25 l (half dose) and 0.5 l (full dose)—were administered per calf for each treatment group once every morning for two consecutive days.

### Levaject 100

This drug produced by Farvet Bladel, Holland, was administered intramuscularly at a dose of 1 ml/20 kg (7.5 mg/per kg) live weight.

All calves under treatment were weighed on the day of treatment (D0) and were deprived of water for half a day after treatment to avoid further dilution of the drug used.

### Experimental animals

Three Fulani settlements served as experimental sites: Sabga, Jakiri, and Fundong. Anthelmintic studies were carried out on 72 young Gudali cattle aged between 3 and 12 months, and weighing between 55 and 150 kg. Eight calves were used for each of the nine treatments. They had grazed all along on natural pasture with predominantly *Sporobolus africanus* grass. Traditionally they were supplemented with salt on a monthly basis. At the onset of the experiment they had not been dewormed for eight months. They

were all screened initially for fecal eggs by the McMaster slide technique. After the first screening those with worm egg counts above 100 were selected for the trial. Each of the selected animals was identified by its Fulani name and an ear tag. At D0 the calves were weighed, the first fecal samples were collected, then the animals were treated. After treatment, the calves were weighed and fecal samples collected at days 7, 14, 21, 28, 35, and 42. Weighing was done using the heart girth method. The fecal samples collected in the field were carried into small portable coolers in individually labeled plastic bags for each calf. Fecal egg counts were performed according to the McMaster slide technique. Larval cultures were done on pooled feces at days 0, 21, 35, and 42 for identification of prevalent helminths.

### Statistical analysis

The data collected was analyzed according to Cavier's method (1). Thus the percentage in fecal egg count reduction (FECR) was calculated using the formula  $[(N-n)/N] \times 100$ ; where

N = average number of worm eggs at D0

n = average number of worm eggs at D21

The FECR percentage was calculated at D21 after treatment, as well as at other dates, to assess the anthelmintic effect of the plants (table I).

### ■ RESULTS

Fecal larval cultures at days 0, 21, and 35 indicated the presence of the following helminths: *Haemonchus* sp., *Trichostrongylus* sp., *Strongyloides papillosus*, *Bunostomum* sp., *Oesophagostomum* sp., and *Cooperia* sp.

#### *Terminalia glaucescens* (Bawshihi)

At D21 and at half dose, Bawshihi has shown no anthelmintic effect. However at full dose, it has demonstrated a fecal egg count reduction of 48.4%. There was thereafter an apparent increase in the fecal egg count in most of the treated groups, suggesting there was reinfestation since the calves were not kept indoors. Statistically there was a significant difference ( $P < 0.05$ ) between the fecal egg counts in the two treatment groups. The results on the efficacy of this plant were different from those obtained with *Terminalia avicennoides*, which was found quite efficacious. (3).

#### *Vernonia amygladina* (Suwaaka)

Suwaaka has demonstrated anthelmintic efficacy for both dosages. Unlike Bawshihi there was a fluctuation in the FECR percentages during the observation period. At D21 and at full dose Suwaaka had a 52.4% FECR, compared to 49.6% at half dose. Suwaaka is highly recommended as an anthelmintic for use by farmers at a 0.5 l dose. There was a significant difference ( $P < 0.05$ ) between the fecal egg counts of both treatment groups.

#### *Solanum aculeastrum* (Gitte-nai)

Like Suwaaka both doses of Gitte-nai have demonstrated anthelmintic efficacy with a fluctuation in FECR percentages at days 7, 14, 28 posttreatment. Gitte-nai had 36.2 and 34.4% FECRs at half and full doses, respectively, at D21. There was no significant difference ( $P > 0.05$ ) in the fecal egg counts in both treatment groups. Gitte-nai at full dose seemed to have been very effective against digestive tract strongyles. FECR results obtained for this plant confirm those obtained in earlier work (7). A Gitte-nai treatment at full dose for two consecutive days could be recommended as an anthelmintic to farmers, while awaiting further evaluation with a controlled necropsy trial.

**Table I**  
Effects of various plants on fecal egg count reductions

Plants		Day 0	Day 7	Day 14	Day 21	Day 28	Day 35	Day 42
<i>Terminalia glaucescens</i>	A	6200	2500	4300	3200	8200	7800	9400
	%	-	59.7	30	48.4	0	0	0
	B	3000	3000	6900	6200	8300	8400	3500
	%	-	0	0	0	0	0	0
<i>Vernonia amygladina</i>	A	8200	6100	4000	3900	6400	1500	3600
	%	-	25.6	51.2	52.4	22	81.7	56.1
	B	13,700	7300	9500	6900	4500	7900	8500
	%	-	46.7	30.7	19.6	67.2	42.3	38
<i>Solanum aculeastrum</i>	A	42,700	38,800	33,500	28,000	36,400	2500	13,500
	%	-	9.1	21.6	34.4	14.8	94.2	68.4
	B	9400	4900	5000	6000	2100	4350	5600
	%	-	47.9	46.8	36.2	77.7	53.7	40.4
<i>Khaya anthotheca</i>	A	7700	2900	1500	3400	2900	4100	3900
	%	-	62.3	80.5	55.8	62.3	46.8	49.0
	B	2400	1600	2700	2000	3100	2300	3000
	%	-	33.3	0	16.7	29.3	4.2	0
Levamisole	C	5200	100	200	400	400	1400	0
	%	-	98.1	96.2	92.3	92.3	73.1	100
	D	5500	800	500	500	700	3600	2000
	%	-	85.5	90.9	90.9	87.3	34.5	63.6

A = full dose; B = half dose; C = Fundong; D = Jakiri; % = percentages in fecal egg count reductions

### **Khaya anthotheca (Kahi)**

At half dose Kahi was effective as an anthelmintic for one week only; there was thereafter a fluctuation in the level of fecal egg counts. At full dose, it appears as a potent anthelmintic with a low residual effect as there was reinfestation at D21 posttreatment. With a fecal egg count reduction of 55.8% at D21, Kahi at a full dose of 0.51 on two consecutive days is considered efficacious. The initial 62.3% drop in the fecal egg count clearly testifies to the potency of Kahi as an anthelmintic. There was a significant difference ( $P < 0.05$ ) between the fecal egg counts of both groups. The half-dose treatment results of Kahi confirm those obtained by other authors, i.e., 21% FECR at a dose of 5 g/kg live weight (3).

### **Levamisole**

Using the recommended dose and administration method, levamisole was clearly the most efficacious anthelmintic when compared to the four indigenous anthelmintics. FECRs were 89.7 and 93.3% in Jakiri and Fundong, respectively.

## ■ DISCUSSION

In the present investigation covering the Fulani settlements of Jakiri, Sabga, and Fundong it can be suggested that some medicinal plants could serve as reliable therapeutic agents against helminthosis in traditional veterinary medicine practices. Some of these plants grow singly in the wild, making the task of locating them very tedious at times. Based on fecal egg counts, some of the plants can be recommended for use by farmers as anthelmintics while others require further investigation before a categorical

statement can be made about their anthelmintic efficacy (table I). The ineffectiveness of some of these plants and of some of the dosages could be attributed to a persistent reinfestation as pastures were highly contaminated with helminth eggs.

There is a need to research into the activity spectrum of these plants on various species of worms. This work was meant to be a screening trial. Thus, to confirm these preliminary results another test with necropsy procedures must be carried out.

### **Acknowledgments**

This project was sponsored by the African Development Foundation (ADF). We appreciate the contributions of the leaders of cattle farmer groups of Jakiri, Sabga, and Fundong. We thank Heifer Project International (HPI), Cameroon, for their cooperation.

### **REFERENCES**

1. CAVIER R., 1973. Chemotherapy of intestinal nematodes. In: Chemotherapy of helminthiasis, Vol. 1. Oxford, UK, Pergamon Press Oxford, p. 215-436.
2. HAMMOND J.A., FIELDING D., BISHOP S.C., 1997. Prospect for plants anthelmintics in tropical veterinary medicine. *Vet. Res. Commun.*, 21: 123-128.
3. IBRAHIM M.A., NWUDE N., OGUNSUSI R.A., ALIU Y.O., 1983. Screening of West African plants for anthelmintic activity. In: 5th International Symposium on Medicinal Plants, University of Ife, Ile-Ife, Nigeria, 13-15 July 1983.



*Anthelmintic efficacy of some plants in Cameroon*

4. MATHIAS-MUNDY E., MCCORKLE C.M., 1989. Ethnoveterinary medicine. An annotated bibliography. Ames, IA, USA, Iowa State University. (Bibliographies in technology and social change No. 6)
5. MATHIAS-MUNDY E., MCCORKLE C.M., 1989. Ethnoveterinary medicine. *CIKARD News*, 2: 1-2.
6. MATHIAS-MUNDY E., MURDIATI T.B., eds, 1990. Traditional veterinary medicine for small ruminants in Java. In: Proc. Workshop held at the Central Research Institute for Animal Science, Bogor, Indonesia, 22 May 1990.
7. MKANGARE M.J.M., 1989. In: Proc. Seventh Tanzanian Veterinary Association Scientific Conference. *Tanzanian Vet. Assoc.*, 7: 67-78.
8. MONTEIRO A.M., WANYANGU S.W., KARIUKI D.P., BAIN R., JACKSON F., MCKELLAR Q.A., 1998. Pharmaceutical quality of anthelmintics sold in Kenya. *Vet. Rec.*, 142: 396-398.
9. NFI A., MBANYA J.N., KAMENI A., VABI M., PINGPOH D., YONKEU S., MOUSSA C., 1997. Ethnoveterinary medicine practice in the North and Extreme North provinces of Cameroon. *Sci. Tech. Rev. Ser. Agron. Zootech.*, 4: 27-29.
10. NWUDE N., IBRAHIM A., 1980. Plants used in traditional veterinary medical practice in Nigeria. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, 3: 261-273.

Reçu le 9.9.98, accepté le 23.7.99

### Résumé

Nfi A., Ndi C., Bayemi P.H., Njwe R., Tchoumboue J., Njakoi H., Mopoi N., Njakoi M., Sali-Django. L'efficacité anthelminthique de quelques plantes indigènes dans la province du Nord-Ouest au Cameroun

Des expériences ont été faites sur neuf groupes de huit veaux pour déterminer l'efficacité anthelminthique de quatre plantes indigènes : *Terminalia glaucescens*, *Vernonia amygladina*, *Solanum aculeastrum* et *Khaya anthotheca*. Des échantillons de fèces de veau ont été récoltés aux jours 0, 7, 14, 21, 28, 35 et 42 pour effectuer la numération des œufs par la technique sur lame de McMaster. Les résultats ont montré que *Solanum aculeastrum*, *Khaya anthotheca* and *Vernonia amygladina* étaient efficaces avec des réductions de l'excrétion des œufs respectivement de 34,4, 55,8, et 52,4 p. 100 à doses complètes, 21 jours après le traitement.

**Mots-clés :** Bovin - Veau - *Terminalia glaucescens* - *Vernonia amygladina* - *Solanum aculeastrum* - *Khaya anthotheca* - Anthelminthique - Efficacité - Cameroun.

### Resumen

Nfi A., Ndi C., Bayemi P.H., Njwe R., Tchoumboue J., Njakoi H., Mopoi N., Njakoi M., Sali-Django. Eficiencia antihelmíntica de algunas plantas autóctonas en la provincia del Noroeste de Camerún

Se llevaron a cabo experimentos en nueve grupos de ocho terneros, con el fin de determinar la eficiencia antihelmíntica de cuatro plantas autóctonas, llamadas *Terminalia glaucescens*, *Vernonia amygladina*, *Solanum aculeastrum* y *Khaya anthotheca*. Se recolectaron muestras fecales de los terneros al día 0, 7, 14, 21, 28, 35 y 42, para conteos de huevos en heces mediante la técnica de lámina McMaster. Los resultados muestran la eficiencia de *Solanum aculeastrum*, *Khaya anthotheca* y *Vernonia amygladina*, con reducciones en los conteos de huevos en heces de 34,4, 55,8 y 52,4% respectivamente, a dosis completas, al día 21 post tratamiento.

**Palabras clave:** Ganado bovino - Ternero - *Terminalia glaucescens* - *Vernonia amygladina* - *Solanum aculeastrum* - *Khaya anthotheca* - Antihelmíntico - Eficacia - Camerún.

# Preliminary study of the helminths of the chicken digestive tract in Somalia

C. Terregino<sup>1</sup> E. Catelli<sup>1\*</sup> G. Poglayen<sup>2</sup>  
A. Tonelli<sup>3</sup> O.I. Gadale<sup>1</sup>

## Key words

Poultry - Chicken - Helminth - Digestive tract - Free-range husbandry - Intensive husbandry - Nematoda - Cestoda - Acanthocephala - Somalia.

## Summary

An epidemiological survey was carried out on helminths in the digestive tract of chickens (*Gallus gallus domesticus*) in Somalia. One hundred and forty chickens of a local breed and originating from two different types of rearing systems were used: 125 had been free-range chickens taken to a slaughterhouse in Mogadishu, 15 were obtained from an intensive rearing farm. Of the 140 chickens examined 110 were infected (79%): 104 were from free-range flocks and 6 from the intensive-rearing farm. Therefore, 83% of the chickens of the first group and 40% of the second were infected. Differences in prevalence of endoparasites in both management systems were statistically significant ( $p < 0.01$ ). The identified parasite species were: *Ascaridia galli*, *Subulura suctorica*, *Raillietina (Raillietina) tetragona*, *Raillietina (Raillietina) echinobothrida*, *Raillietina (Skrjabinia) cesticillus*, *Raillietina (Paroniella) sp.*, *Raillietina (Raillietina) sp.*, *Raillietina sp.*, *Cotugnia sp.* and *Mediorhynchus gallinarum*. No trematodes were found. The parasites presented various associations.

## INTRODUCTION

Livestock breeding is traditionally the main economic resource in Somalia, and poultry production has been increasing from 1993 until now. In 1997, Somalia had 3,000,000 chickens for meat production and 1,200,000 egg laying hens (11). Large and small intensive modern poultry farms were established, but rural and family ones remained the most widespread type.

Parasitic infections are common in intertropical areas, where husbandry standards are poor and climatic conditions are propitious to parasite development. It is therefore necessary to investigate the most common chicken parasites in this country in order to establish poultry-breeding requirements regarding prophylactic and therapeutic measures. Surveys dealing with chicken helminths have already been carried out in other African

countries (1, 8, 10, 12-15, 17, 21, 28, 29), but never in Somalia. The present preliminary research on helminths in chicken digestive tracts is intended to increase the knowledge of the etiology and epidemiology of poultry diseases in this country.

## MATERIALS AND METHODS

### Survey area

The investigation was carried out on animals coming from the Mogadishu province of Somalia. This region has a hot, humid climate with average annual temperatures of 27°C and a relative humidity of 73%.

### Study animals

In the study, 140 chickens (*Gallus gallus domesticus*) of a local breed from two different types of rearing systems were used. They comprised: 1) 125 free-range chickens obtained from a slaughterhouse in Mogadishu. They had been raised in small family-type farms using rudimentary equipment and sheds without permanent litter. They were slaughtered at various ages depending on the farmer's needs and the market, the range was however between three months and one year; 2) 15 chickens from an intensive-rearing farm. In this type of farm birds are kept in naturally-ventilated poultry houses containing suspended drinkers and feeders and shaving litter is changed each cycle, and they are slaughtered at approximately three months of age.

1. Department of Veterinary Public Health and Animal Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Bologna University, via Tolara di Sopra 50, 40064 Ozzano Emilia (BO), Italy

2. Institute of Infectious Diseases, Prophylaxis and Veterinary Policing, Faculty of Veterinary Medicine, Messina University, via S. Cecilia 30, 98123 Messina, Italy

3. Veterinary Practitioner, Bologna, Italy

\* Corresponding Author: Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bologna, via Tolara di Sopra 50, 40064 Ozzano Emilia (BO), Italia

Tel: +39 (0)51 79 20 80; Fax: +39 (0)51 79 20 82

E-mail: Catelli@vet.unibo.it

### Sample collection and examination procedure

The samples were collected over a period of one year. The digestive tracts were examined for helminths. First, the viscera were separated from the mesentery, then the esophagus, ingluvies included, the proventriculus, ventriculus, *intestinum tenue* and *intestinum crassum* with caeca and rectum were opened to examine the lumen.

The alimentary tracts were cut into segments and placed in tap water to make parasite removal easier. The gut mucosae were scraped and washed gently in petri dishes and their content was examined for worms with a binocular dissecting microscope. The collected parasites were stored in 70° ethyl alcohol containing 5% glycerine.

A sample of 53 positive specimens was utilized for parasite identification (47 from rural farms and 6 from the intensive farm). Soulsby's (27) lactophenol clarification technique and Euzéby's (9), Kasimov's (18) and Barus's (3, 4) keys were used for nematode species identification. Acanthocephalans were mounted using the same technique as that used for nematodes, and identification was made according to Schmidt and Kuntz (25). The cestodes were stained using carmine dye. Schmidt's (24), Reid's (22) and Kasimov's (18) keys were used for identification of these parasites.

Epidemiological indexes such as prevalence, mean intensity and mean abundance were calculated according to Bush *et al.* (5). Comparative statements concerning infection rates were based on statistical analysis using Fisher's exact test (26).

### RESULTS

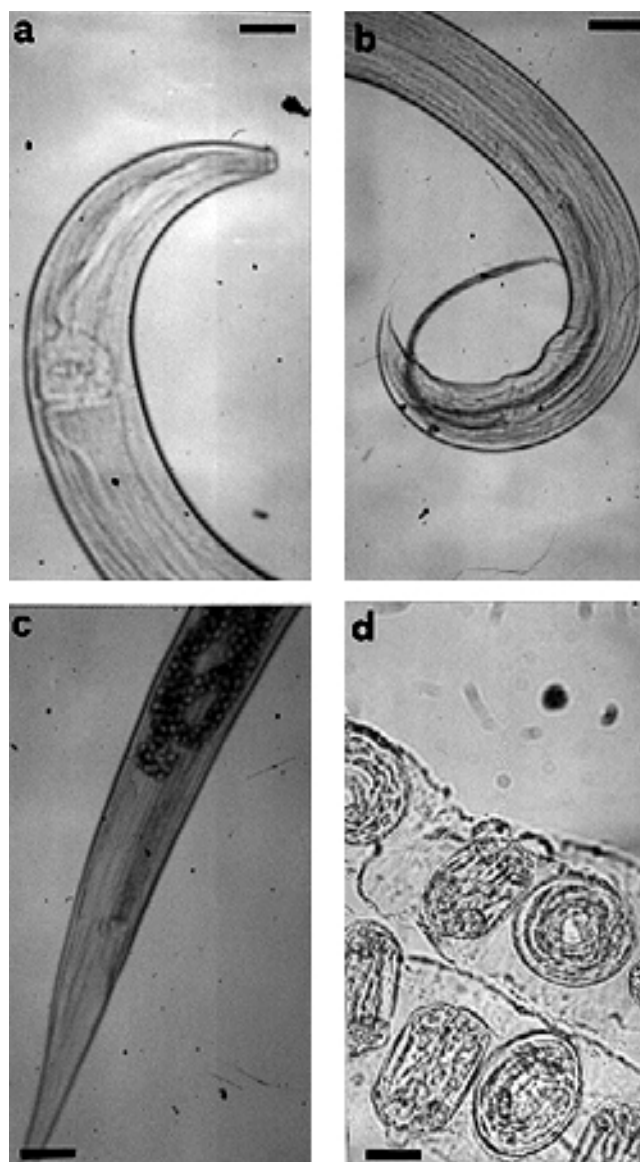
Of the 140 chickens examined for worms, 110 were infected (79%). The parasites were found in the *intestina* (*tenue* and *crassum*) and in the caeca contents. Of the infected specimens 104 were from free-range flocks and the remaining 6 from the intensive rearing farm. Therefore, 83% of the chickens in the first group and 40% of those in the second group were infected. The differences in the observed prevalence values were statistically significant ( $p < 0.01$ ). No helminths were found in the esophagus, ingluvies, roventriculus and ventriculus.

In 47 specimens coming from the free-range chickens, it was possible to calculate the prevalence, mean abundance and mean intensity for each worm species (table I). The helminth species identified consisted in two nematodes, *Ascaridia galli* and *Subulura suctorica* (figure 1), eight cestodes, *Raillietina* (*Raillietina*) *tetragona* (figure 2), *Raillietina* (*Raillietina*) *echinobothrida* (figure 3), *Raillietina* (*Skrjabinia*) *cesticillus*, *Raillietina* (*Paroniella*) sp. (figure 4), *Raillietina* (*Raillietina*) sp., *Raillietina* sp., *Cotugnia* sp. (figure 5), Hymenolepididae. The only acanthocephalan species recorded was *Mediorhynchus gallinarum* (figure 6). No trematodes were found.

Only one nematode species, *Subulura suctorica*, was found in the intensively-reared chickens. Due to the poor state of preservation and lack of scolices further classification of the parasites identified as Hymenolepididae was impossible. Parasitic associations of the samples examined showed that 27 chickens (57%) had a single infection, 13 (28%) a double infection, 6 (13%) a triple infection and 1 (2%) was infected with four different species (table II).

### DISCUSSION

The present preliminary survey regarding helminth parasites of the chicken showed a high parasitic prevalence in rural poultry rearing as compared with modern intensive poultry rearing, and this difference was statistically significant. This is most likely due to



**Figure 1:** *Subulura suctorica*; (a) anterior portion of body, (b) male posterior end, (c) posterior portion of female body with eggs in the uterus (bar = 150  $\mu$ ); (d) particular of the eggs (bar = 25  $\mu$ ).

differences in hygienic and sanitary conditions and, consequently, to differences in the eventual completion of the helminth life cycle in the above-mentioned rearing systems. Free-range chickens are usually subjected to few hygienic practices (for instance prophylactic treatments and disinfection) and they are free to scratch about and to swallow small invertebrates that can allow transmission of parasites with diheteroxenous cycles. In fact, only one nematode species (*Subulura suctorica*), which has a direct cycle, was found in the intensive rearing system.

In Somalia, *Subulura suctorica*, *Raillietina* sp., *Mediorhynchus gallinarum* have been previously reported by Cancrini *et al.* (6), and *Raillietina* (*Raillietina*) *solensis* and *Cotugnia shohoi* in the vulture guinea fowl (*Acryllium vulturinum*) by Sawada (23).

Among the worms found there were species whose presence is widespread in Africa as reported in previous studies done in various African countries on fowl parasites. Among them *Ascaridia galli* and cestodes such as *Raillietina* (*Raillietina*)

Table I

Parasites found in the examined specimens of 47 free-range chickens

	Parasite	Num.	P (%)	Mi*	Ma**
Nematodes	<i>Ascaridia galli</i>	12	26	7	1.7
	<i>Subulura suctorica</i>	21	45	20	9
Cestodes	<i>Raillietina (Raillietina) tetragona</i>	7	15	11	1.9
	<i>Raillietina (R.) echinobothrida</i>	4	8.5	4	0.3
	<i>Raillietina (S.) cesticillus</i>	1	2	1	0.02
	<i>Raillietina (Paroniella) sp.</i>	14	25.5	11	3.5
	<i>Raillietina (R.) sp.</i>	1	2	6	0.1
	<i>Raillietina sp.</i>	4	8.5	4	0.3
	<i>Cotugnia sp.</i>	1	2	2	0.04
	Hymenolepididae	4	8.5	n.d.	n.d.
Acanthocephalan	<i>Mediorhynchus gallinarum</i>	5	10.5	11	1

P: parasite prevalence; Mi: mean intensity; Ma: mean abundance

\*  $\frac{\text{Total number of parasites of a particular species found in a host sample}}{\text{Number of hosts infected with that parasite}}$ \*\*  $\frac{\text{Total number of parasites of a particular species found in a host sample}}{\text{Number of hosts examined (including both infected and uninfected ones)}}$ 

n.d. = not done

Table II

Parasite associations

<b>Single infection (27) *</b> 57.5 % **	<i>Ascaridia galli</i> (5) <i>Subulura suctorica</i> (9) <i>Raillietina (Raillietina) tetragona</i> (3) <i>Raillietina (R.) echinobothrida</i> (2) <i>Raillietina sp.</i> (1) <i>Raillietina (Paroniella) sp.</i> (5) <i>Cotugnia sp.</i> (1) Hymenolepididae (1)
<b>Double infection (13)</b> 27.5%	<i>A. galli</i> and <i>Raillietina (Paroniella) sp.</i> (1) <i>A. galli</i> and <i>Subulura suctorica</i> (3) <i>S. suctorica</i> and <i>Raillietina (R.) tetragona</i> (1) <i>S. suctorica</i> and <i>Raillietina sp.</i> (1) <i>S. suctorica</i> and Hymenolepididae (1) <i>S. suctorica</i> and <i>Raillietina (R.) echinobothrida</i> (2) <i>S. suctorica</i> and <i>Raillietina (Paroniella) sp.</i> (1) <i>Raillietina (R.) tetragona</i> and <i>Mediorhynchus gallinarum</i> (1) <i>Raillietina (S.) cesticillus</i> and <i>Raillietina (Paroniella) sp.</i> (1) <i>Raillietina sp.</i> and <i>Raillietina (Paroniella) sp.</i> (1)
<b>Triple infection (6)</b> 13%	<i>A. galli</i> , <i>Raillietina (R.) tetragona</i> and <i>M. gallinarum</i> (1) <i>A. galli</i> , <i>Raillietina (R.) tetragona</i> and Hymenolepididae (1) <i>S. suctorica</i> , <i>Raillietina (Paroniella) sp.</i> and <i>M. gallinarum</i> (1) <i>S. suctorica</i> , <i>Raillietina sp.</i> and <i>Raillietina (Paroniella) sp.</i> (1) <i>Raillietina (R.) tetragona</i> , <i>Raillietina (Paroniella) sp.</i> and <i>M. gallinarum</i> (1) <i>Raillietina (R.) sp.</i> , <i>Raillietina (Paroniella) sp.</i> and Hymenolepididae (1)
<b>Quadruple infection (1)</b> 2%	<i>A. galli</i> , <i>S. suctorica</i> , <i>Raillietina (Paroniella) sp.</i> and <i>M. gallinarum</i> (1)

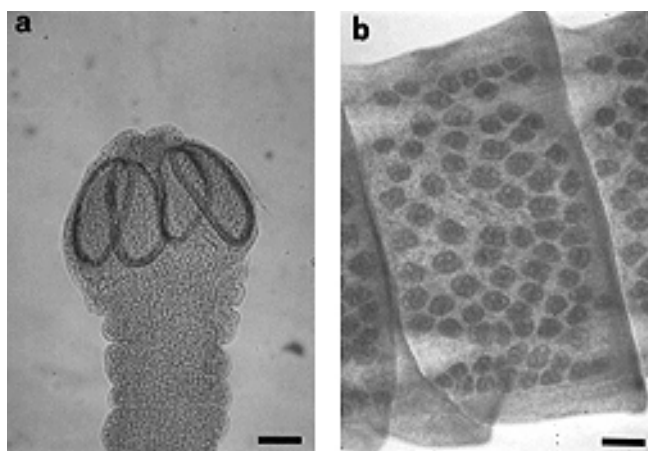
\* Number of hosts having each type of association; \*\* Percentage of hosts having each type of association

*tetragona*, *Raillietina (Raillietina) echinobothrida*, *Raillietina (Skrjabinia) cesticillus* were also present in Ghana (13, 14, 15), Nigeria (10, 12, 29), Tanzania (21), Sudan (7, 8), Zimbabwe (17), Ethiopia (1) and Cameroon (19). On the other hand, *Subulura suctorica* has only been found in Nigeria (10), and a species

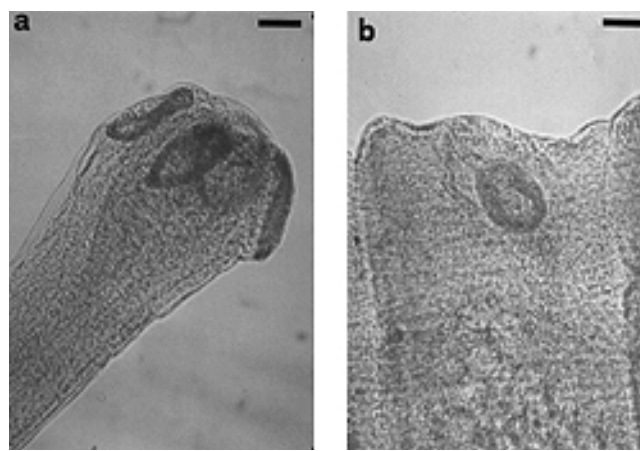
belonging to the Hymenolepididae family (*Hymenolopis carioca*) has only been found in Ethiopia (1).

With regard to the other *Galliformes*, the following parasites have been recorded in Africa: *Ascaridia galli*, *Raillietina (Raillietina) tetragona* and *Raillietina (Raillietina) echinobothrida* in the

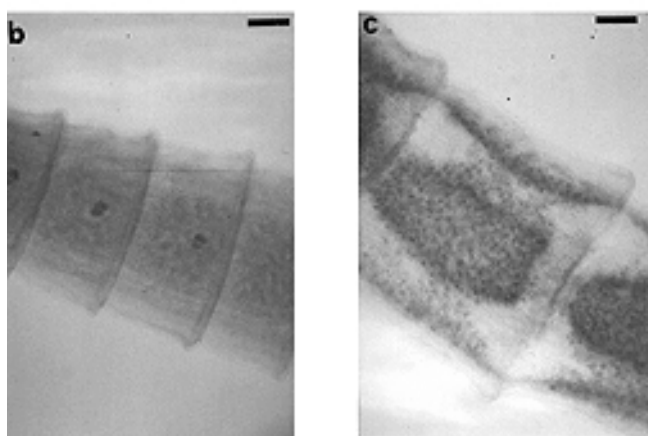
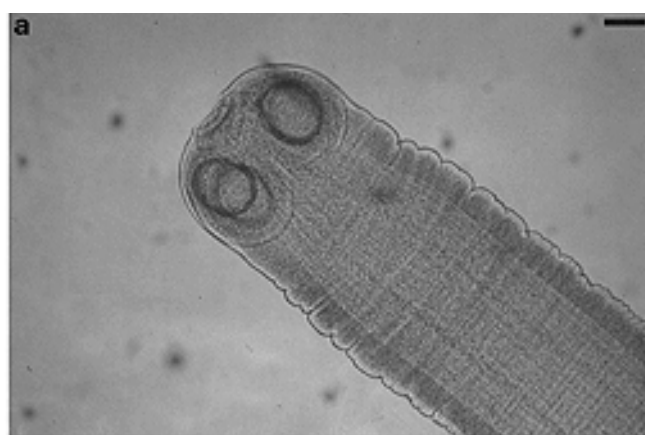




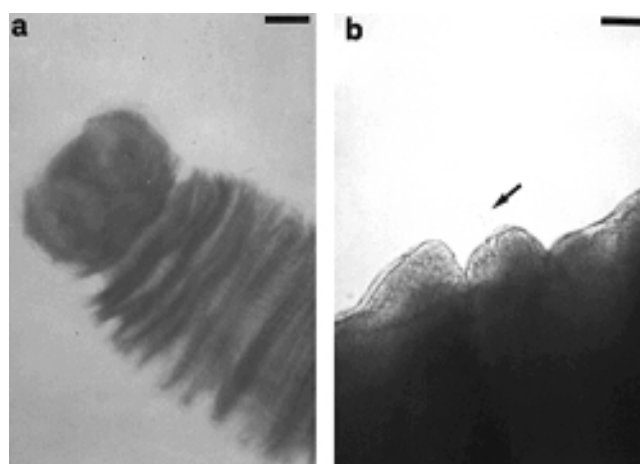
**Figure 2:** *Raillietina (Raillietina) tetragona*; (a) scolex with armed suckers (bar = 48  $\mu$ ); (b) gravid segment (bar = 95  $\mu$ ).



**Figure 3:** *Raillietina (Raillietina) echinobothrida*; (a) scolex with armed suckers (bar = 48  $\mu$ ); (b) proglottid with cirrus sac and genital pore (bar = 95  $\mu$ ).



**Figure 4:** *Raillietina (Paroniella) sp.*; (a) scolex with armed suckers (bar = 48  $\mu$ ); (b) mature proglottids, (c) gravid proglottids (bar = 95  $\mu$ ).



**Figure 5:** *Cotugnia sp.*; (a) scolex (bar = 95  $\mu$ ); (b) proglottid with extroflexed cirrus (arrow) (bar = 48  $\mu$ ).

helmet guinea fowl (*Numida meleagris galeata*) in Nigeria (2, 20); *Subulura suctorica* and *Mediorhynchus selengensis*, synonymous of *Mediorhynchus gallinarum* according to Schmidt and Kuntz (25), in helmet guinea fowl in Burkina Faso (30); *Ascaridia galli* and *Raillietina (Skrjabinia) cesticillus* in turkeys (*Meleagris gallopavo*) in Zambia (16).

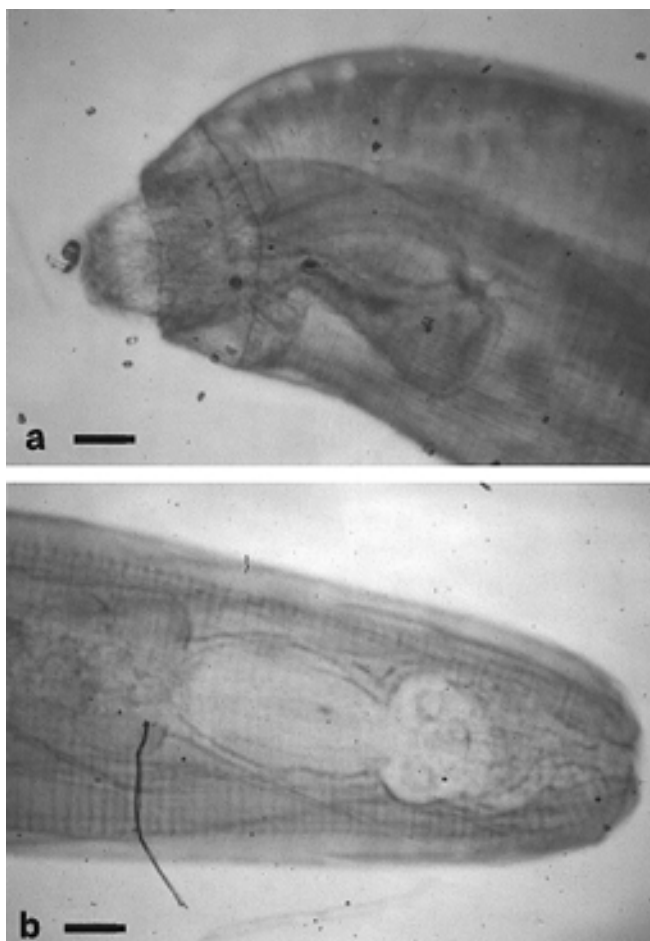
Morphobiometrical examination of the parasites identified in the present work revealed no substantial differences from the original

description. Therefore, it can be stated that the parasites reported in the present research are typical of the African Continent. Those of the cestodes identified only up to genus or subgenus were possibly new species. To find answers to this question and others further surveys will have to be carried out. The cestodes identified as genus or subgenus were not described in the literature consulted. Data on mean intensity adds further information to that on prevalence, namely it indicates that certain parasite species are present in large numbers in the hosts.

Poultry rearing in developing countries such as Somalia may represent a great opportunity for their economies. Short training courses for poultry breeders is recommended to give them basic knowledge about rearing systems, hygiene and parasitic disease prevention. This policy may reduce the production costs, promote the expansion of modern intensive farming and improve rural and family poultry rearing in the country as a whole.

#### Acknowledgments

The authors wish to thank Dr. Maria Alessandra De Marco for assistance in statistical analysis.



**Figure 6:** *Mediorhynchus gallinarum*, male; (a) anterior end - proboscis partially retracted in the proboscis sheath, (b) posterior end - bursa (bar = 200 µ).

## REFERENCES

1. ABEBE W., ASFAW T., GENETE B., KASSA B., DORCHIES Ph., 1997. Comparative studies of external parasites and gastro-intestinal helminths of chickens kept under different management system in and around Addis Ababa (Ethiopia). *Revue Méd. vét.*, **148**: 497-500.
2. AYENI J.S., DIPEOLU O.O., OKAEME A.N., 1983. Parasitic infections of the gray-breasted helmet guinea fowl (*Numida meleagris galeata*) in Nigeria. *Vet. Parasitol.*, **12**: 59-63.
3. BARUS V., 1969. Studies on the *Subulura suctorica*. I. Morphological and material variability. *Folia Parasitol. (Praha)*, **16**: 303-311.
4. BARUS V., 1970. Studies on the *Subulura suctorica*. III. Development in the definitive host. *Folia Parasitol. (Praha)*, **17**: 141-151.
5. BUSH A.O., LAFFERTY K.D., LOTZ J.M., SHOSTAK A.W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *J. Parasitol.*, **83**: 575-583.
6. CANCRINI G., IORI A.C., COSTANTINI R., ROMANO R., LANFRANCHI P., ABDULLATI P.M.A., 1988. Elminti intestinali in *Acryllium vulturinum* della Somalia. *Parassitologia*, **30**, Suppl. 1: 34-35.
7. EL-KHAWADA, EL-BADAWI, EISA A.M., 1977. Helminths in chickens in Sudan. *Angew Parasitol.*, **18**: 142-145.
8. ELOWNI E.E., 1982. Tapeworm infections in the domestic fowl in the Sudan. *Sudan J. vet. Sci. Anim. Husband.*, **23**: 88-93.
9. EUZEBY J., 1981. Diagnostic expérimental des helminthoses animales. Paris, France, éditions Informations techniques des services vétérinaires.
10. FABIYI J.P., 1972. Incidence of the helminth parasites of the domestic fowl in the Wom area of Benue-Plateau State, Nigeria. *Bull. Epizoot. Dis. Afr.*, **20**: 229-234.
11. FAO, 1997. Production yearbook. Rome, Italy, FAO. (Vol. 51)
12. FATIHU M.Y., OGBOGU V.C., NJOKU C.O., SAROR D.I., 1991. Comparative studies of gastrointestinal helminths of poultry in Zaria, Nigeria. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **44**: 175-177.
13. HODASI J.K.M., 1969. Comparative studies on the helminth fauna of native and introduced domestic fowls in Ghana. *J. Helminthol.*, **43**: 35-52.
14. HODASI J.K.M., 1973. Helminth fauna of native domestic fowls in Ghana II. Parasites from South Eastern Coastal Zone of Ghana. *J. West Afr. Sci. Assoc.*, **18**: 164-176.
15. HODASI J.K.M., 1978. Helminth fauna of native domestic fowls in Ghana III. Parasites from the forest belt of Ghana. *Bull. IFNA*, **40**: 834-840.
16. ISLAM A.W.M.S., 1985. Some common helminth parasites of turkeys in Zambia. *Poult. Advisor*, **18**: 69-72.
17. JENSEN J., PANDEY V.S., 1989. Observation on helminth parasites of domestic fowls in Zimbabwe. *Zimbabwe vet. J.*, **20**: 15-17.
18. KASIMOV G.B., 1956. Gel'mintofauna ochotnice - promyslovychptic otrjada kurinych, Izd. Mosca, SSSR, Akademii Nauk.
19. MPOAME M., AGBEDE G., 1995. The gastro-intestinal helminth infection of domestic fowl in Dschang, Western Cameroon. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **48**: 147-151.
20. NWAGU B.I., ALAWA C.B.I., 1995. Guinea fowl production in Nigeria. *World Poult. Sci. J.*, **51**: 261-270.
21. PERMIN A., MAGWISHA H., KASSUKU A.A., NANSEN P., BISGAARD M., FRANDSEN F., GIBBONS L., 1997. A cross-sectional study of helminths in rural scavenging poultry in Tanzania in relation to season and climate. *J. Helminthol.*, **71**: 233-240.
22. REID W.M., 1991. Cestodes and trematodes. In: Calnek B.W., Barnes J.H., Beard C.W., Reid W.M., Yoder H.W.Jr., Eds., Diseases of poultry. London, UK, Wolfe Publishing, p. 763-778.
23. SAWADA I., 1971. Two new avian cestodes, *Raillietina (Raillietina) somalensis* and *Cotugnia shohoi* from *Acryllium vulturinum* in Somalia. *Jpn. J. Zool.*, **16**: 131-134.
24. SCHMIDT G.D., 1986. Handbook of tapeworm identification. Boca Raton, FL, USA, CRC Press.
25. SCHMIDT G.D., KUNTZ R.E., 1977. Revision of *Mediorhynchus* Van Cleave 1916 (Acanthocephala) with a key to species. *J. Parasitol.*, **63**: 500-507.
26. SIEGHEL S., CASTELLAN N.J. Jr., 1992. Statistica non parametrica, 2nda Ed. Edizione italiana a cura di Caracciolo E. Milano, Italia, McGraw-Hill Libri Italia.
27. SOULSBY E.J.L., 1982. Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. London, UK, Bailliere Tindall.
28. SSENIONGA G.S., 1982. Prevalence of helminth parasites of domestic fowl (*Gallus domesticus*) in Uganda. *Trop. Anim. Health Prod.*, **14**: 201-204.
29. UMECHE A., ENO R.O.A., 1987. A survey of parasites of chickens from poultry farms in Calabar, Nigeria. *Rev. Latinoam. Microbiol.*, **29**: 133-136.
30. VERCRUYSSSE J., HARRIS E.A., BRAY R.A., NAGALO M., PANGUI M., GIBSON D.I., 1985. A survey of gastro-intestinal helminths of the common helmet guinea fowl (*Numida meleagris galeata*) in Burkina Faso. *Avian Dis.*, **29**: 742-745.

Reçu le 3.5.99, accepté le 23.9.99

**Résumé**

Terregino C., Catelli E., Poglayen G., Tonelli A., Gadale O.I. Etude préliminaire des helminthes du tube digestif du poulet en Somalie

Une étude épidémiologique sur les helminthes du tube digestif du poulet (*Gallus gallus domesticus*) a été effectuée en Somalie. Cent quarante poulets de race locale et originaires de deux systèmes d'élevage différents ont été utilisés. Parmi eux, 125 provenaient d'élevages traditionnels et avaient été amenés à l'abattoir de Mogadishu et les 15 autres étaient issus d'un élevage intensif. Sur les 140 poulets examinés, 110 étaient infestés (79 p. 100) : 104 provenaient des élevages traditionnels et 6 de l'élevage intensif. Ainsi, 83 p. 100 des poulets du premier groupe et 40 p. 100 du second étaient infestés. Les résultats ont également mis en évidence une différence significative ( $p < 0,01$ ) entre les deux types d'élevages concernant la prévalence des endoparasites. Les espèces parasitaires identifiées étaient les suivantes : *Ascaridia galli*, *Subulura suctoria*, *Raillietina (Raillietina) tetragona*, *Raillietina (Raillietina) echinobothrida*, *Raillietina (Skrjabinia) cesticillus*, *Raillietina (Paroniella) sp.*, *Raillietina (Raillietina) sp.*, *Raillietina sp.*, *Cotugnia sp.* et *Mediorhynchus gallinarum*. Aucun trématode n'a été trouvé. Les parasites ont présenté des formes d'associations diverses.

**Mots-clés :** Volaille - Poulet - Helminthe - Tube digestif - Elevage en liberté - Elevage intensif - Nematoda - Cestoda - Acanthocephala - Somalie.

**Resumen**

Terregino C., Catelli E., Poglayen G., Tonelli A., Gadale O.I. Estudio preliminar de los helmintos del tracto digestivo del pollo en Somalia

Se llevó a cabo un estudio epidemiológico sobre los helmintos en el tracto digestivo de los pollos (*Gallus gallus domesticus*) en Somalia. Los 140 pollos incluidos en el estudio fueron de razas locales y originarios de dos diferentes tipos de sistemas de crianza: 125 fueron pollos criados al aire libre, sacrificados en un matadero en Mogadishu, 15 provenían de una finca con crianza intensiva. De los 140 pollos examinados, 110 (79%) estaban infectados: 104 provenían de parvadas criadas al aire libre y 6 de una finca con crianza intensiva. Por lo tanto, 83% de los pollos del primer grupo y 40% de los del segundo grupo estuvieron infectados. Las diferencias en la prevalencia de los endoparásitos en ambos sistemas de manejo fueron estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ). Las especies parasitarias identificadas fueron: *Ascaridia galli*, *Subulura suctoria*, *Raillietina (Raillietina) tetragona*, *Raillietina (Raillietina) echinobothrida*, *Raillietina (Skrjabinia) cesticillus*, *Raillietina (Paroniella) sp.*, *Raillietina (Raillietina) sp.*, *Raillietina sp.*, *Cotugnia sp.* y *Mediorhynchus gallinarum*. No se encontraron trematodos. Se presentaron varias asociaciones de parásitos.

**Palabras clave:** Ave de corral - Pollo - Helminto - Tracto digestivo - Crianza libre - Crianza intensiva - Nematoda - Cestoda - Acanthocephala - Somalia.

# Prévalence de *Rhinoestrus usbekistanicus* (Gan 1947) chez l'âne (*Equus asinus*) dans la région de Niamey, Niger

R. Tibayrenc<sup>1</sup> D. Garba<sup>1</sup> Ph. Dorchies<sup>2\*</sup>

## Mots-clés

Ane - *Rhinoestrus usbekistanicus* - Niger.

## Résumé

*Rhinoestrus usbekistanicus* (Gan 1947), recherché de janvier à décembre 1996 sur 234 têtes d'ânes (*Equus asinus*), a été mis en évidence pour la première fois au Niger. Le pic annuel d'infestation s'est situé essentiellement en novembre, avec une densité maximale de 8,9 larves par animal infesté. Aucune larve n'ayant été décelée de février à octobre, il est probable que l'adaptation du parasite à la sécheresse se fait par une durée de pupaison prolongée dans le sol. Les parasites adultes ont semblé être en activité de septembre ou d'octobre à novembre puisque à cette période des larves des trois stades ont été trouvées dans les têtes. Ils ont disparu en décembre, période à partir de laquelle seules des L3 ont été rencontrées.

## ■ INTRODUCTION

*Rhinoestrus usbekistanicus* (Gan 1947) était considéré comme un parasite des zèbres de Burchell au sud du Sahara (10) jusqu'à sa mise en évidence au Maroc, en Tunisie et au Sénégal (2). G. Feseha signale sa présence en Ethiopie sur les hauts plateaux à Debré Zeit (4). Les larves du deuxième âge, qui n'avaient jamais été observées, ont été récemment décrites en microscopie électronique à balayage (6) et comparées à celles d'autres œstridés proches (5). Jusqu'à présent, aucune étude systématique n'avait été menée au Niger sur les équidés et en particulier sur l'âne. L'objet de cette étude a été de rechercher si ce parasite était présent au Niger, car le climat y est plus sec que dans la partie occidentale du Sénégal où une enquête avait été réalisée préalablement.

## ■ MATERIEL ET METHODES

La recherche des parasites par dissection périodique de têtes d'ânes a été menée de janvier à décembre 1996. Les têtes ont été récoltées au zoo de Niamey (trois têtes, deux fois par semaine), la viande d'âne constituant la base de la nourriture des fauves. Après ouverture des fosses nasales, des cornets et des sinus, les larves des différents stades (L1, L2, L3) ont été récoltées, dénombrées,

identifiées (11) et mises dans de l'alcool à 70° selon une technique validée (9). L'âge des animaux, estimé d'après la denture, a été également noté.

## ■ RESULTATS ET DISCUSSION

*Rhinoestrus usbekistanicus* a été trouvé dans 19 des 234 têtes examinées, ce parasite ayant ainsi été observé pour la première fois au Niger. La prévalence globale a été de 8,1 p. 100. Le tableau I et la figure 1 détaillent les taux de prévalence mensuels qui montrent que les variations d'infestation étaient nettement contrastées. On constate qu'il n'y a eu aucune infestation de février à septembre, puis des pics en novembre et décembre (37,5 et 33,3 p. 100 d'ânes porteurs). Les taux de prévalence ont été faibles avant (3,7 p. 100 en octobre) et après (6,7 p. 100 en janvier) cette période.

En ce qui concerne les charges parasitaires ou degrés d'infestation mensuels moyens, on retrouve la même variation que pour la prévalence. La charge a été plus importante en novembre (8,9 larves par tête) qu'en décembre (3,6 larves par tête). Elle a été très basse en octobre (1 larve par tête) et en janvier (2 larves par tête).

Ces résultats permettent de supposer que les adultes apparaissent en septembre ou octobre, en fin de saison des pluies, puisque les premières L2 ont été récoltées en octobre. La période de multiplication la plus active serait le mois de novembre. Il est possible que les adultes disparaissent dès le mois de décembre, en saison sèche froide, puisque à ce moment-là et en janvier il n'y a plus que des L3, les réinfestations cessant à cette période. Les parasites ont peut-être adopté une stratégie de survie en dehors de l'hôte. En effet, pendant toute la fin de la saison sèche et pendant la saison

1. LABOCEL, BP 485, Niamey, Niger

2. Ecole nationale vétérinaire, 23, Chemin des Capelles, 31076 Toulouse Cedex, France

Tél. : +33 (0)5 61 19 38 71 ; fax : +33 (0)5 61 19 39 44

E-mail : p.dorchies@envt.fr

\* Auteur pour la correspondance



Tableau I  
Récapitulation des résultats

	Nb. d'ânes	Taux de prévalence (%)	Nb. de larves /porteur	L1 *	L2 *	L3 *
Janvier	15	6,7	2	0	0	2
Février	15	0	0	0	0	0
Mars	18	0	0	0	0	0
Avril	18	0	0	0	0	0
Mai	21	0	0	0	0	0
Juin	21	0	0	0	0	0
Juillet	15	0	0	0	0	0
Août	12	0	0	0	0	0
Septembre	24	0	0	0	0	0
Octobre	27	3,7	1	0	1	0
Novembre	24	37,5	8,9	1	1,1	6,8
Décembre	24	33,3	3,6	0	0	1,2

\* Degrés d'infestation (= nombre moyen de larves par porteur)

des pluies, aucune larve n'a été trouvée chez l'âne (figure 1). Cette particularité a déjà été décrite pour *R. purpureus* en Egypte où les parasites sont absents pendant deux mois d'hiver (10). Il est possible que la survie se fasse au stade de la pupa : la durée de pupaison serait prolongée, comme cela a été évoqué dans certains cas pour *Oestrus ovis* (1). Pour confirmer cette hypothèse, il serait nécessaire de récolter des L3 mûres en janvier et de mesurer la durée de leur pupaison dans le milieu extérieur. Le nombre limité de parasites récoltés chez les animaux atteints n'a pas permis aux auteurs de faire cette observation.

Au Niger, *R. usbekistanicus* semble ne présenter qu'un cycle annuel d'infestation des ânes chez lesquels il n'est présent que pendant quatre mois (d'octobre à janvier, période correspondant à la fin de la saison des pluies et au début de la saison sèche). Cette stratégie de survie est très originale pour un œstridé.

Les résultats de cette étude sont différents de ceux qui ont été observés au Sénégal (2) où le taux de prévalence est beaucoup plus élevé et où les larves subissent une diapause au premier stade larvaire, entre mars et juin, au cœur de la saison sèche. L'incidence du climat est difficile à vérifier car les animaux observés au

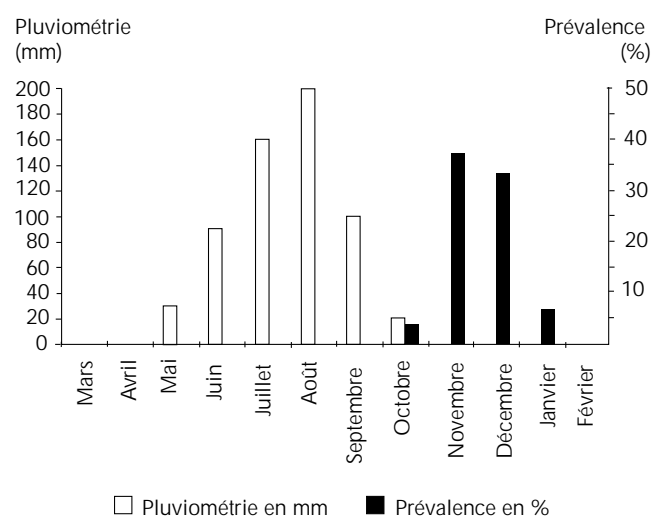


Figure 1 : pluviométrie à Niamey-Aviation et prévalence de *Rhinoestrus*.

cours de l'enquête sénégalaise provenaient vraisemblablement de toutes les régions du pays, en particulier du Ferlo, zone sahélienne au nord-est du Sénégal où le climat se rapproche de celui du Niger. Ils séjournaient à Dakar un certain temps avant abattage car les sujets réformés et destinés à l'alimentation des fauves étaient ceux qui étaient épuisés après une utilisation intensive et des soins parfois négligents. On peut seulement supposer que le climat de la région de Dakar est plus favorable à l'évolution des œstridés qui survivent en diapause au cours de la saison sèche.

L'influence éventuelle de l'âge sur l'infestation n'a pas été évaluée car tous les ânes avaient de 7 à 8 ans.

## CONCLUSION

Les niveaux d'infestation ayant été très faibles, la rhinoestrose apparaît comme une curiosité parasitologique sans incidence pathologique particulière au Niger. En revanche, au Sénégal, des lésions des muqueuses respiratoires supérieures ont été décrites (8). L'hypothèse du rôle de ces parasites dans le développement de la pneumonie interstitielle chronique, fréquente chez l'âne (7), peut être retenue comme cela a été décrit pour le mouton (3).

## Remerciements

Les auteurs remercient le laboratoire Janssen Santé animale pour le soutien apporté à cette recherche.

## BIBLIOGRAPHIE

- BIGGS H.C., MCCLAIN E., MULLER G.L., ANTHONISSEN M., HARE K.M., 1998. A prediction model for strike in the sheep nasal fly *Oestrus ovis* in Namibia. *Prev. vet. Med.*, **33**: 267-282.
- DECONINCK P., PANGUI L.J., GITHEGO A., DORCHIES PH., 1996. Prévalence de *Rhinoestrus usbekistanicus* (Gan 1947) chez l'âne (*Equus asinus*) au Sénégal. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **49**: 38-40.
- DORCHIES PH., YILMA J.M., SAVEY J., 1993. Prevalence of lung abscesses and interstitial pneumonia in ovine oestrosis. *Vet. Rec.*, **133**: 325.
- FESEHA G., 1997. Diseases and health problems of donkeys abroad. In: Svendsen E.D. ed., The professional handbook of donkey, 3th ed. London, UK, Whittet Books.
- GUITTON C., DORCHIES PH., MORAND S., 1997. Morphological comparison of second stage larvae of *Oestrus ovis* (Linne 1758), *Cephalopina titillator* (Clark 1816) and *Rhinoestrus usbekistanicus* (Gan 1947) (Oestridae) using scanning electron microscopy. *Parasite*, **4**: 277-282.
- GUITTON C., MORAND S., DORCHIES PH., 1996. Scanning electron microscopy of larval instars and imago of *Rhinoestrus usbekistanicus* Gan 1947 (Oestridae). *Parasite*, **3**: 155-159.
- HMIDOUCH A., AMES T., 1994. Pneumonies interstitielles chroniques chez les chevaux de trait au Maroc. In: Bakkoury M., Prentis R.A. eds, Working equines. Rabat, Maroc, Actes Sud, p. 127-136.
- KABORET Y., DECONINCK P., PANGUY L.J., AKAKPO J., DORCHIES PH., 1997. Lésions de la rhinoestrose spontanée à *Rhinoestrus usbekistanicus* (Gan 1947) chez l'âne (*Equus asinus*) au Sénégal. *Revue Méd. vét.*, **148**: 123-126.
- YILMA J.M., DORCHIES PH., 1991. Epidemiology of *Oestrus ovis* in southwest France. *Vet. Parasitol.*, **40**: 315-323.
- ZAYED A.A., HILLI M., EL METENAWY T.M., 1993. Studies on *Rhinoestrus purpureus* (Diptera: Oestridae) larval infesting donkeys (*Equus asinus*) in Egypt: Incidence and seasonal variations. *J. Equine vet. Sci.*, **13**: 46-49.
- ZUMPT F., 1965. Myiasis in man and animals in the Old World. London, UK, Butterworths, 267 p.

Reçu le 17.6.97, accepté le 9.6.99

## Summary

---

**Tibayrenc R., Garba D., Dorchies Ph.** Prevalence of *Rhinoestrus usbekistanicus* (Gan 1947) in donkeys (*Equus asinus*) in the Niamey region, Niger

A study carried out on 234 donkey (*Equus asinus*) heads from January to December 1996 has revealed for the first time the presence of *Rhinoestrus usbekistanicus* (Gan 1947) in Niger. The annual infestation peak was chiefly in November with a maximum density of 8.9 larvae per infected animal. As no larva was detected between February and October, it is likely that the parasite adapts itself to drought by a prolonged pupation period in the ground. The adult parasites seemed to be active from September/October to November since the three larval stages were found in the heads during that period. They disappeared in December, at which point only L3s were found.

**Key words:** Donkey - *Rhinoestrus usbekistanicus* - Niger.

## Resumen

---

**Tibayrenc R., Garba D., Dorchies Ph.** Prevalencia de *Rhinoestrus usbekistanicus* (Gan 1947) en el asno (*Equus asinus*) en la región de Niamey, Níger

De enero a diciembre 1996 se llevó a cabo una detección de *Rhinoestrus usbekistanicus* (Gan 1947) demostrando, por primera vez, su presencia en Níger. El pico anual de infestación se situó esencialmente en noviembre, con una densidad máxima de 8,9 larvas por animal infestado. No se detectó ninguna larva entre febrero y octubre, por lo que es probable que la adaptación del parásito a la sequía, se dé por una duración prolongada del período de pupa en el suelo. Los parásitos adultos parecieron ser activos de septiembre /octubre a noviembre, ya que durante este período se encontraron, en las cabezas, larvas en los tres estadios. Desaparecieron en diciembre, período a partir del cual solo se encontraron L3.

**Palabras clave:** Asno - *Rhinoestrus usbekistanicus* - Niger.

# Code zoosanitaire international



8<sup>e</sup> édition

Le Code zoosanitaire international est le résultat d'un travail entamé en 1960 et qui s'est particulièrement intensifié durant ces dernières années, depuis que l'Organisation mondiale du commerce (Omc) a retenu l'Oie comme organisation de référence en matière de santé animale et de zoonoses.

Ce document est destiné à éviter la propagation des maladies tout en facilitant les échanges internationaux d'animaux vivants, de semence, d'embryons et de produits d'origine animale. Il constitue un ouvrage indispensable aux responsables des services vétérinaires, des services d'importation et d'exportation, aux épidémiologistes, ainsi qu'aux personnes intéressées par le commerce international.

Les mesures recommandées dans le Code portent sur les maladies « prioritaires » (celles incluses dans les listes A et B de l'Oie) et tiennent compte d'un large éventail de situations qui peuvent exister dans les pays importateurs et exportateurs.

Les annexes du Code regroupent un ensemble de recommandations importantes, en particulier sur la collecte et le traitement hygiéniques de la semence et des embryons, l'hygiène dans les élevages de volailles reproductrices et les couvoirs, et le transport des animaux.

Figure également dans le Code une série de certificats sanitaires internationaux qui peuvent servir de modèles pour harmoniser la présentation des documents qui accompagnent les animaux et leurs produits dans les échanges internationaux.

21 x 29,7 cm  
450 p.  
ISBN : 92 90 44 483-5

Prix unitaire : 300 FF ; 45 Euros  
(Frais d'envoi par voie aérienne inclus  
pour tous pays)

---

## Office international des épizooties

12, rue de Prony - 75017 Paris, France - Tél. : +33 (0)1 44 15 18 88 - Fax : +33 (0)1 42 67 09 87  
oie@oie.int - <http://www.oie.int>

# Prevalence of *Eimeria stiedai* infection in outbred domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in Eastern Nigeria

G.A. Musongong<sup>1\*</sup> B.B. Fakae<sup>1</sup>

## Key words

*Oryctolagus cuniculus* - Rabbit - *Eimeria stiedai* - Coccidiosis - Liver - Morbidity - Nigeria.

## Summary

Examination of livers of 131 (103 young and 28 adult) rabbits purchased directly from local keepers and village markets in Eastern Nigeria revealed that hepatic coccidiosis due to *Eimeria stiedai* is endemic in this region. Forty-one (37.4%) of them were infected. The liver-to-body weight ratio, which was used as an index of gross pathology in infected rabbits, was significantly higher ( $P < 0.05$ ) in the latter than in noninfected rabbits. Hepatic coccidiosis was prevalent in rabbits from all the sites studied. Further research on this aspect of rabbit health is recommended in order to promote successful rabbit production in village communities in Eastern Nigeria.

## ■ INTRODUCTION

Coccidiosis caused by *Eimeria* species in general is a serious problem interfering with rabbit production (1, 6). Liver coccidiosis caused by *E. stiedai* is one of the major forms of the disease that causes high mortality in young rabbits (5). Apart from resulting in economic loss, infections with *Eimeria* species are important in concurrent experimental infections with other parasite species, for example gastrointestinal nematodes (3), since they may influence the normal course of infection with the nematode. Furthermore, rabbit keeping has become a lucrative enterprise among rural communities in Nigeria and rabbit meat serves as a good alternative source of protein in family diets (4). Unfortunately, information about the prevalence of *Eimeria* species infection in domestic rabbits in Nigeria is not readily available. This paper reports for the first time on the prevalence of natural *E. stiedai* infections in an outbred strain of domestic rabbits in Eastern Nigeria in order to stimulate further research on this aspect of rabbit health in Nigeria.

1. Department of Veterinary Parasitology and Entomology, University of Nigeria, Nsukka, Nigeria

\* Corresponding author's present address: IRAD, Regional Centre of Wakwa, PO Box 65, Ngaoundere, Cameroon

Fax: +237 25 15 57; E-mail: vtanya@syfed.cm.refer.org

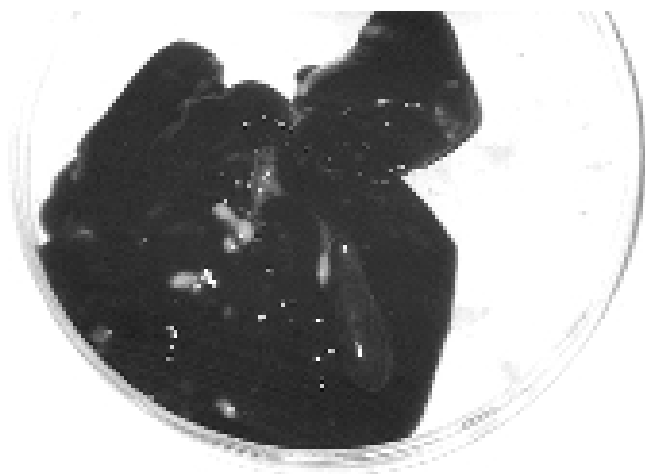
## ■ MATERIALS AND METHODS

A total of 131 (28 adult and 103 young) outbred domestic rabbits were sampled from lots purchased from village markets (Ibagwa, Orba, Obollo, Nsukka, and Ovoko) in Nsukka Local Government Area of Eastern Nigeria, between December 1992 and November 1995. At necropsy, each liver was removed and inspected for nodules typical of infection with *E. stiedai* (2). When nodules were present, smears from such nodules and sediments of bile from the infected livers were examined under a x10 objective of a microscope for *E. stiedai* oocysts. Both infected and uninfected livers were weighed and the liver-to-body weight ratio (%) calculated for comparison.

## ■ RESULTS

The smears from liver nodules and bile sediments from infected livers showed oocysts characteristic of *E. stiedai*. Nine (32.14%) adult rabbits and 40 (38.80%) young rabbits were infected with *E. stiedai*. All the studied sites had infected rabbits. Most of the livers were heavily infected (figure 1) and some nodules were already coalescent. The liver-to-body weight ratio ranged from 2 to 9% in infected rabbits and from 2 to 5% in uninfected rabbits.





**Figure 1:** Liver of rabbit naturally infected with *Eimeria stiedai*. White spots indicate distended bile ducts.

## ■ DISCUSSION

These results indicate that coccidiosis due to *E. stiedai* was endemic in domestic rabbits in this part of Nigeria. In addition, the infection prevalence was high in both young and adult rabbits of this outbred strain. Further studies on this infection are necessary because it may be one of the undiagnosed causes of mortality and reduced productivity of local rabbits in Eastern Nigeria. There seems to be a general lack of awareness about coccidiosis in domestic rabbits in Nigeria. In addition, oocysts of *E. stiedai* may not be easily observed in mixed infections with other *Eimeria* species since most of them tend to be trapped in biliary ducts of the liver (2) making thus a precise diagnosis difficult. The degree

of damage that may be caused by the parasite is reflected in the changes in the liver of infected rabbits. A higher mean liver-to-body weight ratio of infected rabbits compared to that of uninfected rabbits is evidence of impairment of the liver function (5). The factors influencing the endemicity of this infection in local rabbitries in Eastern Nigeria are not very clear and should be studied.

## Acknowledgments

We are grateful to the Department of Veterinary Parasitology and Entomology, University of Nigeria, Nsukka, for providing the facilities to perform this work.

## REFERENCES

1. ARRINGTON L.R., KELLEY K.C., 1976. Domestic rabbit biology and production. Gainesville, FL, USA, The University Presses of Florida, 230 p.
2. COUDERT P., LICOIS D., DROUET-VIARD F., 1995. *Eimeria* species and strains of rabbits. In: Eckert J., Braun R., Shirley M.W., Coudert P., Eds., Biotechnology - Guidelines on techniques in coccidiosis research. Brussels, Belgium, European Commission, p. 52-73.
3. DAVIS L.R., HERLICH H., BOWMAN G.W., 1960. Studies on concurrent experimental infections of dairy calves with coccidia and nematodes. III. *Eimeria* spp. and the thread worm *Strongyloides papillosus*. *Am. J. vet. Res.*, **21**: 181-187.
4. FIELDING D., 1991. The tropical agriculturalist. Rabbits. London, Basingstoke, UK, CTA Macmillan, 106 p.
5. LEVINE N.D., 1985. Veterinary protozoology. Ames, IA, USA, Iowa State University Press, 414 p.
6. WOOD C., 1978. The pet rabbit - Veterinary problems. *Vet. Rec.*, **102**: 304-308.

Reçu le 13.8.97, accepté le 11.8.99

## Résumé

**Musongong G.A., Fakae B.B.** Prévalence de la coccidiose hépatique causée par *Eimeria stiedai* chez des lapins domestiques au Nigeria oriental

L'examen de foies de 131 lapins (103 jeunes et 28 adultes) achetés directement auprès d'éleveurs locaux et dans des marchés ruraux du Nigeria oriental a montré que la coccidiose hépatique causée par *Eimeria stiedai* est endémique dans cette région. Quarante et un de ces lapins (37,4 p. 100) étaient infectés. Le rapport entre le foie et le poids corporel, utilisé ici comme indice de la pathologie générale des lapins infectés, a été significativement plus élevé ( $P < 0,05$ ) chez ces derniers que chez les lapins non-infectés. La coccidiose hépatique a été prévalente chez les lapins dans tous les sites étudiés. D'autres études sur cet aspect de la santé des lapins sont recommandées pour assurer le succès de la production de lapins dans les communautés villageoises du Nigeria oriental.

**Mots-clés :** *Oryctolagus cuniculus* - Lapin - *Eimeria stiedai* - Coccidiose - Foie - Morbidité - Nigeria.

## Resumen

**Musongong G.A., Fakae B.B.** Prevalencia de la infección por *Eimeria stiedai* en conejos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) en el este de Nigeria

El examen de los hígados de 131 conejos (103 jóvenes y 28 adultos), comprados directamente a criadores locales y en mercados de pueblo en el este de Nigeria, revelará que la coccidiosis hepática por *Eimeria stiedai* es endémica en esta región. Cuarenta y uno (37,4%) de éstos estuvieron infectados. La relación de peso hígado/cuerpo, la cual se utilizó como índice de patología en general en los conejos infectados, fue significativamente más elevado ( $p < 0,05$ ) en los últimos que en los conejos no infectados. La coccidiosis hepática fue prevalente en los conejos de todos los sitios estudiados. Se recomienda una mayor investigación en este aspecto de la salud del conejo, con el fin de promover una producción de conejos exitosa en los pueblos del este de Nigeria.

**Palabras clave:** *Oryctolagus cuniculus* - Conejo - *Eimeria stiedai* - Coccidiosis - Hígado - Morbosidad - Nigeria.

# Hematological and blood chemistry alterations in coatis (*Nasua nasua*) naturally infected by *Trypanosoma evansi* in the Pantanal, Brazil

R.A.M.S. Silva<sup>1\*</sup> A.M. Victório<sup>2</sup> L. Ramirez<sup>2</sup>  
A.M.R. Dávila<sup>2</sup> V. Trajano<sup>3</sup> A.M. Jansen<sup>3</sup>

## Key words

*Nasua nasua* - *Trypanosoma evansi* - Blood - Biochemistry - Pantanal - Brazil.

## Summary

During a study on the wildlife reservoir of *Trypanosoma evansi*, 40 coatis (*Nasua nasua*) were caught in the Pantanal of Nhecolândia subregion, Brazil. The values observed in infected coatis (16/40) were  $4.21 \times 10^6/\text{mm}^3$  for red blood cell count,  $12.68 \times 10^3/\text{mm}^3$  for white blood cell count, 28.19% for hematocrit, 9.51 mg/dl for hemoglobin, 73.60 mg/dl for glucose and 1.18 g/dl for albumin. The infected coatis presented anemia, hypoglycemia and low albumin values. These data are indications of the importance of coatis as a wild reservoir and of *T. evansi* as a disease-causing parasite in coatis. The nature of the blood and chemistry alterations needs to be elucidated. This is the first report of a disease caused by *T. evansi* in coatis.

## INTRODUCTION

The Pantanal is a seasonal floodplain of about 140,000 km<sup>2</sup>, located in the center of South America, between 16° and 21° S and 55° and 58° W (figure 1). The Pantanal is divided into 11 subregions differing in terms of watercourses, soil types and historical occupation (17, 19). The Pantanal has the greatest fauna density of the Americas. There are 235 fish species, 650 bird species, 50 reptile species and 80 mammal species. Man has introduced some animals in the Pantanal, including cattle, mules, donkeys, horses, pigs and dogs (10). Extensive cattle ranches varying from 10,000 to 200,000 ha occupy most of this wetland. It is populated by 3,996,000 cattle, 4966 buffaloes, and 49,000 horses (2, 14). The Pantanal is considered one of the most important livestock regions of Brazil.

Coatis are found mainly in wooded areas. They forage in trees, as well as on the ground, using the tail as balancing and as a semi-

prehensile organ. While moving along the ground, these animals usually carry the tail erect except for the curled tip. Adult males are often active at night, but coatis are primarily diurnal. They move about 1500 to 2000 m a day in search of food, and usually sleep at night (7). Coatis are highly opportunistic omnivores (5).

*Trypanosoma evansi* has the widest distribution of all trypanosome species and the greatest range of mammalian hosts. This parasite has a broad geographical distribution in a wide variety of mammals (10). A trypanosome survey carried out on domestic and wild animals in the Pantanal by Nunes and Oshiro (8) identified *T. evansi* in dogs, coatis (*Nasua nasua*) and capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*). The role of wild mammals as reservoirs in the Pantanal is still unknown. The goal of this study was to evaluate the hematological and some blood chemistry parameters of infected animals.

## MATERIALS AND METHODS

### Animals

This study was conducted from September to December 1994. Forty coatis (*Nasua nasua*) were caught in the Pantanal of Nhecolândia subregion, Brazil. The coatis were physically restrained and injected intramuscularly with 0.01 ml/kg of acepromazine (Acepran 1%, Univet SA, São Paulo, Brazil).

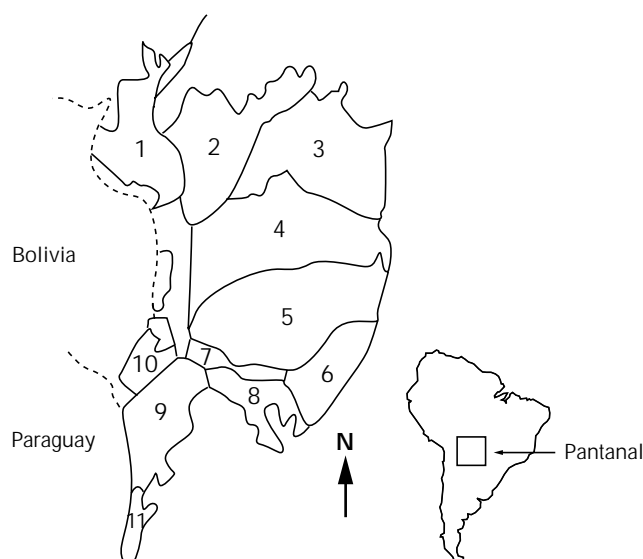
1. Laboratory of Animal Health, EMBRAPA/CNPSA, km 153, Vila Tamandua, CEP: 89700-000, Concordia, SC, Brazil

E-mail: rsilva@cnpsa.embrapa.br

2. Laboratory of Animal Health II, EMBRAPA/CPAP, rua 21 de Setembro, 1880, CEP: 79320-900, Corumba, MS, Brazil

3. Laboratory of Biology of Trypanosomatidae, Department of Protozoology, Instituto Oswaldo Cruz, Av. Brasil, 4365, CEP: 21045, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

\* Corresponding author



- Pantanal subregions
1. Pantanal of Cáceres
  2. Pantanal of Poconé
  3. Pantanal of Barão de Melgaço
  4. Pantanal of Paiaguás
  5. Pantanal of Nhecolândia
  6. Pantanal of Aquidauana
  7. Pantanal of Abobral
  8. Pantanal of Miranda
  9. Pantanal of Nabileque
  10. Pantanal of Paraguay
  11. Pantanal of Porto Murtinho

Figure 1: Location of the Pantanal and its subregions.

### Blood sample collection

The coatis were bled by cardiac puncture for determination of hematological data using a vacuum system (Vacuum II, Labnew, Campinas, Brazil) in tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid as anticoagulant. The packed red cell volume (PCV) was measured using the standard microhematocrit method, and the red blood cell count (RBC) and total white blood cell count (WBC) were obtained using the Neubauer chamber. Differential leukocyte count was made using thin film blood smears and stained with Wright-Giemsa stain. The hemoglobin (Hb) concentration was determined colorimetrically (Micronal digital spectrophotometer, São Paulo, SP, Brazil) after its conversion to cyanomethemoglobin.

### Blood chemistry

The serum concentrations of glucose and albumin were determined by spectrophotometric methods (Labtest sistemas para diagnósticos, São Paulo, SP, Brazil).

### Trypanosome diagnosis

The diagnosis of trypanosomiasis was done using the hematocrit centrifuge technique, inoculation in rats and mice, and Giemsa-stained smears. Blood from each sample and the concentrated parasites in the buffy coat of microhematocrit tubes were also used to prepare thin smears. The isolates were identified based on morphological and biometrical data (table I).

## ■ RESULTS

Infected coatis (16/40) presented anemia, hypoglycemia and low albumin values. One of the infected animals presented a parasitemia as high as  $106.35 \times 10^6$  parasites/ml. The same animal had anemia characterized by low erythrocyte count ( $2.75 \times 10^6$ /ml) and decreased hematocrit (22%). The hematological and blood chemistry values of the infected coatis are presented in table II.

Table I

Measurements of *T. evansi* isolates of coatis (*Nasua nasua*) from the Pantanal, Brazil; means  $\pm$  SD ( $\mu$ m) (n=100)

PK	KN	PN	NA	F	T	PN/NA
n/a	n/a	$9.19 \pm 2.21$	$7.48 \pm 1.82$	$8.01 \pm 2.30$	$24.69 \pm 3.64$	$1.29 \pm 0.45$

PK: distance from posterior end to kinetoplast; KN: from kinetoplast to middle of nucleus; PN: from posterior end to middle of nucleus; NA: from nucleus to anterior end; F: free flagellum length; T: total length including free flagellum

Table II

Hematological and blood chemistry values of coatis (*Nasua nasua*) naturally infected by *Trypanosoma evansi* in the Pantanal, Brazil, and non-infected coatis

	RBC count $\times 10^6/\text{mm}^3$	WBC count $\times 10^3/\text{mm}^3$	Ht (%)	Hb (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Albumin (g/dl)
Infected coatis	$4.21 \pm 1.13^a$	$12.68 \pm 4.68^a$	$28.19 \pm 5.27^a$	$9.51 \pm 1.290^a$	$73.60 \pm 44.53^a$	$1.18 \pm 0.80^a$
Captive coatis <sup>+</sup>	$7.50 \pm 2.00^b$	$13.40 \pm 4.50^a$	$40.90 \pm 6.20^b$	$12.20 \pm 3.30^a$	$176.20 \pm 38.40^b$	$4.50 \pm 1.20^{bc}$

RBC: red blood cell; WBC: white blood cell; Ht: hematocrit; Hb: hemoglobin; <sup>+</sup> according to Pimentel, ABRAVAS, 1994  
<sup>a, b, c</sup> Values on the same row with different letters are significantly different ( $P < 0.0005$ )

## ■ DISCUSSION

Equine trypanosomosis caused by *Trypanosoma evansi* is known in the Pantanal and subtropical areas of Argentina as “Mal de Caderas” (6). Spanish settlers probably introduced it in South America during the sixteenth century (3, 12). Apparently, the disease entered in the Pantanal region in the 1850s (19). Since 1894, Mal de Caderas has been reported in horses in the Nhecolândia subregion of Pantanal (1). The most serious epidemics followed extensive flooding and this disease became a significant barrier to the expansion of cattle industry in the Pantanal (19). Outbreaks in horses are related to the vector season. Studies showed that the vector season occurs in the first half of the rainy season, from September/October to December/January. This study was conducted during the high vector season. Outbreaks of horse trypanosomosis have been reported that year (1994) as well (15, 16, 17). This season represents the period of major risk of trypanosome transmission to horses by vector insects due to their abundance and the population peak of species with high vector

potential, notably *Tabanus importunus* (16). After this season no cases are observed in horses. Nothing is known about *T. evansi* transmission from horses to wild mammals and between wild animals.

This study demonstrated that coatis presented anemia as reported in other mammal species infected by salivarian trypanosomes (17, 18). The lower values of albumin and glucose in *T. evansi* infected coatis have also been reported in other animal species infected by trypanosomes (4, 11, 13).

## ■ CONCLUSION

These data are indications of the importance of coatis as a wild reservoir and of *T. evansi* as a disease-causing parasite in coatis. The nature of the blood and chemistry alteration needs to be elucidated and mechanisms proposed. This is the first report of *T. evansi* causing diseases in coatis. More studies will be necessary to clarify whether there is a relationship between outbreaks of equine trypanosomosis and the infection of coatis.

## REFERENCES

1. BARROS J., 1959. Lembranças para os meus filhos e descendentes. São Paulo, Brasil, Empresa Gráfica Carioca, 92 p.
2. CADAVID GARCIA E.A., 1986. Estudo técnico econômico da pecuária bovina de corte do Pantanal Mato-Grossense. Corumba, MS, Brazil, EMBRAPA/CPAP, p. 126-127. (documento 4)
3. HOARE C.A., 1972. The trypanosomes of mammals. A zoological monograph. Oxford, Edinburgh, UK, Blackwell Scientific Publications, 749 p.
4. KATUNGUKA-RWAKISHYA E., MURRAY M., HOLMES P.H., 1992. The pathophysiology of ovine trypanosomosis: haematological and blood chemistry changes. *Vet. Parasitol.*, **45**: 17-32.
5. KAUFMANN J.H., LANNING D.V., POOLE S.E., 1976. Current status and distribution of the coati in the United States. *J. Mammal.*, **57**: 621-637.
6. MONZON C.M., MANCEBO O.A., ROUX J.P., 1990. Comparison between six parasitological methods for diagnosis of *Trypanosoma evansi* in the subtropical area of Argentina. *Vet. Parasitol.*, **36**: 141-146.
7. NOWAK R.M., PARADISO J.L., 1983. Walker's mammals of the world, vol. 2, 4th ed. Baltimore, MD, USA, John Hopkins University, 1362 p.
8. NUNES V.L.B., OSHIRO E.T., 1990. *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* in the coati from the Pantanal region of Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **84**: 692.
9. PIMENTEL A.L.G., 1994. Análise comparativa entre valores hematológicos e séricos de quatis (*Nasua nasua*) mantidos em cativeiro e de quatis mantidos em regime de semi-liberdade. *Informativo ABRAVAS*, **2**: 1.
10. RAMIREZ L., DAVILA A.M.R., VICTORIO A.M., SILVA R.A.M.S., TRAJANO V., JANSEN A.M., 1997. Measurements of *Trypanosoma evansi* from the Pantanal. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **92**: 483-484.
11. RUE M. DE LA, 1996. Alterações hematológicas e bioquímicas em cães infectados com *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885) Balbiani, 1888. PhD thesis, Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul State, Brazil, 128 p.
12. SANTOS S.A., SERENO J.R.B., MAZZA M.C.M., MAZZA C.A., 1992. Origin of Pantaneiro horse in Brazil. *Arch. Zootec.*, **41** (extra): 371-381.
13. SEED J.R., HALL J.E., 1985. Pathophysiology of African trypanosomosis in: Tizard I., Immunology and pathogenesis of trypanosomosis. Boca Raton, FL, USA, CRC Press, p. 1-11.
14. SEIDL A., MORAES A.S., SILVA R.A.M.S., 1998. A financial analysis of alternative strategies for treatment of *Trypanosoma evansi* in the Brazilian Pantanal. *Prev. vet. Med.*, **33**: 219-234.
15. SILVA R.A.M.S., AROSEMENA N.A.E., HERRERA H.M., SAHIB C.A., FERREIRA M.S.J., 1995. Outbreak of trypanosomosis due to *Trypanosoma evansi* in horses of Pantanal Mato-grossense, Brazil. *Vet. Parasitol.*, **60**: 167-171.
16. SILVA R.A.M.S., BARROS A.T.M., HERRERA H.M., 1995. Trypanosomosis outbreaks due to *Trypanosoma evansi* in the Pantanal, Brazil. A preliminary approach on risk factors. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **48**: 315-319.
17. SILVA R.A.M.S., HERRERA H.M., DOMINGOS L.B.S., XIMENES F.A., DÁVILA A.M.R., 1995. Pathogenesis of *Trypanosoma evansi* infection in dogs and horses: Hematological and clinical aspects. *Ciência Rural*, **25**: 233-238.
18. SILVA R.A.M.S., SAHIB C.A., RUE M. DE LA, HERRERA H.M., FERREIRA M.S.J., DÁVILA A.M.R., 1996. Coagulopathy due to *Trypanosoma evansi* acute infection in a dog. *Arq. Bras. Med. vet. zootec.*, **48**: 485-489.
19. WILCOX R., 1992. Cattle and environment in the Pantanal of Mato-Grosso, Brazil, 1870-1970. *Agric. Hist.*, **66**: 232-256.

Reçu le 20.7.98, accepté le 8.6.99



## Résumé

Silva R.A.M.S., Victorio A.M., Ramirez L., Davila A.M.R., Trajano V., Jansen A.M. Modifications sanguines et biochimiques chez des coatis (*Nasua nasua*) infectés naturellement par *Trypanosoma evansi* dans le Pantanal, Brésil

Lors d'une étude sur le réservoir animal sauvage de *Trypanosoma evansi*, 40 coatis (*Nasua nasua*) ont été capturés dans le Pantanal, district de Nhecolândia. Les valeurs observées chez les coatis infectés (16/40) étaient de  $4,21 \times 10^6/\text{mm}^3$  pour les globules rouges, de  $12,68 \times 10^3/\text{mm}^3$  pour les globules blancs, de 28,19% pour l'hématocrite, de 9,51 mg/dl pour l'hémoglobine, de 73,60 mg/dl pour le glucose et de 1,18 g/dl pour l'albumine. Les coatis infectés ont présenté de l'anémie, de l'hypoglycémie et de faibles valeurs d'albumine. Ces données signalent l'importance du coati en tant qu'animal réservoir de *T. evansi*, ainsi que du pouvoir pathogène de ce parasite chez le coati. La nature des modifications sanguines et chimiques doit être élucidée. Cette communication met en évidence, pour la première fois, *T. evansi* comme cause de maladie chez le coati.

**Mots-clés :** *Nasua nasua* - *Trypanosoma evansi* - Sang - Biochimie - Pantanal - Brésil.

## Resumen

Silva R.A.M.S., Victorio A.M., Ramirez L., Davila A.M.R., Trajano V., Jansen A.M. Alteraciones hematológicas y de la química sanguínea del coatí (*Nasua nasua*), infectado en forma natural por *Trypanosoma evansi* en Pantanal, Brasil

Durante un estudio del reservorio silvestre de *Trypanosoma evansi*, se capturaron 40 coatíes (*Nasua nasua*) en Pantanal, subregión de Nhecolândia, Brasil. Los valores observados en los coatíes infectados (16/40) fueron de  $4,21 \times 10^6/\text{mm}^3$  para el conteo de glóbulos rojos,  $12,68 \times 10^3/\text{mm}^3$  para el conteo de glóbulos blancos, 28,19% para el hematocrito, 9,51 mg/dl para la hemoglobina, 73,60 mg/dl para la glucosa y 1,18 g/dl para la albúmina. Los coatíes infectados presentaron anemia, hipoglucemia y bajos niveles de albúmina. Estos datos indican la importancia de los coatíes como reservorios silvestres, así como la importancia de este parásito como causa de enfermedad en los coatíes. Debe elucidarse la naturaleza de las alteraciones químicas y sanguíneas. Este es el primer reporte de enfermedad en coatíes causada por *T. evansi*.

**Palabras clave:** *Nasua nasua* - *Trypanosoma evansi* - Sangre - Bioquímica - Pantanal - Brasil.

# Preliminary efficacy trial of Cymelarsan in dogs and mice artificially infected with *Trypanosoma brucei* isolated from dogs in Nigeria

B.M. Anene<sup>1</sup> C.E. Ogbuanya<sup>1</sup>  
E.S. Mbah<sup>1</sup> R.C. Ezeokonkwo<sup>1</sup>

## Key words

Dog - Mouse - *Trypanosoma brucei* - Cymelarsan - Trypanocide - Experimental infection - Nigeria.

## Summary

Efficacy of Mel Cy (Cymelarsan, Rhône Mérieux, France) against *Trypanosoma brucei* isolated from dogs was studied in experimentally infected mice and dogs. The mice were infected with parasites collected from five dogs and treated once intraperitoneally with Mel Cy at dose rates of 2.5 and 5.0 mg/kg seven and 14 days after infection, to give an indication on parasite sensitivity. Relapse of the parasitemia occurred in all groups of mice treated 14 days after infection, while almost all the mice treated seven days after infection remained parasitologically negative during the 63-day observation period. Five dogs were infected with a stock of the parasite then treated on the following postinfection days: day 7 (one dog), day 14 (two dogs), and day 21 (two dogs), at a dose of 2.5 mg/kg subcutaneously and on two consecutive days. Following the Mel Cy treatment, improvements in the clinical condition as well as weight gains were recorded in the dogs. A relapse of the infection occurred in only one of the two dogs treated 14 days after infection. Neither the dog treated at day 7 nor those treated at day 21 postinfection relapsed. It thus appears that, at the dose regimen used in this study, Mel Cy might be effective in the treatment of trypanosomosis due to *T. brucei* in dogs.

## INTRODUCTION

*Trypanosoma brucei* infection in dogs is common in the Southeastern part of Nigeria (1, 14) and deadly for them (2, 12, 20). The commonly used drug for chemotherapy is diminazene aceturate at 7 mg/kg body weight but sometimes isometamidium chloride is used at 0.5-1 mg/kg (9, 24, 25). Treatment of the disease with these trypanocides is believed to have a variable success (2, 3, 4, 9, 20). While treatment failures have been associated with parasites which invade the brain, thus escaping the action of drugs which do not cross the blood brain barriers (8, 12), low efficacy of drugs to the emergence of trypanosomal resistance is another serious problem plaguing chemotherapy of trypanosomosis (6), and highlighting the need for new trypanocidal drugs.

Melarsenoxide cysteamine (Mel Cy, Cymelarsan, Rhône Mérieux, France) is a trivalent arsenical compound recently developed for treatment of infections with trypanosomes of the *brucei* group (19). It is related to the drug Arsobal which together with the newly introduced difluoromethylornithine (DFMO) are the only treatments available for the late stage of sleeping sickness in humans

(11). Mel Cy has been shown to be effective against *T. evansi* infection in camels and cattle at dose rates between 0.625 and 1.25 mg/kg (18, 24). Furthermore, it has been shown to be effective against *T. evansi* stocks resistant to quinapyramine and suramin and *T. brucei* stocks resistant to diminazene aceturate (17, 26).

This study was undertaken to determine the effect of Mel Cy against *T. brucei* stocks isolated from dogs in Nsukka area, Nigeria, in the mouse and the dog, the definitive host.

## MATERIALS AND METHODS

### Experimental animals

#### Dogs

Five young local dogs (3 males and 2 females) weighing between 5.5 and 6.5 kg were used for the study. They were kept in fly-proof housing, fed once daily, and water was provided *ad libitum*. Prior to the study, a conditioning period of two weeks was allowed during which time the dogs were dewormed with ivermectin (Ivomec Merck Sharp and Dohme B.V. Haarlem, Holland) at a dosage of 0.2 mg/kg subcutaneously (s.c.) and confirmed parasitologically negative for trypanosomes by wet blood film, Giemsa-stained thin blood smears and the hematocrit buffy coat method (13).

1. Faculty of Veterinary Medicine, University of Nigeria, Nsukka, Nigeria

**Mice**

A total of 65 white albino mice of both sexes were used. They were kept in clean cages in a fly-proof house and were fed and watered *ad libitum*.

**Trypanosome infections**

*Trypanosoma brucei* stocks isolated from clinically infected dogs were used in the study. The trypanosomes were identified morphologically on Giemsa-stained thin film preparations (22). Both the dogs and mice were infected intraperitoneally (i.p.) with  $5 \times 10^5$  trypanosomes per milliliter of saline diluted infected blood. The number of parasites was assessed by the method of Herbert and Lumsden (5).

**Experimental design****Dogs**

After infection, the onset of parasitemia was determined by a daily examination of wet blood film, Giemsa-stained thin blood smears and the hematocrit buffy coat method (13) and subsequently treated in three categories as indicated in table I: one dog (No. 1) was treated after one week, two dogs (Nos. 2 and 3) after two weeks and the two remaining dogs (Nos. 4 and 5) after three weeks of infection with Mel Cy at the dosage of 2.5 mg/kg s.c. daily for two days. Parasite clearance time was established by blood examination at ten minutes' intervals posttreatment. The dogs were monitored for parasitemia (i.e., relapses) every seventh day for 63 days posttreatment.

All the dogs were closely observed throughout the study period for clinical signs. Daily rectal temperatures were recorded and packed cell volume (PCV) and body weights determined weekly for use in the assessment of the drug therapeutic efficacy. Pre-infection parameters were obtained one week before and on the day of infection.

**Mice**

A total of five *T. brucei* stocks isolated from different dogs were used to infect five groups of mice, respectively, then treated with Mel Cy as shown in table II. The drug was administered i.p. as a single dose immediately after reconstitution and appropriate dilution in distilled water to achieve the desired dosage.

Onset of parasitemia, parasite clearance time and parasitemia were also determined as above using tail blood.

**■ RESULTS****Dogs****Clinical findings**

Disease symptoms were apparent only in dogs infected two to three weeks before treatment and included depression, apathy, anorexia, ocular discharge, enlargement of lymph nodes, dullness, anemia, pyrexia ranging from 39 to 40.5°C and edema of the face.

The drug appeared to be well tolerated by the dogs as no untoward effects were noticed following administration.

**Parasitemia**

The dogs were trypanosome positive by 5 to 7 days after inoculation and the parasitemia persisted until treatment one to three weeks after infection (table I). Trypanosomes disappeared from the dogs' blood within 30 min of Mel Cy treatment, followed by the remission of the infection clinical signs. Relapse of parasitemia did not occur in the dogs except in dog No. 2, where it was detected on day 49 after treatment (day 63 after infection).

**Packed cell volume, body weight and temperature**

PCV values are shown in table III. Infection was associated with a decrease in PCV, which was apparent from the second week after infection, but was reversed following treatment. The relapse infection recorded in dog No. 2 (day 63 after infection) also caused a fall in PCV.

Periods of infection and relapse infection were characterized by negative weight gains, while progressive weight gains accompanied Mel Cy treatment (table IV).

Average weekly temperature of the dogs is shown in table V. Both the initial infection and posttreatment relapse (dog No. 2) caused elevation of body temperatures.

**Mice**

The prepatent period of infection for isolated *T. brucei* stocks was 4 to 6 days and parasitemia was thereafter sustained in the absence of treatment (controls) until death. The infected mice response to treatment with varying levels of Mel Cy is shown in table II. Irrespective of doses administered, parasites were cleared from the blood of infected mice within 30 min of treatment in mice treated seven days after infection, whereas clearance was achieved in

Table I

Parasitemia of dogs infected with *Trypanosoma brucei* and treated with Cymelarsan

Dogs	Days after infection													
	-7	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
1	-	-	+*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	+	+*	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
3	-	-	+	+*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	+	+	+*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	+	+	+*	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ : Parasitemia

- : Aparasitemia

\* Treatment with Cymelarsan

-7: One week before infection

0: Day of infection

**Table II**  
Response of *Trypanosoma brucei*-infected mice to treatment with different levels of Cymelarsan

Isolate	Dosage (mg/kg)	Duration of infection before treatment (days)	Period of monitoring (weeks)												
			0*	1	2	3	4	5	6	7	8	9			
I	2.5	7	3/3**	0/3	0/3	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	1/2	1/2	1/2	
	5.0	7	3/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	
	25.0	7	3/3	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	1/2	1/2	1/2	1/2	
	50.0	7	3/3	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	
	2.5	14	3/3	0/3	0/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	
	5.0	14	3/3	0/2	0/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	
	Control			2/2	2/2	2/2	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
	2.5	7	3/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	5.0	7	3/3	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
	2.5	14	3/3	0/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3
5.0	14	3/3	0/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	
Control			2/2	2/2	2/2	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
III	2.5	7	3/3	0/3	0/2	0/2	0/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	
	5.0	7	3/3	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	
	2.5	14	3/3	0/3	1/3	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	
	5.0	14	3/3	0/3	0/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	
	Control			3/3	3/3	2/2	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
IV	2.5	7	3/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	
	5.0	7	3/3	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	
	Control		2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	
V	2.5	14	3/3	0/2	0/2	1/2	1/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	
	5.0	14	3/3	0/3	0/3	0/2	0/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	
	Control		2/2	2/2	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	

\* Day of treatment

\*\* Numerator = The number of mice that relapsed in the treated group

Denominator = The number of mice treated in the group



Table III

Packed cell volume of dogs infected with *Trypanosoma brucei* and treated with Cymelarsan

Dogs	Days after infection													
	-7	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
1	31	31	33*	24	31	31	38	25	31	40	33	38	-	-
2	33	34	35	26*	20	26	35	30	26	36	25	-	-	-
3	32	37	30	28*	34	36	38	36	39	36	40	38	42	-
4	34	32	30	23	28*	32	32	30	36	39	36	46	40	43
5	25	26	29	26	16*	31	38	34	37	39	38	40	34	37

\* Treatment with Cymelarsan

Table IV

Weights (kg) of dogs infected with *Trypanosoma brucei* and treated with Cymelarsan

Dogs	Days after infection													
	-7	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
1	6.5	6.5	6.3*	7.5	7.5	7.5	8.0	8.5	9.0	9.0	10.0	10.0	-	-
2	6.5	6.5	6.5	7.0*	6.0	7.0	7.0	8.0	8.0	8.0	7.5	-	-	-
3	6.5	7.0	7.0	7.0*	6.5	7.0	7.5	8.5	8.5	9.0	9.0	9.5	10.0	-
4	6.0	6.0	7.0	7.0	7.0*	7.0	7.0	7.5	8.0	8.5	8.5	8.5	9.0	9.0
5	5.5	5.5	6.5	6.0	6.0*	6.5	7.0	7.5	8.0	9.5	10.0	10.0	10.5	10.5

\* Treatment with Cymelarsan

Table V

Average weekly temperature (°C) of dogs infected with *Trypanosoma brucei* and treated with Cymelarsan

Dogs	Days after infection													
	-7	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
1	39.0	39.2	39.7*	39.3	38.7	38.3	38.3	38.2	38.3	38.5	38.3	38.2	-	-
2	38.6	38.5	39.5	39.8*	39	38.6	38.6	38.7	38.4	38.6	39.2	-	-	-
3	38.9	38.5	39.0	40.0*	38.6	38.2	38.4	38.5	38.8	39	38.5	38.6	38.4	-
4	38.5	38.6	39.0	39.6	38.2*	38.3	38.6	38.3	38	38.2	38.2	38.4	38.5	38.1
5	38.6	38.4	39.0	39.2	38.5*	38.2	38.4	38.3	38.2	38.8	39.4	38.9	38.7	38.6

\* Treatment with Cymelarsan

40 to 60 min in mice treated 14 days after infection. Relapse occurred in all trypanosome stocks when treatment was administered 14 days postinfection, whereas, apart from trypanosome isolate No. 1, no relapses occurred when treatment was administered 7 days posttreatment within the study period.

## DISCUSSION

Complete clearance of *T. brucei* from the blood of dogs within 30-60 min after treatment with Mel Cy coupled with improvement in the other parameters (temperature, PCV and body weight) have confirmed that the drug was effective within the dosage used. It further showed that the drug acted very fast compared to other trypanocides used in the treatment of trypanosomiasis in dogs such as diminazene aceturate and isometamidium chloride with parasite

clearance time of 24-48 hours (3, 15). Other authors also showed the rapid trypanocidal activity of the drug (trypanocides were destroyed within a few hours) (18, 27). The relapse in dog No. 2 treated two weeks after infection might be associated with some intrinsic factors of that particular dog (6, 16). This is in view of the fact that no relapses occurred in any of the two dogs treated three weeks after infection. An inverse relationship has been established between the duration of infection and the occurrence of relapse (i.e., the longer the infection lingered before treatment, the earlier the relapse) (7, 8). The absence of relapse in the dogs treated after three weeks of infection suggests that Mel Cy might be effective in the treatment of late stage canine *T. brucei* infection. However, results in mice would seem to be contradictory, although only one treatment was applied unlike in the dogs where two consecutive doses were administered. Furthermore, it has been noted that

mouse-sensitivity tests should only serve as a guide to the parasite sensitivity and not be used to predict curative doses for large animals (21).

The clinical signs exhibited by the infected dogs were typical of trypanosomiasis (2, 10, 15). All dogs had rather low PCVs before infection (25) and this could not be associated with poor nutrition or internal parasitism since the dogs were treated for internal parasites before the study started and the feeding was considered adequate. The Mel Cy dose used appeared to be below the toxic or lethal dose for dogs as no clinically noticeable adverse effects were detectable. The dosage increase from 0.25mg/kg recommended for camels to 2.5 mg/kg in the dogs arose out of previous observations where lower doses were ineffective (P. Jeffries, pers.

communic.). Even though no signs of toxicity were seen in the treated five dogs, a more extensive toxicity study in dogs is needed. Higher treatment levels were achieved in cattle when the drug was administered intramuscularly (i.m.) as opposed to subcutaneously (17, 18) because of the greater bioavailability of the drug when administered i.m.. However, i.m. injection of Mel Cy in dogs caused severe swelling at the site of injection which interfered with movement (unpublished data).

### Acknowledgments

This study was supported by the University of Nigeria Senate Research Grant No. 92/62. Cymelarsan was generously supplied by Rhône Mérieux, France.

### REFERENCE

1. ADEWUMI C.O., UZOUKWU M., 1979. Survey of haematozoan parasites of dogs in Enugu and Nsukka Zones of Anambra State of Nigeria. *Niger. vet. J.*, **8**: 4-6.
2. ANENE B.M., 1987. Immunosuppression in canine trypanosomiasis. M.Sc. Thesis, University of Nigeria, Nsukka, Nigeria.
3. ANENE B.M., 1997. Drug resistance and chemotherapy in canine trypanosomiasis. Ph.D. Thesis, University of Nigeria, Nsukka, Nigeria, 173 p.
4. CHUKWU C.C., ANENE B.M., ONUKWI K.O., ANIKA S.M., 1990. Relapse infection after chemotherapy in dogs experimentally infected with *Trypanosoma brucei brucei*. *J. small Anim. Pract.*, **31**: 141-144.
5. HERBERT W.J., LUMSDEN W.H.R., 1976. *Trypanosoma brucei*: a rapid "matching" method for estimating the host's parasitemia. *Exp. Parasitol.*, **40**: 427-431.
6. ILRAD, 1990. Chemotherapy of trypanosomiasis. Report. Nairobi, Kenya, The International Laboratory for Research on Animal Diseases.
7. JENNINGS F.W., URQUHART G.M., MURRAY P.K., MILLER B.M., 1980. Berenil and nitroimidazole combinations in the treatment of *Trypanosoma brucei* infection with CNS involvement. *Int. J. Parasitol.*, **10**: 27-32.
8. JENNINGS F.W., WHITELAW D.D., URQUHART G.M., 1977. The relationship between duration of infection with *Trypanosoma brucei* in mice and the efficacy of chemotherapy. *Parasitology*, **75**: 143-152.
9. KAGGWA E., MUNYUA W.K., MUGERA G.M., 1988. Relapses in dogs experimentally infected with *Trypanosoma brucei* and treated with diminazene aceturate or isometamidium chloride. *Vet. Parasitol.*, **27**: 199-208.
10. LOSOS G.J., IKEDE B.O., 1972. Review of the pathology of the disease in domestic and laboratory animals caused by *Trypanosoma congolense*, *T. vivax*, *T. rhodesiense* and *T. gambiense*. *Vet. Pathol.*, **9**: 1-71.
11. MESHNICK S.R., 1984. The chemotherapy of African trypanosomiasis. In: Mansfield J.M., Ed., Parasitic diseases, Vol. 2, The chemotherapy. New York, NY, USA, Marcel Dekker Inc., p. 165-300.
12. MORRISON W.I., MURRAY M., WHITELAW D.D., SAYER P.D., 1983. Pathology of infection with *Trypanosoma brucei*: Disease syndromes in dogs and cattle resulting from severe tissue damage. In: Gigase P.L., van Marck E.A.E., Eds., From parasitic infection to parasitic disease. *Contrib. Microbiol. Immunol.*, **7**: 103-119.
13. MURRAY M., MURRAY P.K., MCINTYRE W.I.M., 1977. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **71**: 325-326.
14. OMEMEGBE J.O., ORAJAKA L.J.E., EMEHELU C.O., 1984 The incidence and clinical forms of naturally occurring canine trypanosomiasis in two veterinary clinics in Anambra State of Nigeria. *Bull. Anim. Health Prod. Afr.*, **32**: 23-29.
15. ONYEYILI P.A., ANIKA S.M., 1989. Chemotherapy of *Trypanosoma brucei brucei* infections: use of DFMO, diminazene aceturate alone and in combination. *J. small Anim. Pract.*, **30**: 505-510.
16. OSMAN A.S., JENNINGS F.W., HOLMES P.H., 1992. The rapid development of drug resistance by *Trypanosoma evansi* in immunosuppressed mice. *Acta trop.*, **50**: 249-257.
17. PAYNE R.C., SUKANTO I.P., PARTOUTOMO S., JONES T.W., 1994. Efficacy of Cymelarsan treatment of suramin resistant *Trypanosoma evansi* in cattle. *Trop. Anim. Health Prod.*, **26**: 92-94.
18. PAYNE R.C., SUKANTO I.P., PARTOUTOMO S., JONES T.W., LUCKINGS A.G., BOID R., 1994. Efficacy of Cymelarsan in Friesian Holstein calves infected with *Trypanosoma evansi*. *Trop. Anim. Health Prod.*, **26**: 219-226.
19. RAYNAUD J.P., SONES K.R., FRIEDHEIM E.A.H., 1989. A review of Cymelarsan: a new treatment proposed for animal trypanosomiasis due to *T. evansi* and other trypanosomes of the *T. brucei* group. In: 20th Meeting of the International Scientific Council for Trypanosomiasis Research and Control, Mombasa, Kenya, 10-14 April 1989. Nairobi, Kenya, OAU/STRC, p. 495-497. (No. 115)
20. SAYER P.G., MORRISON W.I., PRESTON J.M., HIRD S.F., PRICE J.E., MURRAY M., 1979. African trypanosomiasis in the dog. In: 15th Meeting of the International Scientific Council for Trypanosomiasis Research and Control, Banjul, The Gambia, 1977. Nairobi, Kenya, OAU/STRC, p. 489-496.
21. SONES K.R., NJOGU A.R., HOLMES P.H., 1988. Assessment of sensitivity of *Trypanosoma congolense* to isometamidium chloride: a comparison of tests using cattle and mice. *Acta trop.*, **45**: 153-164.
22. SOULSBY E.J.L., 1982. Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals, 7th ed. London, UK, Bailliere Tindall, p. 530.
23. TAGER-KAGAN P., ITARD J., CLAIR M., 1989. Essai de l'efficacité du Cymelarsan sur *Trypanosoma evansi* chez le dromadaire. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **42**: 55-61.
24. TOURE S.M., 1970. Le prothidium et l'isoméamidium dans le traitement de la trypanosomiase du chien à *Trypanosoma brucei*. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **23**: 321-326.
25. UGOCHUKWU E.I., 1983. Haematological parameters of dogs with natural infection of trypanosomiasis. *Bull. Anim. Health Prod. Afr.*, **31**: 151-155.
26. WILLIAMSON J., 1970. Review of chemotherapeutic and chemoprophylactic agents. In: Mulligan H.W., Ed. The African trypanosomiasis. New York, NY, USA, John Wiley and Sons, p. 125-221.
27. ZWEYGARTH E., KAMINSKY R., 1990. Evaluation of an arsenical compound (RM 110, Mel Cy, Cymelarsan) against susceptible and drug-resistant *Trypanosoma brucei* and *T. b. evansi*. *Trop. Med. Parasitol.*, **41**: 208-212.

Reçu le 23.2.99, accepté le 13.9.99

**Résumé**

**Anene B.M., Ogbuanya C.E., Mbah E.S., Ezeokonkwo R.C.**  
Essais préliminaires pour tester l'efficacité de Cymelarsan chez des chiens et des souris infectés artificiellement par *Trypanosoma brucei* isolé de chiens au Nigeria

L'efficacité de Mel Cy (Cymelarsan, Rhône Mérieux, France) contre *Trypanosoma brucei* isolé de chiens a été étudiée chez des souris et des chiens infectés expérimentalement. Les souris ont été infectées avec des parasites prélevés sur cinq chiens, puis traitées une fois par voie intrapéritonéale avec Mel Cy aux doses de 2,5 et 5,0 mg/kg, sept et 14 jours après l'infection, pour obtenir des indications sur la sensibilité du parasite au produit. Une récurrence de la parasitémie a été observée chez tous les lots de souris traitées 14 jours après l'infection, alors que presque toutes les souris traitées sept jours après l'infection n'ont pas présenté de parasitémie pendant la période d'observation de 63 jours. Cinq chiens ont été infectés avec une souche du parasite, puis traités les jours postinfection suivants : j7 (un chien), j14 (deux chiens) et j21 (deux chiens) à la dose de 2,5 mg/kg, par voie sous-cutanée et pendant deux jours consécutifs. Suite au traitement avec Mel Cy, des améliorations dans la condition clinique des chiens ainsi que des gains de poids ont été enregistrés. Une récurrence de l'infection n'a été observée que dans l'un des deux chiens traités 14 jours postinfection. La parasitémie n'a été récurrente ni chez le chien traité sept jours postinfection ni chez ceux traités 21 jours postinfection. Il semble donc que Mel Cy soit efficace, aux doses utilisées dans cette étude, pour traiter la trypanosomose à *T. brucei* chez les chiens.

**Mots-clés :** Chien - Souris - *Trypanosoma brucei* - Cymelarsan - Trypanocide - Infection expérimentale - Nigeria.

**Resumen**

**Anene B.M., Ogbuanya C.E., Mbah E.S., Ezeokonkwo R.C.**  
Ensayo preliminar sobre la eficiencia de Cymelarsan en perros y ratones infectados en forma artificial con *Trypanosoma brucei* aislado en perros en Nigeria

La eficiencia de Mel Cy (Cymelarsan, Rhône Mérieux, France) contra *Trypanosoma brucei* aislado en perros fue estudiada en ratones y perros infectados en forma experimental. Los ratones fueron infectados con parásitos recolectados en cinco perros diferentes y tratados una vez, intraperitonealmente, con Mel Cy a una dosis de 2,5 y 5,0 mg/kg, 7 y 14 días después de la infección, esto con el fin de proporcionar un índice de la sensibilidad parasitaria. La recaída de la parasitemia se presentó en todos los grupos de ratones tratados 14 días post infección, mientras que casi todos los ratones tratados 7 días después de la infección permanecieron parasitológicamente negativos durante los 63 días del período de observación. Cinco de los perros fueron infectados con un lote del parásito y luego tratados en los siguientes días post infección: día 7 (un perro), día 14 (dos perros) y día 21 (dos perros) a una dosis sub cutánea de 2,5 mg/kg, en dos días consecutivos. Después del tratamiento con Mel Cy, se observaron mejoras en la condición clínica, así como ganancias de peso en los perros. Se presentó solamente una recaída en uno de los dos perros tratados 14 días post infección. Sin embargo, ni el perro tratado al día 7 ni los tratados al día 21 después de la infección recayeron. Por lo tanto parece que, al régimen de dosis utilizado en este estudio, el Mel Cy puede ser efectivo para el tratamiento de la tripanosomosis en perros debida a *T. brucei*.

**Palabras clave:** Perro - Raton - *Trypanosoma brucei* - Cymelarsan - Trypanocide - Infección experimental - Nigeria.

# Sensitivity to diminazene aceturate and isometamidium chloride of trypanosomes isolated from dogs in Nsukka area, Nigeria

B.M. Anene<sup>1\*</sup> C.C. Chukwu<sup>1</sup> S.M. Anika<sup>2</sup>

## Key words

Dog - *Trypanosoma brucei* - *Trypanosoma congolense* - Drugs - Resistance to chemicals - Nigeria.

## Summary

Trypanosome sensitivity to diminazene aceturate (Berenil) and isometamidium chloride (Samorin) was evaluated at two dose levels each (7 and 14 mg, and 0.25 and 0.5 mg/kg body weight, respectively) in mice infected by syringe. The trypanosomes had been isolated from clinically infected dogs taken to the University of Nigeria Veterinary Teaching Hospital (UNVTH), Nsukka, Enugu State, Nigeria. Six and eight of the 11 infected blood samples tested (10 with *Trypanosoma brucei*, one with mixed *T. brucei* and *T. congolense*) contained parasites that expressed various levels of resistance to Berenil and Samorin, respectively. Thus, three and five infected blood samples contained parasites that were considered to have low levels of resistance to Berenil and Samorin, respectively, while three samples each contained parasites that expressed moderate to high levels of resistance to the trypanocides. This trypanosome resistance to standard treatment doses of trypanocides portends serious danger to an effective chemotherapy of trypanosomosis in dogs of the area.

## INTRODUCTION

Trypanosomosis due to *Trypanosoma brucei* and *T. congolense* is a major health problem of dogs in the Nsukka area of Nigeria (10). The clinical and pathological manifestations of the disease have been described in detail (4, 7). Currently, drug control of trypanosomosis is hampered by the emergence of parasites resistant to standard trypanocides (2).

The aim of this study was to evaluate the sensitivity of trypanosomes isolated from dogs in the Nsukka area to the standard recommended doses of diminazene aceturate and isometamidium chloride, the two most widely used trypanocides in the area (1).

## MATERIALS AND METHODS

Infected blood samples were collected from clinical cases presented to the University of Nigeria Veterinary Teaching Hospital (UNVTH) between August 1992 and March 1994. Blood

examination for trypanosomes was done by wet blood film, hematocrit buffy coat examination (8) and Giemsa-stained thin film. Trypanosome species were identified by their morphological characteristics on Giemsa-stained thin blood film preparations (12). The infection and treatment method was essentially used as described by Williamson and Stephen (14) to characterize the drug sensitivities of the isolated trypanosomes. Each infected blood sample was tested using 14 mice infected intraperitoneally (i.p.) with 10 µl of saline diluted with freshly-collected infected dog blood containing 10<sup>5</sup> trypanosomes. The mice were kept in clean cages in a fly-proof house, and feed and water were supplied *ad libitum*. On day five postinfection, when parasitemia was established based on wet film and hematocrit buffy coat examination (8), they were divided into three treatment groups. In group 1 two mice served as control; in group 2 six mice were treated with diminazene aceturate (Berenil), three at a dose of 7 mg/kg i.p. and three at 14 mg/kg i.p.; and in group 3 six mice were similarly divided, but treated with isometamidium chloride (Samorin) at doses of 0.25 and 0.5 mg/kg. Thereafter, the tail blood of the mouse was examined weekly for parasitemia until day 60 posttreatment (14) by the wet film and buffy coat technique. If parasitemia disappeared completely (i.e., no relapse), then the parasite was regarded as susceptible, while it was considered resistant if after treatment there was a relapse. The potency of the batches of diminazene aceturate and isometamidium chloride used was tested on a known drug sensitive organism.

1. Department of Veterinary Medicine, University of Nigeria, Nsukka, Nigeria  
E-mail: Misunn@aol.com (attention: Dr. B.M. Anene)

2. Department of Veterinary Physiology and Pharmacology, University of Nigeria, Nsukka, Nigeria

\* Corresponding author



## ■ RESULTS

The prepatent period of infection was four to five days. The positive controls were readily sensitive to drug treatments thus proving the potency of the batches of trypanocide used. Eleven infected blood samples were examined comprising ten single *Trypanosoma brucei* and one mixed *T. brucei* and *T. congolense*. The trypanocidal susceptibility of the trypanosomes isolated are shown in table I. Relapses of the parasitemia were found in 8 of the 11 blood samples tested with one or both trypanocides used. Thus, there was a relapse in two blood samples that concerned the use of isometamidium chloride alone, and in six samples that concerned both diminazene aceturate and isometamidium chloride at different dose levels. With diminazene aceturate, relapse of parasitemia was observed in six samples, three at both the lower (7 mg/kg) and higher (14 mg/kg) dose levels, the remaining three at the lower dose level only. Similarly, parasitemia from three of the infected blood samples relapsed at both dose levels of isometamidium chloride (0.25 and 0.5 mg/kg), while that of the remaining five relapsed only at the lower dose level.

## ■ DISCUSSION

The results show that a considerable proportion of the studied trypanosomes resisted the therapeutic activities of diminazene aceturate and isometamidium chloride. The sensitivity of the trypanosomes to both trypanocides varied, with relapses occurring at different times and at various drug levels. Relapse of parasitemia at the lower drug doses was associated with a low level resistance of the parasites. On the other hand, parasites that resisted the higher doses were considered to be moderately to highly resistant to the drugs. Varying levels of drug sensitivity among trypanosome populations are known to affect the efficacy of chemotherapeutic agents (11).

The results further show that the application of the concept of a sanative pair—thus named because trypanosomes are not usually resistant to both trypanocides (13)—as a strategy to combat resistance in the area may be ineffective in view of the multiple resistance expressed by some of the trypanosomes to both diminazene aceturate and isometamidium chloride. Similar observations have been recorded by other workers from different parts of Africa (2, 5, 9). Furthermore, with a significant proportion of isolated trypanosomes expressing a high level of resistance to diminazene aceturate (the most common chemotherapeutic drug), the application of a high-dose treatment to forestall drug resistance (3) will be highly hazardous since diminazene aceturate has a narrow safety margin and is notably toxic in dogs (6).

## ■ CONCLUSION

It has been demonstrated that a number of trypanosomes (mainly *T. brucei*) isolated from clinically infected dogs presented to the UNVTH, Nsukka, Nigeria, resisted the normal therapeutic doses of diminazene aceturate and isometamidium chloride. This phenomenon poses a great danger to an effective chemotherapy of canine trypanosomiasis in the area and highlights the need for a concerted effort on strategies to combat trypanocidal resistance before widespread treatments breakdown.

## Acknowledgments

This study was supported by the University of Nigeria Senate Research Grant No. 92/62.

Table I

Susceptibility of trypanosomes, isolated from dogs in Nsukka area, to diminazene aceturate and isometamidium chloride

TS	Drugs		Days between treatment and relapse - mean	Remarks
	Name	Dose (mg/kg body weight)		
Tb + Tc	Berenil	7.0	30	Low multiple resistance
		14.0	A	
	Samorin	0.25 0.5	16 A	
Tb	Berenil	7.0	A	Susceptible to Berenil and Samorin
		14.0	A	
	Samorin	0.25	A	
		0.5	A	
			A	
Tb	Berenil	7.0	53	Multiple resistance, moderate
		14.0	A	
	Samorin	0.25	19	
		0.5	26	
Tb	Berenil	7.0	53	Multiple resistance, high
		14.0	58	
	Samorin	0.25	35	
		0.5	56	
Tb	Berenil	7.0	A	Susceptible to Berenil, resistant to Samorin, low
		14.0	A	
	Samorin	0.25	42	
		0.5	A	
Tb	Berenil	7.0	44	Multiple resistance, low
		14.0	A	
	Samorin	0.25	28	
		0.5	A	
Tb	Berenil	7.0	28	Multiple resistance, high
		14.0	55	
	Samorin	0.25	26	
		0.5	37	
Tb	Berenil	7.0	A	Susceptible to Berenil and Samorin
		14.0	A	
	Samorin	0.25	A	
		0.5	A	
Tb	Berenil	7.0	28	Multiple resistance, moderate
		14.0	56	
	Samorin	0.25	26	
		0.5	A	
Tb	Berenil	7.0	A	Susceptible to Berenil and Samorin
		14.0	A	
	Samorin	0.25	A	
		0.5	A	
Tb	Berenil	7.0	A	Susceptible to Berenil, resistant to Samorin, low
		14.0	A	
	Samorin	0.25	42	
		0.5	A	

TS = trypanosome species

A = aparasitemia

Tb = *Trypanosoma brucei*

Tc = *Trypanosoma congolense*

## REFERENCES

1. ANENE B.M., OMAMEGBE J.O., 1987. Common diseases of dogs in Nigeria. *Zariya vet.*, **2**: 46-55.
2. AUTHIE E., 1984. Mise en évidence d'une résistance aux trypanocides parmi des souches de *Trypanosoma congolense* récemment isolées au Burkina. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **37** : 219-235.
3. BISWAS R.K., HUNTER A.G., 1993. Effect of stage of infection with *Trypanosoma evansi* on Cymelarsan therapy. *Trop. Anim. Health Prod.*, **25**: 223-224.
4. KAGGWA E., MUNYA W.K., MUGERA G.M., 1984. Pathogenicity of *Trypanosoma brucei brucei* in dogs. *Bull. Anim. Health Prod. Afr.*, **32**: 360-368.
5. KALU A.U., 1995. Studies on the chemotherapeutic control of animal trypanosomiasis in Nigeria. *Stud. Res. vet. Med.*, **82**-92.
6. LOSOS G.J., CROCKETT E., 1969. Toxicity of Berenil in dogs. *Vet. Rec.*, **85**: 196.
7. MORRIS W.I., MURRAY M., WHITELAW D.D., SAYER P.D., 1983. Pathology of infection with *Trypanosoma brucei*: disease syndromes in dogs and cattle resulting from severe tissue damage. In: Gigase P.L., van Marok E.A.E., Eds. From parasitic infection to parasitic disease. *Contrib. Microbiol. Immunol.*, **7**: 103-119.
8. MURRAY M., MURRAY P.K., MCINTYRE W.I.M., 1977. Improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **75**: 325-326.
9. NJOKU A.R., HEATH B.R., 1986. Multiple drug resistance in *Trypanosoma vivax* in Kenya. *Vet. Rec.*, **118**: 133-134.
10. OMAMEGBE J.O., ORAJAKA L.J.E., EMEHELU C.O., 1984. The incidence and clinical forms of naturally occurring canine trypanosomiasis in two veterinary clinics in Anambra State of Nigeria. *Bull. Anim. Health Prod. Afr.*, **32**: 23-29.
11. PEREGRINE A.S., KNOWLES G., IBITAYO A.I., SCOTT J.R., MOLOO S.K., MURPHY N.R., 1991. Variation in resistance to isometamidium chloride and diminazene aceturate by clones derived from a stock of *Trypanosoma congolense*. *Parasitology*, **102**: 93-100.
12. SOULSBY E.J.L., 1982. Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals, 7th ed. London, UK, Bailliere Tindall.
13. STEPHEN L.E., 1986. Trypanosomiasis, a veterinary perspective. Oxford, UK, Pergamon Press, p. 355.
14. WILLIAMSON J., STEPHEN L.E., 1960. A test for drug resistant trypanosomes in experimental test fly challenge of cattle. *Ann. trop. Med. Parasitol.*, **54**: 366.

Reçu le 24.4.98, accepté le 22.7.99

**Résumé**

**Anene B.M., Chukwu C.C., Anika S.M.** Sensibilité à l'acéturate de diminazène et au chlorure d'isoméamidium de trypanosomes isolés de chiens dans la région de Nsukka, Nigeria

La sensibilité de trypanosomes à l'acéturate de diminazène (Bérenil) et au chlorure d'isoméamidium (Samorin) a été évaluée à deux doses différentes pour chacun des produits (respectivement 7 et 14 mg/kg de poids corporel, et 0,25 et 0,5 mg/kg de poids corporel) chez des souris infectées par voie intrapéritonéale. Les trypanosomes avaient été isolés de chiens cliniquement infectés, après qu'ils aient été amenés à l'hôpital de l'Ecole vétérinaire de l'Université du Nigeria à Nsukka, Etat d'Enugu, Nigeria. Sur les 11 échantillons sanguins infectés testés (10 par *Trypanosoma brucei* et un seul à la fois par *T. brucei* et *T. congolense*), six et huit contenaient des parasites qui ont présenté des niveaux de résistance différents respectivement au Bérenil et au Samorin. Ainsi, trois et cinq échantillons sanguins infectés contenaient des parasites considérés comme ayant un faible niveau de résistance respectivement au Bérenil et au Samorin, alors que trois échantillons pour chacun des produits contenaient des parasites présentant des niveaux de résistance aux trypanocides modérés à importants. Cette résistance des trypanosomes aux doses standard de traitement par les trypanocides laisse présager de sérieux problèmes lors de la réalisation d'une chimiothérapie efficace contre la trypanosomose chez les chiens de cette région.

**Mots-clés** : Chien - *Trypanosoma brucei* - *Trypanosoma congolense* - Médicament - Résistance aux produits chimiques - Nigeria.

**Resumen**

**Anene B.M., Chukwu C.C., Anika S.M.** Sensitividad al aceturato de diminaceno y al cloridio de isometamidio de tripanosomas aislados en perros en Nsukka, Nigeria

Se evaluó la sensibilidad al aceturato de diminaceno (Berenil) y al cloridio de isometamidio (Samorin), ambos a dos niveles diferentes de dosis (7 y 14 mg y 0,25 y 0,5 mg/kg de peso corporal, respectivamente), en ratones infectados mediante una jeringa. Los tripanosomas fueron aislados en perros infectados clínicamente, presentes en el Hospital de Enseñanza Veterinaria de la Universidad de Nigeria (UNVTH), Nsukka, Estado de Enugu, Nigeria. Seis y ocho de las 11 muestras de sangre infectada que se estudiaron (10 con *Trypanosoma brucei*, una con una mezcla de *T. brucei* y *T. congolense*) contenían parásitos que presentaron varios niveles de resistencia al Berenil y al Samorin, respectivamente. Por lo tanto, tres y cinco muestras de sangre infectada contenían parásitos que fueron considerados como poseedores de un nivel bajo de resistencia al Berenil y al Samorin, respectivamente, y tres muestras de ambos contenían parásitos que presentaron niveles de resistencia de moderados a altos a los tripanocidas. Esta resistencia del tripanosoma a dosis terapéuticas estándar de tripanocidas presagia un serio peligro para la quimioterapia efectiva de la tripanosomosis en perros en el área.

**Palabras clave**: Perro - *Trypanosoma brucei* - *Trypanosoma congolense* - Medicamento - Resistencia a productos químicos - Nigeria.

Note de lecture

## Tsetse Biology and Ecology. Their Role in the Epidemiology and Control of Trypanosomosis

S.G.A. Leak

□ Les glossines, ou mouches tsé-tsé (Diptera : Glossinidae), sont des insectes qui transmettent des trypanosomes (Kinetoplastida : Trypanosomatidae), protozoaires parasites flagellés responsables en particulier des trypanosomoses animales (ou « nagana ») et de la trypanosomose humaine (ou « maladie du sommeil ») en Afrique intertropicale. Le tryptique de ce système parasitaire est donc constitué du parasite (trypanosome), du vecteur (glossine) qui transmet et des victimes (hommes ou animaux domestiques) qui subissent. Les pertes directes annuelles résultant des trypanosomoses animales sont estimées entre 500 millions et plus d'un milliard de dollars ; il faut leur ajouter les pertes indirectes, souvent difficiles à quantifier. La maladie du sommeil chez l'homme concerne plus de 60 millions de personnes exposées et 300 000 nouveaux cas annuels sont rapportés selon les dernières statistiques officielles (Oms, 1998).

L'ouvrage de Stephen Leak vient rappeler l'importance de ces affections, insistant plus particulièrement sur le second acteur du cycle, la glossine. L'auteur remet à jour des connaissances acquises depuis le début du siècle sur la biologie et l'écologie des mouches tsé-tsé (première partie), sur l'historique et la description de l'épidémiologie des trypanosomoses (deuxième partie) et les moyens de les contrôler (troisième et quatrième parties). L'expérience de l'auteur a été essentiellement acquise en Afrique de l'Est, en Zambie, puis au

Kenya dans le cadre de l'Itri et en partie en Afrique centrale ces 15 dernières années. Il a surtout travaillé sur les aspects entomologiques et sur la lutte anti-glossinienne, plus particulièrement dans le domaine des trypanosomoses animales. Ceci se retrouve dans le texte, en définitive beaucoup plus orienté sur l'aspect vétérinaire que médical de ces maladies. La bibliographie est abondante et surprend agréablement par son nombre appréciable de références francophones dont beaucoup de la *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*.

La description de la biologie des tsé-tsé est abordée de manière traditionnelle par la présentation de la classification, suivie de l'anatomie, puis des aspects biologiques et physiologiques, ces derniers étant traités de manière assez approfondie. Les données génétiques ne sont qu'évoquées, tandis que la description des méthodes d'échantillonnage des populations de glossines est assez complète. L'écologie des glossines est présentée avec la description des habitats, les aspects de leur comportement, de la dynamique des populations et des réactions des mouches aux attractifs olfactifs. Le sujet abordé étant évidemment très vaste, l'auteur se limite aux espèces les plus importantes économiquement en raison de leur rôle de vecteur. Une tendance à généraliser des résultats obtenus en Afrique de l'Est sur les glossines du groupe *morsitans* en les reportant sur d'autres espèces dans d'autres localités (méthodes de capture, dispersion) apparaît de temps à autre.

La partie Epidémiologie aborde de manière assez complète les phénomènes de capacité et de compétence vectorielle et les relations entre le trypanosome et la glossine, avec un ensemble de facteurs intervenant dans l'établissement de l'infection ; des données intéressantes, car peu fréquentes, sont présentées sur la distribution des parasites dans la faune sauvage de certains pays. L'épidémiologie de la maladie du sommeil est décrite avec un côté historique prédominant, mais plusieurs aspects mériteraient d'être approfondis ; on note l'oubli de certains éminents précurseurs dans les actions réalisées pour lutter contre cette endémie en Afrique occidentale et centrale (les Drs E. Jamot ou P. Richet, par exemple). Peu d'éléments sont donnés sur l'épidémiologie moléculaire de *Trypanosoma brucei* qui a pourtant fait l'objet de beaucoup de travaux ces quinze dernières années.

L'épidémiologie de la trypanosomose animale est ensuite abordée de manière assez complète, avec notamment une discussion intéressante sur la transmission mécanique. L'auteur préfère développer les différentes tentatives de modélisation de l'épidémiologie, plutôt que les aspects diagnostics, traités de manière moins exhaustive.

De manière générale, dans cette partie Epidémiologie l'auteur s'est plutôt attardé aux aspects historiques et l'on peut regretter que les méthodologies récentes (spatialisation des données, techniques moléculaires) n'aient été abordées que succinctement.

Les deux dernières parties de l'ouvrage (qui auraient pu n'en faire qu'une) traitent du contrôle des trypanosomoses, essentiellement de la lutte anti-vectorielle, avec un accent important mis sur les traitements insecticides (terrestres ou aériens). La technique de contrôle des glossines par les lâchers de mâles rendus stériles par irradiation (SIT : *sterile insect technique*) est abordée. Il est dommage que l'auteur n'ait eu connaissance que d'une partie de l'opération (il parle d'une éradication des tsé-tsé de la zone de Sidéradougou sur 100 km<sup>2</sup>), alors que les travaux menés sur plusieurs années dans cette zone de Sidéradougou avaient atteint l'objectif d'éradication des trois espèces de glossines présentes dans la zone (3 500 km<sup>2</sup>) et ce, pour la première fois au monde par cette technique (Cuisance et Politzar, 1984).

En conclusion, il faut reconnaître que l'ouvrage reste bien documenté, il traite de manière assez générale des glossines et de leur importance comme vecteur des trypanosomoses en Afrique subsaharienne. Il est à recommander à des étudiants ou des non-spécialistes qui y trouveront beaucoup d'informations ; les spécialistes du domaine seront sans doute intéressés par des aspects historiques généralement difficiles à retrouver dans la littérature.

Philippe SOLANO  
Ird

S.G.A. Leak, 1999. Tsetse Biology and Ecology. Their Role in the Epidemiology and Control of Trypanosomosis, 156 p., £65. CAB International, Wallingford, Oxon OX10 8DE, UK.  
Fax: +44 149 182 60 90 ; E-mail : orders@cabi.org

# Phosphates naturels et alimentation du bétail en zone sahélienne

## I. Influence sur la santé et la croissance du zébu Gobra

S.T. Fall<sup>1</sup> G. Sawadogo<sup>2</sup> M. Diop<sup>1</sup>

### Mots-clés

Bovin - Zébu Gobra - Phosphate naturel - Complémentation - Pâturage - Sahel - Sénégal.

### Résumé

Pour préciser le mode d'utilisation des phosphates naturels en alimentation animale, deux essais ont été menés au Sénégal. Des zébus Gobra ont été supplémentés avec le phosphate de Taiba (TAP 3 à 4 p. 100 matière sèche de fluor) et celui de Thiès (THP 0,8 à 1 p. 100 MS de fluor), à Dahra et en milieu contrôlé à Sangalcam, au Sénégal en zone sahélienne. Dans l'essai 1, la supplémentation des zébus Gobra a été effectuée sur pâturage naturel au Crz de Dahra pendant trois ans. Les doses appliquées étaient de 50 g de phosphate de Taiba, selon les modes continu et discontinu, respectivement pour les lots 1 et 2 (pour ce dernier lot, la distribution selon le mode discontinu a été abandonnée dans le courant de la deuxième année par suite d'une faible ingestion de phosphate). Elles étaient de 50 et de 100 g de phosphate de Thiès respectivement pour les lots 3 et 4 et de 65 g de poudre d'os pour le lot 5, selon un mode continu pour l'ensemble des lots. Le lot 6 témoin n'a reçu aucun supplément. Les animaux ont été supplémentés en saison sèche pendant huit à neuf mois par an (entre octobre et juin). Dans l'essai 2, quatre lots ont été supplémentés en milieu contrôlé pendant neuf mois. Les bovins ont reçu 50 g de TAP en mode continu, 50 g de TAP en mode discontinu et 200 g de THP en mode continu respectivement pour les lots 1, 2 et 3. Ces animaux ont été comparés au lot 4 témoin non supplémenté. Pour les deux essais, les mesures concernaient le contrôle quotidien de la consommation des phosphates, le suivi pondéral par une double pesée mensuelle des lots et des examens cliniques portant sur l'état général, l'appareil locomoteur et les dents pour détecter les signes de fluorose. Un contrôle biochimique a porté sur l'analyse de la phosphatémie et de la fluorurie. Les résultats ont mis en évidence une bonne tolérance des doses appliquées. L'influence de la supplémentation minérale sur la croissance des animaux n'a cependant pas été significative ( $P < 0,05$ ). L'innocuité du produit permet de suggérer un test de longue durée en milieu éleveur, plus propice à une démonstration de l'effet bénéfique de la supplémentation minérale sur les performances zootechniques du zébu Gobra.

### ■ INTRODUCTION

Les carences minérales figurent parmi les principales causes de maladies et de baisses de production en zone sahélienne. L'aphosphorose en particulier est l'étiologie primitive de maladies infectieuses comme le botulisme (3), de fractures, et de troubles de la consommation et de la reproduction, très répandus dans ces régions.

Les déséquilibres en minéraux sont rapportés dans beaucoup de pays tropicaux (7). Au Sénégal, des recherches ont été menées dans ce domaine depuis les années 60, dans la principale zone d'élevage, le Ferlo. Une synthèse d'études cliniques et biochimiques a permis de mettre en évidence des carences en phosphore (3), sodium, cuivre et zinc (14).

La complémentation minérale en général et phosphocalcique en particulier est donc une nécessité pour améliorer la santé et la productivité des troupeaux (8, 11, 12). Cependant, les compléments minéraux sont chers et peu accessibles dans les zones d'élevage.

Les phosphates naturels sont une source potentielle de calcium et de phosphore. Ils sont disponibles dans la plupart des pays du Sahel dans des mines peu profondes. Leur utilisation en alimentation du

1. Institut sénégalais des recherches agricoles, Laboratoire national d'élevage et de recherches vétérinaires, BP 2057, Dakar, Sénégal

2. Ecole inter-Etats des sciences et médecines vétérinaires, Service de chimie et biophysique médicales, BP 5077, Dakar, Sénégal



bétail peut être limitée par un rapport phospho/calciq ue non optimal, une digestibilité médiocre (4, 15, 17) et surtout une teneur en fluor élevée qui risque de provoquer la fluorose chez les animaux qui les consomment (6, 7, 20, 29).

Les premiers essais d'utilisation des phosphates naturels datent du début du siècle aux Etats-Unis. Les résultats rapportés ont souvent été contradictoires. En Afrique, les phosphates ont été déclarés toxiques et dangereux (5) (Velu, 1933, laboratoire du Service d'élevage du Maroc). Au contraire, Calvet et coll. (2), Lerman et coll. (communic.) et la Société des minerais de Thiès (Smt) (28) ont rapporté une parfaite tolérance du produit. Serres et Bertaudières ont mis en évidence l'influence du type de phosphate et du mode de distribution sur leur tolérance par les bovins au Tchad (26).

L'efficacité zootechnique des phosphates naturels fait également l'objet de controverses. Pour Calvet et coll. (2) le phosphate ferro-alumino-calciq ue est moins efficace que le phosphate bicalciq ue, alors que Lerman (communic.) et la Smt (28) rapportent une équivalence entre les deux compléments minéraux. Le phosphate ferro-alumino-calciq ue ou polyphos est commercialisé aujourd'hui en Afrique et en Europe.

Pour définir les méthodes d'utilisation des phosphates naturels comme supplément minéral pour les ruminants et examiner leur efficacité zootechnique sur le zébu Gobra, des expériences de supplémentation du zébu Gobra ont été menées au Crz de Dahra (nord-est du Sénégal) et à Sangalcam (région du Cap-Vert, Sénégal) de 1987 à 1990. L'objectif a été d'étudier les caractéristiques biochimiques de minerais de phosphates naturels disponibles au Sénégal en vue de définir des méthodes optimales de leur utilisation dans la prévention des carences en phosphore. Pour cela, les éléments suivants ont été étudiés :

- la dose quotidienne optimale de phosphates naturels de Taiba et de Thiès et la durée limite de complémentation pour des zébus Gobra ;
- le mode et la périodicité de distribution les plus appropriés ;
- l'influence de ces phosphates naturels sur l'évolution pondérale de taurillons Gobra et l'évaluation des risques de toxicité du fluor.

## ■ MATERIEL ET METHODES

### *Le site expérimental*

Les expériences se sont déroulées en milieu naturel au Centre de recherches zootechniques de Dahra situé dans le sud-ouest du Ferlo, la zone d'élevage principale du Sénégal. C'est une zone

sahélienne typique avec une longue saison sèche de 9 à 10 mois (entre octobre et juin) et une courte saison humide de 2 à 3 mois et demi (entre juillet et octobre). La pluviométrie a varié de 470 (en 1987) à 225 mm en 1990. Les sols du Ferlo sont pauvres en éléments nutritifs et en minéraux en particulier (3). Du point de vue ressources en eau, il y a des mares temporaires à durée de vie très courte pendant la période hivernale et post-hivernale, des puits traditionnels peu profonds et surtout des forages profonds qui abreuv ent les troupeaux pendant la majeure partie de l'année. Leurs eaux sont également pauvres en minéraux (13). Lors de la deuxième année d'expérience, pour mieux surveiller la consommation de phosphates, des lots ont été mis en stabulation à Sangalcam, une station de l'Isra située dans la banlieue de Dakar.

### *Le plan expérimental*

#### *Les animaux et leur alimentation*

##### ■ Essai 1

En milieu extensif, 78 taurillons de race Gobra âgés d'un à deux ans et d'un poids moyen de 140 kg ont été déparasités, identifiés et vaccinés contre la peste bovine, la péripneumonie contagieuse bovine et le botulisme, puis divisés en six lots de 13 chacun. Leur alimentation était uniquement basée sur le pâturage naturel. Ils ont été maintenus dans la parcelle A de juin 1987 à janvier 1989. D'une superficie de 429 hectares, la biomasse disponible en novembre 1987 a été de 1 270 kg/ha. Pour augmenter la charge et exacerber le besoin en phosphore, le troupeau a été transféré sur les parcelles 8 et 9 (130 ha) à partir de janvier 1989. L'essai a duré trois ans (de juin 1987 à juin 1990). Les animaux ont été abreuvés deux fois par jour en moyenne. Le complément minéral a été distribué pendant la saison sèche (d'octobre à juin), le matin à jeun entre 9 et 12 h selon le plan expérimental décrit au tableau I. Une distribution directe, sans contention a été faite, dans des récipients individuels, après attache au piquet. Pour augmenter l'appétibilité des phosphates, différents condiments lui ont été associés à raison de 20 g mélangés à la dose quotidienne. La mélasse, le sel (chlorure de sodium), le son de blé et la graine de coton ont été comparés. L'utilisation de ces supports pendant une semaine chacun a permis de sélectionner la mélasse comme le condiment le mieux accepté par les animaux. Les apports de minéraux sont décrits au tableau II.

##### ■ Essai 2

En milieu contrôlé, 40 veaux sevrés et 40 taureaux mâles adultes de race Gobra, ayant subi les traitements préliminaires (déparasitage et vaccinations), ont été divisés en quatre lots mis en stabulation à Sangalcam. Ils ont reçu de la fane d'arachide de juillet à

Tableau I  
Distribution de minéraux en milieu extensif (Dahra)

Lots	I	II	III	IV	V	VI (témoin)
Complément Minéral	Phosphate de Taiba	Phosphate de Taiba	Phosphate de Thiès	Phosphate de Thiès	Poudre d'os	-
Dose Quotidienne	50 g	50 g	50 g	100 g	65 g	-
Mode de Distribution	Continu	Discontinu * (1 mois sur 2)	Continu	Continu	Continu	-
N	13	13	13	13	13	13

\* La distribution discontinue a été interrompue au bout d'un an à cause de la faiblesse de la consommation de phosphate observée au sein de ce lot

octobre 1989, puis un aliment composé à base de coque d'arachide, de mélasse, d'urée, de tourteau d'arachide et de graines de coton, d'octobre 1989 à juillet 1990 (tableau III).

La dose quotidienne de phosphate a été mélangée à l'aliment complet selon le plan décrit au tableau IV. Les apports complémentaires en minéraux sont présentés au tableau V.

### Les mesures

#### ■ La consommation des minéraux

En milieu extensif, le numéro des animaux qui ont volontairement consommé le complément a été noté tous les jours. En milieu contrôlé la totalité des phosphates a toujours été consommée.

#### ■ Le prélèvement du fourrage consommé sur pâturage

Un échantillonnage représentatif du fourrage ingéré a été mensuellement effectué par la technique de la « collecte du berger » (18) pour analyse chimique en laboratoire.

#### ■ L'examen clinique des troupeaux

Pour détecter précocement les signes éventuels d'intoxication au fluor, l'examen clinique mensuel du troupeau a porté sur l'état général, l'appareil osseux (par palpation et pression des maxillaires, des côtes et des métatarsiens pour détecter des excroissances osseuses) et l'appareil bucco-dentaire à la recherche d'une coloration brune noirâtre, d'une rugosité ou d'une érosion éventuelle des dents.

#### ■ L'examen post mortem de l'appareil osseux

Pour détecter les signes de fluorose, l'appareil osseux a été examiné après abattage de deux animaux par lot en fin d'expérience. Ces examens ont porté sur les maxillaires inférieurs, les métatarsiens et les côtes pour rechercher les signes osseux de fluorose tels que les excroissances et les rugosités osseuses.

#### ■ Croissance des animaux

Pour suivre l'évolution pondérale des animaux, une triple pesée de démarrage, puis une double pesée mensuelle et une triple pesée finale ont été effectuées.

### Analyses chimiques

Des prélèvements mensuels de sang et d'urines ont été effectués. Les analyses chimiques ont concerné le fourrage ou l'aliment composé distribué en milieu contrôlé, les compléments minéraux (phosphates et poudre d'os), le plasma sanguin, les urines et les os après abattage des animaux. Le calcium et le phosphore ont été déterminés par spectrophotométrie d'absorption atomique. Le fluor a été analysé par polarographie avec utilisation d'une électrode spécifique (19). Sur les échantillons de fourrages les dosages ont porté sur la matière sèche, les cendres, les matières azotées totales, le calcium et le phosphore (1). Sur les différents types de phosphates la solubilité à l'acide citrique 2 p. 100 (16) et les teneurs en phosphore (1) et fluor par polarographie ont été déterminées (19).

### Analyses statistiques

La signification des différences entre lots a été étudiée par l'analyse de variance. L'influence du lot, de l'animal, du mois, de l'année et de leur interaction a été appréciée par le test de Duncan (25).

## ■ RESULTATS

### Caractéristiques chimiques et ingestibilité des compléments minéraux

Les compositions minérales des phosphates et de la poudre d'os sont rapportées dans le tableau VI. Les phosphates de Taiba et de

Tableau II

Estimation des apports quotidiens en minéraux à Dahra

	Lot I (TAP50c)			Lot II (TAP50d)			Lot III (THP50c)			Lot IV (THP100c)			Lot V (Os65c)			Lot VI (témoin)		
	Ca g	P g	F mg/kg MS	Ca g	P g	F mg/kg MS	Ca g	P g	F mg/kg MS	Ca g	P g	F mg/kg MS	Ca g	P g	F mg/kg MS	Ca g	P g	F mg/kg MS
Fourrage	31	3,8	-	31	3,8	-	31	3,8	-	31	3,8	-	31	3,8	-	32	3,9	-
Complément minéral	18	7,9	285	18	7,9	289	3,2	6,4	63	6,4	12,8	125	11,5	6,9	20	-	-	-
Total	49	12	285	49	12	289	33	10	63	37	17	125	43	11	20	32	3,9	-
Normes Inra (1985)	16-26	12-16	30	16-26	12-16	30	16-26	12-16	30	16-26	12-16	30	16-26	12-16	30	16-26	12-16	30
Seuil critique	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100	-	-	100

TAP50c = phosphate de Taiba - dose quotidienne de 50 g en mode continu  
 TAP50d = phosphate de Taiba - dose quotidienne de 50 g en mode discontinu  
 THP50c = phosphate de Thiès - dose quotidienne de 50 g en mode continu  
 THP100c = phosphate de Thiès - dose quotidienne de 100 g en mode continu  
 Os65c = poudre d'os - dose quotidienne de 65 g en mode continu

Tableau III

Alimentation des bovins en milieu contrôlé à Sangalcam

Période	Animaux	Composition de la ration	Distribué kg/tête/j	UFV	Apport total		
					MAD	Ca	P
D'août à déc. 1989	Jeunes	Fourrage*	4	2,7	340	57	12
		Complément **	1				
	Taureaux	Fourrage	7	4	520	99	16
		Complément		1			
De déc. 1989 à mai 1990	Jeunes	Aliment complet 1***	5	2,5	355	7	6
	Taureaux	Aliment complet 1	7	3,5	497	9,8	8,4
De mai à juil. 1989	Jeunes	Aliment complet 2****	5	2,5	200	19	6,5
	Taureau	Aliment complet 2	8	4	320	27	11

\* Fourrage : fane d'arachide

\*\* Complément : graine de coton mélassée à 25 p. 100

\*\*\* Composition de l'aliment complet 1 (pourcentages) : coque d'arachide (52,8) ; mélasse (27) ; graine de coton (14) ; urée (1) ; tourteau d'arachide (5) ; sel (0,2)

\*\*\*\* Composition de l'aliment complet 2 (pourcentages) : coque d'arachide (54,6) ; mélasse (20) ; maïs broyé (15) ; graine de coton (10) ; urée (0,25) ; sel (0,15)

Tableau IV

Distribution du complément minéral à Sangalcam

Lots	I	II	III	IV*
Complément Minéral	Phosphate de Taiba	Phosphate de Taiba	Phosphate de Thiès	-
Dose Quotidienne	50 g	50 g	200 g	-
Mode de Distribution	Continu	Discontinu (1 mois sur 2)	Continu	-
N jeunes	10	10	10	10
Adultes	10	10	10	10

\* Lot témoin

Tableau VI

Caractéristiques chimiques des compléments minéraux

Minéraux	Phosphate de Taiba	Phosphate de Thiès	Poudre d'os vert
Calcium (% MS)	36	6,4	17,9
Phosphore (% MS)	15,8	12,8	11,4
Fluor (% MS)	3,7	0,8	-
Magnésium (% MS)	0,01	-	-
Aluminium (% MS)	0,56	16,1	-
Silice (% MS)	2,66	-	0,5
Fer (% MS)	0,37	7	-
Manganèse (% MS)	0,030	-	-
Rapport Ca/P	2,2	0,5	1,5
Solubilité à l'acide citrique 2%	45	32	-
Disponibilité biologique*	Intermédiaire	Intermédiaire	Haute
Digestibilité**	ND	20	-

\* D'après Conrad et coll., 1985

\*\* D'après Guéguen, 1994

Tableau V

Apports de compléments minéraux à Sangalcam

Lots	Calcium (g/tête/jour)	Phosphore (g/tête/jour)	Fluor (mg/kg MS)
I (TAP50c)	18	8	285
II (TAP50d)	18	8	285
III (THP200c)	13	26	250
IV (témoin)	0	0	0

TAP50c = phosphate de Taiba - dose quotidienne de 50 g en mode continu

TAP50d = phosphate de Taiba - dose quotidienne de 50 g en mode discontinu

THP200c = phosphate de Thiès - dose quotidienne de 200 g en mode continu

Thiès avaient des teneurs en phosphore voisines (16 et 13 p. 100 respectivement). Le premier était cependant six fois plus riche en calcium que le second qui avait un rapport phospho/calciq ue peu favorable à son absorption.

La solubilité citrique du phosphate de Taiba était supérieure à celle du phosphate de Thiès (45 contre 32 p. 100) dont l'utilisation digestive était médiocre (digestibilité réelle = 20 p. 100) (16). La teneur en fluor du phosphate de Thiès était cependant moins élevée que celle du phosphate de Taiba (0,8 contre 3,7 p. 100). Les risques de toxicité au fluor étaient encore amoindris par une forte teneur en alumine, élément qui joue un rôle inhibiteur dans l'absorption du fluor.

La poudre d'os (tableau VI) avait une teneur en phosphore (11 p. 100) plus faible que celle des phosphates. Son rapport phospho/calciq ue était optimal et sa disponibilité biologique élevée (7). C'est un complément minéral de choix dont la comparaison avec les phosphates a pour but d'apprécier leur qualité.

L'ingestion volontaire des compléments minéraux à Dahra a été caractérisée par d'importantes variations (tableau VII), liées au type de complément minéral, à la saison, à l'année, à l'individu et au support (figure 1).

La poudre d'os a été mieux appréciée que les phosphates et le phosphate de Thiès mieux accepté que celui de Taiba.

Tableau VII

Evolution de la consommation du complément minéral offert à Dahra :  
valeurs moyennes mensuelles (nombre d'animaux ayant consommé le complément partiellement  
ou en totalité exprimé en pourcentage du nombre d'animaux par lot (écart type))

	Lot I (TAP50c)	Lot II (TAP50d)	Lot III (THP50c)	Lot IV (THP100c)	Lot V (Os65c)
Année 1987					
Juin	80 (16)	72 (22)	81 (15)	71 (17)	71 (21)
Juillet	96 (6)	-	99 (2)	95 (6)	90 (5)
Novembre	54 (17)	51 (17)	84 (10)	86 (11)	92 (8)
Décembre	49 (18)	43 (12)	86 (6)	94 (8)	93 (2)
Année 1988					
Janvier	45 (11)	-	86 (2)	87 (7)	92 (0)
Février	45 (12)	40 (10)	89 (4)	95 (5)	93 (3)
Mars	58 (11)	-	83 (7)	87 (12)	91 (4)
Avril	52 (11)	41 (16)	84 (6)	76 (10)	96 (6)
Mai	65 (7)	-	90 (3)	91 (6)	95 (6)
Juin	68 (6)	49 (8)	90 (6)	96 (9)	91 (5)
Juillet	81 (14)	-	95 (4)	97 (5)	89 (4)
Août	65 (31)	74 (26)	86 (26)	75 (33)	87 (25)
Décembre	3 (6)	4 (8)	23 (11)	7 (8)	58 (21)
Année 1989					
Janvier	1 (4)	3 (6)	21 (13)	5 (4)	49 (20)
Février	19 (7)	14 (8)	27 (7)	16 (6)	51 (16)
Mars	26 (8)	21 (4)	38 (12)	25 (12)	89 (10)
Avril	31 (14)	18 (9)	68 (14)	49 (15)	93 (6)
Mai	31 (6)	18 (5)	59 (17)	52 (18)	80 (18)
Juin	39 (17)	41 (20)	57 (24)	47 (24)	85 (14)
Novembre	22 (17)	20 (15)	40 (12)	26 (6)	63 (17)
Décembre	12 (9)	-	33 (9)	21 (6)	51 (13)
Année 1990					
Janvier	23 (6)	22 (18)	46 (19)	35 (17)	71 (19)
Février	42 (11)	40 (10)	70 (12)	62 (11)	69 (15)
Mars	44 (8)	47 (9)	74 (10)	66 (9)	74 (9)
Avril	32 (9)	33 (10)	52 (15)	48 (13)	59 (16)
Mai	31 (11)	20 (13)	71 (11)	58 (14)	72 (12)
Juin	24 (9)	13 (11)	62 (12)	44 (7)	75 (11)

TAP50c = phosphate de Taïba - dose quotidienne de 50 g en mode continu  
TAP50d = phosphate de Taïba - dose quotidienne de 50 g en mode discontinu  
THP50c = phosphate de Thiès - dose quotidienne de 50 g en mode continu  
THP100c = phosphate de Thiès - dose quotidienne de 100 g en mode continu  
Os65c = poudre d'os - dose quotidienne de 65 g en mode continu

Dès la tombée des premières pluies (juillet - août), les animaux ont commencé à refuser le complément. Ils ne l'ont pas consommé pendant toute la durée de la saison humide et en post-hivernage. En revanche, en milieu et fin de saison sèche le taux de consommation des compléments minéraux était plus important, ce qui correspondait sans doute à un besoin en phosphore plus élevé.

L'ingestion volontaire de compléments minéraux a été supérieure en deuxième année. Cela est explicable par un état de carence plus prononcé car la teneur en phosphore du fourrage a été particulièrement faible à cette période (< 2 g/kg MS ; tableau VIII).

Les écarts types des taux de consommation ont souvent été élevés, traduisant des différences dans le comportement des individus dont la consommation a varié d'un jour à l'autre. Les vents de sable en particulier ont joué un rôle négatif sur l'ingestion volontaire du complément minéral par les animaux.

### ***Le régime alimentaire des animaux***

La dégradation du fourrage de la saison humide à la saison sèche a été mise en évidence. Les apports naturels de phosphore en particulier (moins de 1 g/kg MS) ont été très insuffisants en 1988 et 1989. Les animaux ont ainsi montré une forte propension à consommer les compléments minéraux en ces périodes.

La teneur du fourrage en fluor a été élevée. En effet, sur 10 analyses la moyenne a été de 1 349 mg/kg MS. Ce chiffre, beaucoup plus élevé que le seuil critique de 100 mg/kg MS (29), traduit une forte contamination des fourrages par la présence de formations argilo-phosphatées dans la zone de Linguère (21). Cela est confirmé par les fortes teneurs en insoluble chlorhydrique observées.

A Dahra, les apports de phosphore des lots supplémentés (10 à 12 g par tête par jour) ont été corrects. Le témoin a eu un déficit très important. Un excès de calcium, aggravé par la présence d'eaux calcaïques (3), défavorise l'absorption du phosphore.



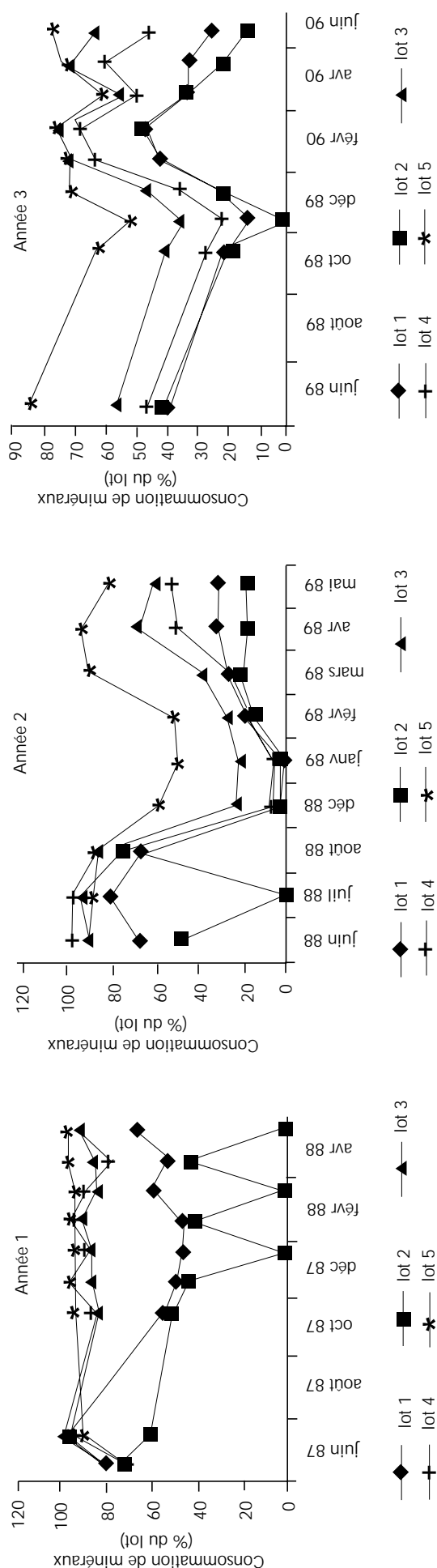


Figure 1 : variation de la consommation de minéraux à Dahra.

Tableau VIII

Composition chimique du fourrage Ingéré sur pâturage naturel (g/kg MS)

Saison*	Année	Mo	MAT	Insoluble chlorhydrique	Ca	P
SSF	1987	933	102	17	5,4	1,4
SSC		893	103	66	7,5	1,2
SH		892	179	45	7,4	1,8
SSF	1988	940	77	20	5,2	0,5
SSC		-	54	7	5,7	0,4
SH		977	-	-	-	-
SSF	1989	924	68	39	5,2	0,4
SSC		821	66	38	6,5	0,5
SH		932	132	42	6,4	1
SSF	1990	926	63	45	5,3	0,5
SSC		916	39	52	5	0,3

MO : matière organique ; MAT : matières azotées totales  
 \* SSF : saison sèche froide (novembre-février) ; SSC : saison sèche chaude (mars-juin) ; SH : saison humide (juillet-octobre)

Les quantités de fluor ingérées par les lots 1 et 2 (285 mg/kg MS) ont été près de trois fois supérieures au seuil critique de 100 mg/kg MS (7, 6). La consommation de ces phosphates pendant quelques années devrait ainsi entraîner la fluorose (29). En revanche, les quantités de fluor absorbées par les lots 3 et 4 (30 mg/kg MS) n'ont pas été très élevées.

En milieu contrôlé, il y a eu un déséquilibre phosphocalcique volontairement recherché. Le régime alimentaire a apporté 6 et 10 g de phosphore respectivement aux jeunes et aux taureaux. Un déficit de 50 p. 100 des besoins a été partiellement comblé par les apports complémentaires pour les lots 1 et 2, et totalement pour le lot 3. En ce qui concerne le fluor, les quantités absorbées (290 mg/kg MS) ont été de beaucoup supérieures au maximum tolérable de 100 mg/kg MS indiqué par la bibliographie. Les trois lots ont eu des consommations de fluor voisines.

**L'examen clinique des animaux**

L'état général des troupeaux a été bon dans l'ensemble. Aucun signe général d'intoxication au fluor n'a été noté. L'appareil osseux n'a pas été atteint. Aucune boiterie ou exostose n'a été observée ni à Dahra ni à Sangalcam. De même, l'appareil bucco-dentaire n'a pas été significativement affecté. Un brunissement des dents accompagné d'une rugosité a été noté dès l'apparition des dents adultes. Ces lésions ont été observées chez des animaux de tous les lots, y compris le lot témoin et celui recevant de la poudre d'os.

**La minéralisation osseuse et son imprégnation par le fluor**

Aucune différence significative entre lots n'a été observée en ce qui concerne les matières minérales totales. Une concentration en calcium plus élevée a été observée chez les animaux âgés. L'influence de la supplémentation sur la teneur en phosphore des os n'a pas été significative (P < 0,05) (tableau IX).

Sur 14 analyses, la teneur des os en fluor a varié de 500 à 7 060 mg/kg MS avec une moyenne 1 387 mg/kg MS (± 1 673). Les os des taureaux ont eu une concentration en fluor plus élevée que ceux des veaux. Parmi les taureaux, les valeurs les plus fortes ont été notées chez les animaux du lot 1 recevant le phosphate de

Taiba de manière continue ; la valeur de l'un d'entre eux a dépassé largement (7 060 mg/kg MS) les valeurs usuelles (5 500 mg/kg MS) (7). Les 13 autres prélèvements ont eu des teneurs en fluor très inférieures au seuil critique, ce qui témoigne d'une mauvaise fixation du fluor sur l'appareil osseux.

### Phosphatémie et fluorurie

En milieu extensif, la phosphatémie des lots traités n'a pas différé significativement ( $P < 0,05$ ) de celle des lots témoins, à l'exception du lot 5 (poudre d'os) qui, à Dahra au cours de la deuxième année, a présenté une valeur significativement plus élevée ( $P < 0,05$ ) (figure 2). En revanche, le dosage du fluor dans les urines a montré que l'administration de phosphate s'est accompagnée d'une augmentation de la concentration en fluor des urines (figure 3) avec des valeurs dépassant parfois la limite supérieure tolérée, ce qui peut annoncer l'apparition de signes cliniques de fluorose (20, 27).

En avril 1990, à Dahra, la fluorurie des animaux des différents lots supplémentés a été très proche. Les possibilités d'excrétion urinaire du fluor semblent avoir été saturées à ce moment-là (figure 3).

En milieu contrôlé, l'examen des résultats biochimiques notamment en ce qui concerne la phosphatémie (figures 4 et 5) n'a pas montré de variations significatives pouvant être rattachées à la

complémentation en phosphates naturels, chez les taurillons comme chez les adultes. Le dosage du fluor dans les urines indique cependant qu'il y a eu une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre les lots recevant les phosphates naturels en mode continu et discontinu et les lots témoins (figures 6 et 7). La différence de la concentration urinaire en fluor observée entre les mois d'avril et de mai 1990 traduisait une imprégnation progressive de l'organisme en fluor.

L'excrétion urinaire de fluor est dépendante du type de phosphate (notamment sa concentration en fluor et la solubilité de cet élément), de la dose appliquée, de la durée et du mode de supplémentation (continu ou discontinu). Ainsi, les lots recevant les phosphates de manière continue ont eu une fluorurie plus importante (figure 8).

L'excrétion urinaire de fluor a été plus forte chez les lots recevant le phosphate de Taiba que chez ceux recevant le phosphate de Thiès. La même observation a été faite chez les animaux âgés comparés aux veaux (16 contre 19 à 20 mg/kg MS).

Il y a donc eu un déstockage important du fluor par voie urinaire. L'âge des bovins, le mode et la durée de distribution ainsi que le type de phosphate ont eu une grande influence sur l'élimination du fluor.

Enfin, les témoins ont eu une fluorurie de 0,5 à 2 mg/kg MS. Ce niveau semble être compatible avec un métabolisme normal de l'animal.

Tableau IX

Teneur en minéraux des os des animaux à Sangalcam

Lots	Groupe	Cendres (g/kg MS)	Calcium (g/kg MS)	Phosphore (g/kg MS)	Fluor (mg/kg MS)
I (TAP50c)	Jeunes	ND	ND	ND	ND
	Taureaux	590	235	83	3 840
II (TAP50d)	Jeunes	613	235	105	655
	Taureaux	615	281	106	595
III (THP200c)	Jeunes	614	231	98	845
	Taureaux	630	296	94	1 120
IV (Témoins)	Jeunes	606	231	103	465
	Taureau	619	293	118	2 190

TAP50c = phosphate de Taiba - dose quotidienne de 50 g en mode continu  
 TAP50d = phosphate de Taiba - dose quotidienne de 50 g en mode discontinu  
 THP200c = phosphate de Thiès - dose quotidienne de 200 g en mode continu  
 ND : non déterminé

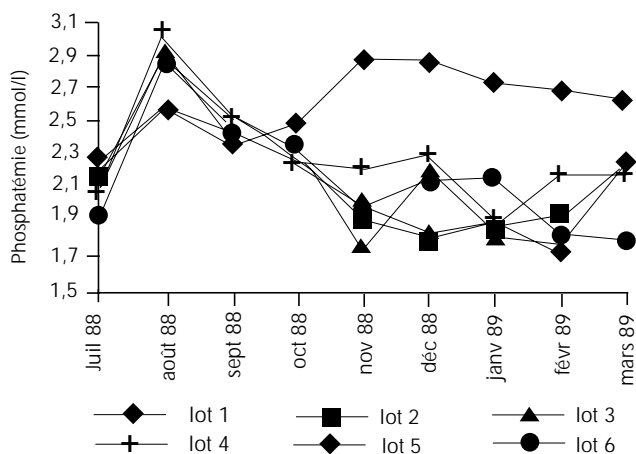


Figure 2 : phosphatémie moyenne des taureaux à Dahra.

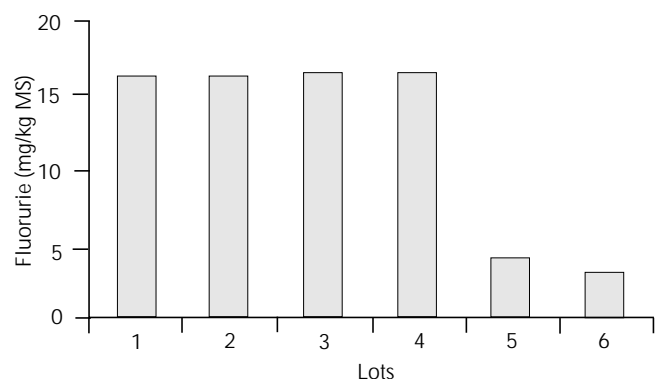


Figure 3 : fluorurie des taureaux à Dahra en avril 1990.

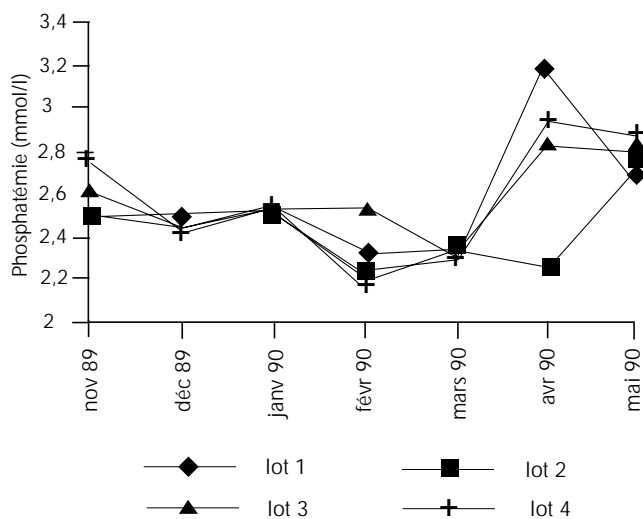


Figure 4 : phosphatémie des veaux à Sangalcam.

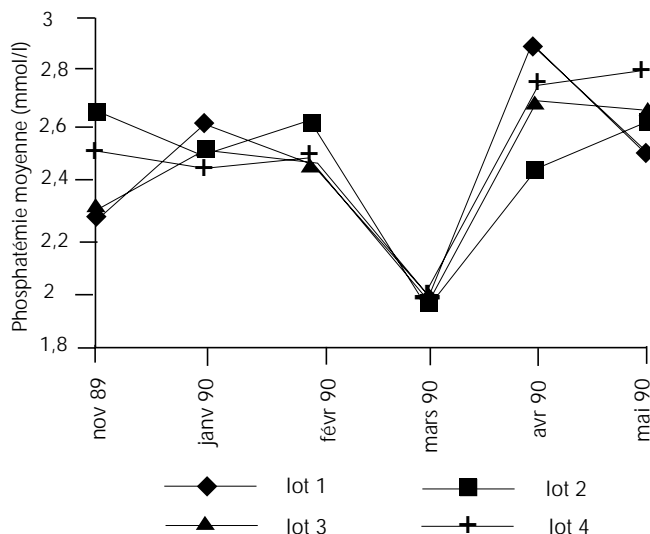


Figure 5 : phosphatémie des taureaux à Sangalcam.

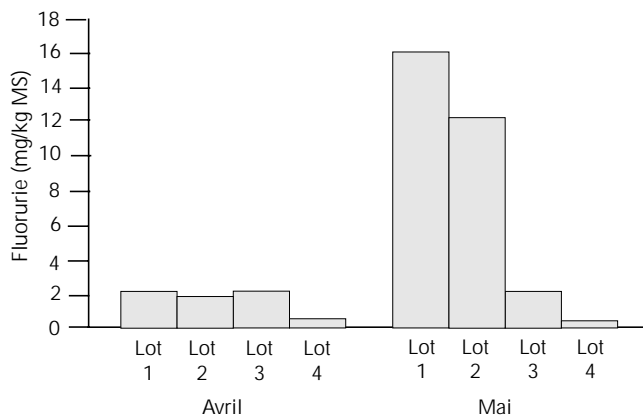


Figure 6 : fluorurie des taureaux à Sangalcam en avril et en mai 1990.

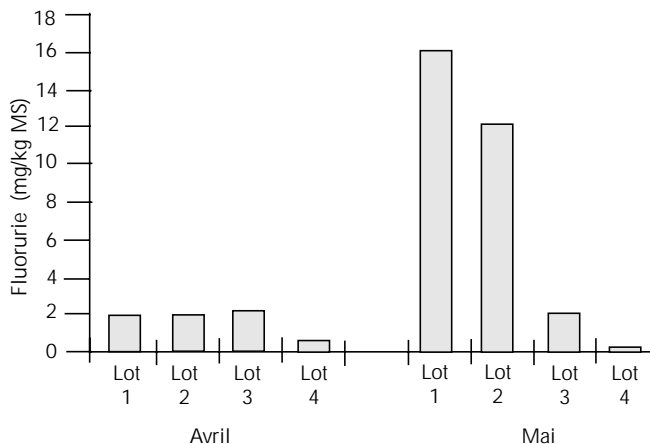


Figure 7 : fluorurie des veaux à Sangalcam en avril et en mai 1990.

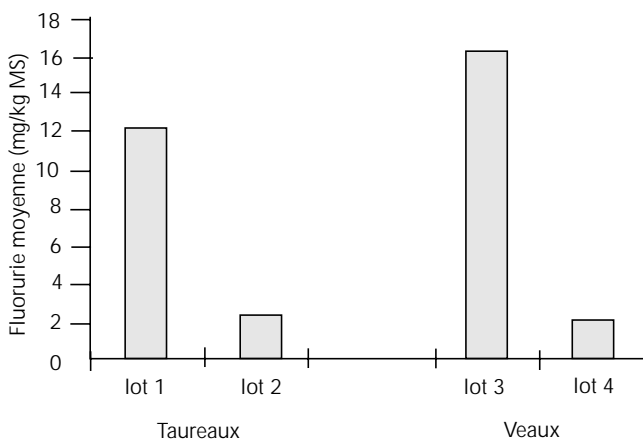


Figure 8 : influence du type de phosphate sur la fluorurie à Sangalcam.

### Examen anatomopathologique des os

Aucune lésion osseuse attribuable à la consommation de phosphates n'a été identifiée par l'examen ante et post mortem de l'appareil osseux des animaux (figures 9 et 10).

### Evolution pondérale des animaux

Tous les lots ont eu une évolution pondérale identique à Dahra (gains moyens quotidiens : 212 g) et à Sangalcam (gains moyens quotidiens, 280 g chez les jeunes et 405 g chez les taureaux) (figures 11 et 12). Mais la croissance a été sous l'influence d'interactions significatives ( $P < 0,0001$  ;  $N = 2\ 648$  mesures ;  $R^2 = 0,75$ ) entre le traitement (lot), l'animal, le mois et l'année. Le traitement seul n'a pas eu d'influence significative ( $P < 0,05$ ) alors que l'année, le mois et l'animal ont significativement ( $P < 0,001$ ) affecté la croissance des bovins. Les compléments minéraux (phosphates et poudre d'os) n'ont donc pas eu d'influence significative ( $P < 0,05$ ) sur la croissance pondérale des bovins.

### Comportement alimentaire des lots

A Sangalcam, aucune influence spécifique des compléments minéraux sur le comportement alimentaire des bovins n'a été visuellement constatée, contrairement à Dahra où le pica a uniquement été observé chez les témoins. Le pica étant la cause première du botulisme, cet effet était positif.



Figure 9 : examen dentaire ; 1T = lot 1 (50 g de phosphate de Taiba) ; 4T = lot témoin.

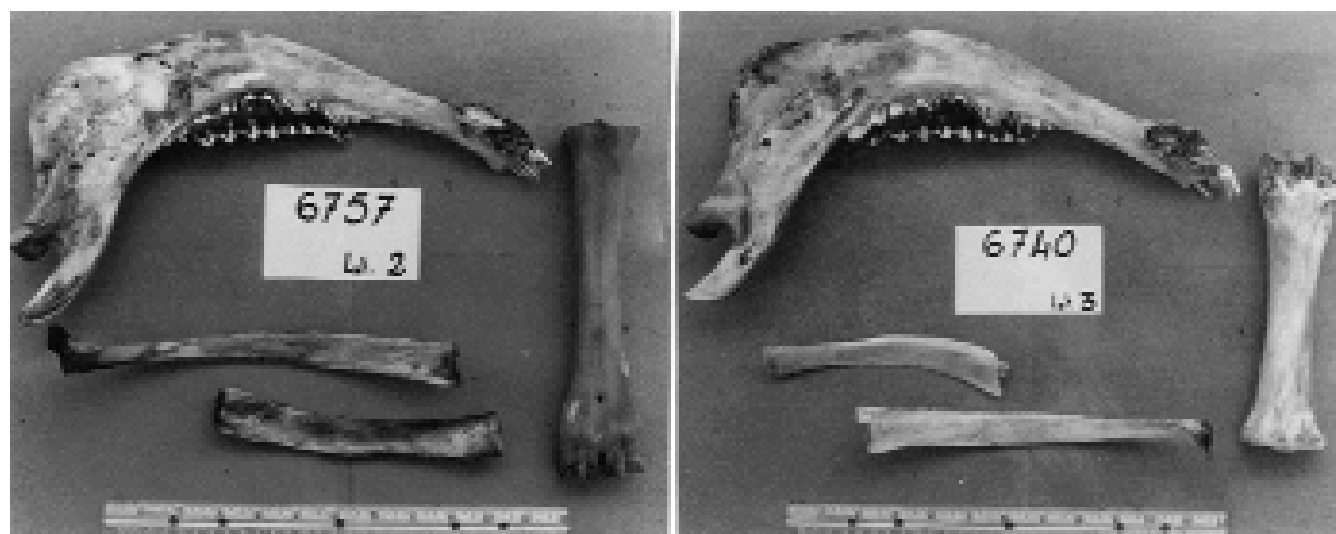


Figure 10 : examen osseux ; lot 2 = 50 g de phosphate de Taiba ; lot 3 = 50 g de phosphate de Thiès.

## ■ DISCUSSION

### *Caractéristiques biochimiques des phosphates naturels et choix du type de gisement pour la supplémentation des ruminants*

Les phosphates naturels testés ont présenté des caractéristiques biochimiques différentes. Cinq critères sont importants pour le choix d'un type de phosphate comme complément minéral : l'appétibilité, la concentration en minéraux, notamment la teneur en calcium par rapport à celle en phosphore, la présence d'autres minéraux favorables ou nocifs et leur disponibilité biologique, le rapport phospho/calciqque et la concentration en fluor.

Les phosphates naturels ne sont pas très appétants. Leur pouvoir attractif auprès des animaux ne se manifeste qu'en cas d'état de carence prononcée. Le mélange des compléments à un condiment susceptible d'en améliorer l'appétibilité des animaux est nécessaire. La mélasse mélangée à de la poudre d'os ou aux phosphates a été plus performante que le sel, le son de blé ou la graine de

coton. L'incorporation des phosphates à un aliment composé ou complémentaire règle le problème de leur appétibilité. A Sangalcam, ce procédé a permis la consommation totale et régulière des phosphates et de la poudre d'os.

Comparé au phosphate de Thiès (THP), le phosphate de Taiba (TAP) a eu une concentration plus élevée en calcium et en phosphore et une meilleure disponibilité de ces minéraux. Le THP présente un rapport phospho/calciqque en faveur du phosphore, ce qui peut être un avantage dans la zone sahélienne fortement carencée en phosphore, ces minéraux ayant toutefois une faible disponibilité biologique. Le TAP était cependant pénalisé par une forte concentration en fluor (3 à 4 p. 100), alors que le THP avait une teneur en fluor peu dangereuse pour l'animal. Il semble recommandable de choisir le TAP dont les risques de toxicité peuvent être modérés par une bonne excrétion urinaire du fluor.

Le déséquilibre phosphocalciqque des phosphates peut être réajusté par un mélange avec des composés minéraux plus solubles. Ces mélanges pourraient aussi atténuer les fortes teneurs en fluor et équilibrer la formule du complément minéral en apportant d'autres éléments.

■ RESSOURCES ALIMENTAIRES

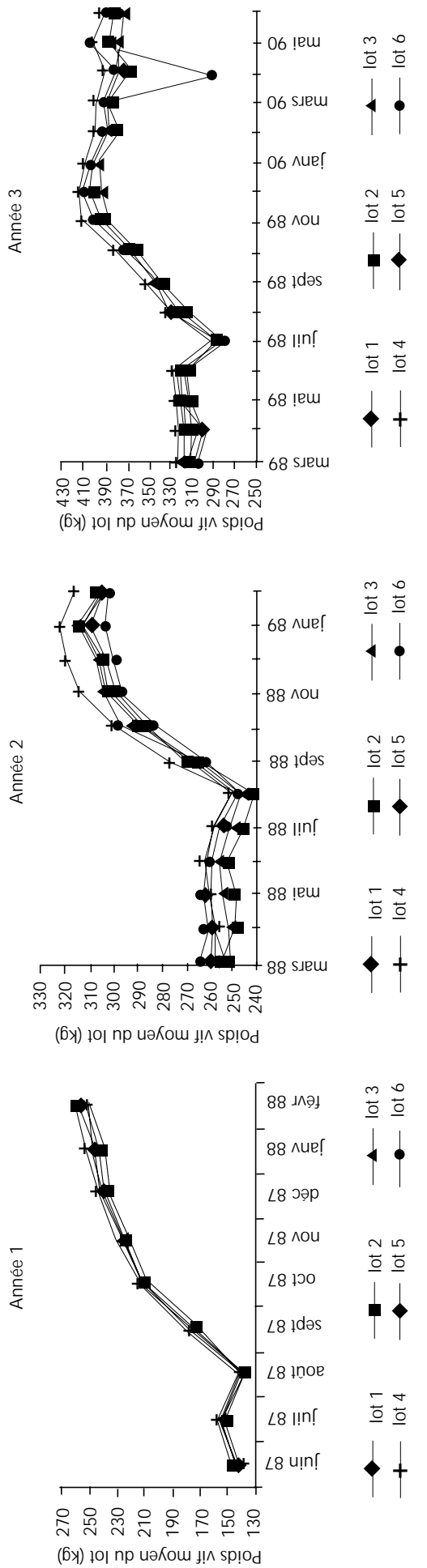


Figure 11 : évolution pondérale des animaux à Dahra.

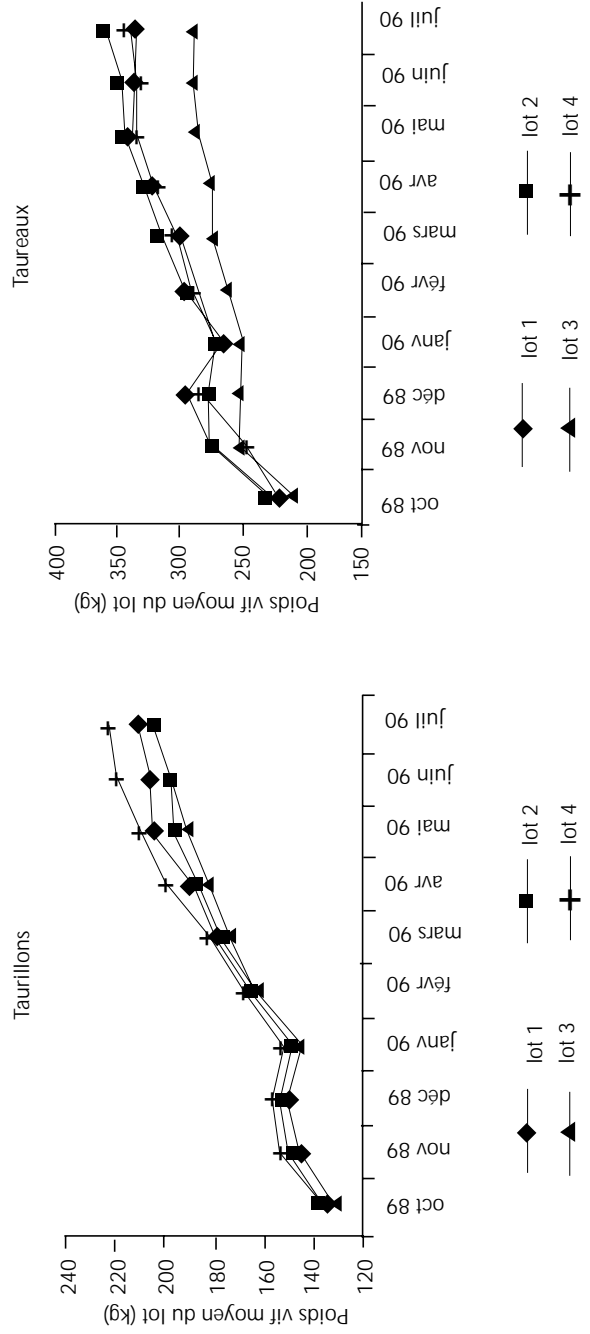


Figure 12 : évolution pondérale des animaux à Sangalcam.



Les phosphates du Sénégal ont des caractéristiques biochimiques différentes de celles des phosphates du Togo dont le fluor semble être plus assimilable si l'on se réfère aux travaux de Serres et Bertaudière (26). Il est donc nécessaire de procéder à l'identification des caractéristiques chimiques des phosphates avant leur utilisation en alimentation du bétail.

### **Phosphates naturels et santé animale**

L'administration de 50 g TAP et 100 g THP en saison sèche pendant trois années successives n'a pas provoqué de maladies graves chez le zébu Gobra. Les lésions osseuses observées correspondaient à des effets légers du fluor (20), mais les phosphates n'en étaient vraisemblablement pas la cause. Cela était peut-être dû au fluor de l'eau ou des aliments qui avaient atteint les seuils critiques et pouvaient, par accumulation, provoquer des lésions subcliniques. Ces lésions n'ont cependant pas entravé la croissance normale de l'animal. L'absence d'une pathologie attribuable à l'effet nocif du fluor traduit une bonne tolérance de ces produits. Les doses de fluor étaient pourtant supérieures au double du maximum admis. Cela est explicable par la présence du fluor sous forme de sels calciques peu solubles contrairement au fluorure de sodium (10, 15, 29). Si le phosphore des phosphates est d'une utilisation digestive médiocre (15), le fluor semble aussi être peu assimilable. Il est en tout cas très bien déstocké par l'organisme, comme en témoignent les concentrations très élevées des urines en fluor, observées chez les animaux supplémentés. Ainsi, l'élimination urinaire du fluor apparaît comme un mécanisme de protection qui autorise l'ingestion de fortes doses de fluor théoriquement toxiques chez les bovins.

### **Phosphates naturels et réponse zootechnique**

L'effet non significatif de l'apport de minéraux sur les performances pondérales du zébu Gobra ne traduit pas une mauvaise qualité des phosphates. La poudre d'os, considérée comme un bon complément minéral, n'a pas non plus permis d'améliorer significativement la croissance des bovins. Ces observations confirment également la prévalence d'autres facteurs limitants comme l'énergie, l'azote et d'autres éléments minéraux comme le cuivre et le zinc à prendre en compte dans un programme de supplémentation.

Bien que l'effet bénéfique d'une complémentation minérale sur la productivité des animaux domestiques ait été signalé dans plusieurs pays (7), il ne semble pas y avoir de relation linéaire entre les apports de minéraux et les performances zootechniques. En effet, des irrégularités de la réponse animale ont souvent été rapportées (2, 9, 23, 24). En ce qui concerne la supplémentation en phosphore, les facteurs de variation souvent cités portent sur le site (réponse positive en zone carencée contrairement aux zones auto-suffisantes), l'espèce animale (les moutons sont moins sensibles à une carence en phosphore que les bovins), le critère d'appréciation (la baisse du niveau de consommation, les paramètres de la reproduction et la mortalité sont des critères plus sensibles aux carences en phosphore que la croissance pondérale) et le régime alimentaire (la forme chimique présente ainsi que sa digestibilité jouent un rôle déterminant). L'existence de carences associées limite aussi l'influence de l'apport d'un seul élément minéral sur les performances animales. Read et coll. (23, 24) ont bien souligné l'importance de l'état nutritionnel des animaux au démarrage de la supplémentation. En effet, des états de carence en phosphore cumulés sur plusieurs années rendent l'animal plus sensible à un apport de phosphore. Si ces apports ne sont insuffisants que pendant une période limitée, la minéralisation osseuse n'est pas encore affectée. Le système de régulation ostéo-hormonal avec l'intervention de la parathormone et de la calcitonine semble adapter l'organisme à cette situation. Enfin la durée de la supplémentation revêt une importance particulière. En Afrique du Sud, Read et coll. (23, 24)

### *Influence des phosphates naturels sur la santé et la croissance du bétail*

n'ont enregistré une réponse animale positive qu'au bout de la cinquième année de supplémentation alors qu'à Dahra la supplémentation n'a duré que trois ans.

Dans la station expérimentale de Dahra, le phénomène de carence en phosphore n'était pas marqué. Cela a été confirmé par la croissance du troupeau qui a été modérée malgré un complément minéral reçu facultativement et une très mauvaise année du point de vue de la pluviométrie.

Ces résultats traduisent donc toute la complexité de la réponse animale à la supplémentation minérale, faisant intervenir tant l'effet du milieu (écosystème) que celui de l'animal (espèce, âge, passé nutritionnel, production cible) et de la durée de la supplémentation. La croissance pondérale était moins sensible à la supplémentation minérale que la production laitière ou les paramètres de la reproduction. Ces derniers critères ont fait l'objet d'autres essais à Dahra.

Les phosphates de Taiba et de Thiès aux doses indiquées ici mériteraient donc d'être testés en milieu traditionnel, terrain plus favorable à une démonstration de leur effet positif sur les productions zootechniques. Ils doivent auparavant être équilibrés par l'addition de cuivre et de zinc, éléments dont les déficiences ont été établies dans les zones sahéliennes.

### ■ CONCLUSION

La consommation quotidienne de 50 g de phosphate de Taiba et 50 à 200 g de phosphate de Thiès en période de saison sèche (9 mois sur 12 pendant trois ans) a été bien tolérée par les bovins. Ces doses sont sans danger et confirment les résultats de Diallo et coll. (9) et de N'Diaye (22). Elles sont recommandables pour les bovins sur pâturages naturels en distribution continue pendant la saison sèche (9 mois sur 12) ou chez des animaux en embouche pendant 3 à 6 mois.

Ainsi, les phosphates de Taiba et de Thiès semblent être moins toxiques pour les bovins que les phosphates du Togo étudiés par Serres et Bertaudière (26).

L'influence aussi bien des phosphates que de la poudre d'os sur les performances pondérales n'a pas été significative. Elle a été limitée par de bonnes années pluviométriques avec de bons pâturages et un état de carences non cumulées chez les bovins. L'innocuité des doses appliquées étant vérifiée, il serait recommandable de les appliquer en milieu traditionnel, plus propice à la démonstration de l'effet positif des phosphates sur les productions.

L'association des phosphates à des sources de cuivre et de zinc, éléments déficients dans les zones sahéliennes, devrait les équilibrer et améliorer leur efficacité nutritionnelle.

### Remerciements

Ce travail a été mené avec l'appui financier de l'Organisation mondiale du phosphate (Imphos). Les phosphates de Taiba et de Thiès ont été gracieusement fournis par la Compagnie sénégalaise des phosphates de Taiba et la Société sénégalaise des phosphates de Thiès. Une partie des analyses chimiques concernant le fluor a été effectuée par le groupe Laboratoires du Bureau des recherches géologiques et minières du Sénégal. N'Diaga M'Baye, Antoine Sarr, Antoine Korea, le regretté Amangoné N'Doye et Momar Coumba Bâ ont apporté leur collaboration technique. D.A. Little, M. M'Bodj, D. Richard et A. Benjelloun ont partagé des critiques constructives sur le déroulement des travaux lors d'une mission d'évaluation en juin 1988. Les auteurs leur expriment leur profonde gratitude.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BIPEA, 1976. Recueil des méthodes d'analyses des Communautés européennes. Paris, France, BIPEA.
2. CALVET H., FRIOT D., GUEYE I.S., 1976. Supplémentation minérales, alimentaires et pertes de poids des zébus sahéliens en saison sèche. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **29** : 59-66.
3. CALVET H., PICART P., DOUTRE M., CHAMBRON J., 1965. Aphosphorose et botulisme au Sénégal. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **18** : 249-282.
4. CARE A.D., 1977. Recent development in the use of phosphate in animal feeding. In: Proc. 1st Int. Congress on Phosphorus Compounds, Rabat, Morocco, October 1977, p. 417-420.
5. CHAPMAN H.L., KASTELIC J., ASTON J.C., CATRON D.V., 1955. A comparison of phosphorus from different sources for growing and finishing swine. *J. Anim. Sci.*, **14**: 1073-1085.
6. CHURCH D.C. Ed., 1984. Digestive physiology and nutrition of ruminants, Vol 2. Englewood Cliffs, NJ, USA, Prentice-Hall, p. 358-362.
7. CONRAD J.H., McDOWELL J.R., ELLIS G.L., LOOSLI J.K., 1985. Minéraux pour les ruminants sur pâturages des régions tropicales. Gainesville, Floride, Etats-Unis, Centre pour l'agriculture tropicale, Université de Floride, Agence des Etats-Unis pour le Développement international, 96 p. (Bulletin du Departement de zootechnie)
8. DIALLO I., M'BAYE N., GUERIN H., 1983. Effet d'une complémentation minérale et azotée sur la productivité des troupeaux naisseurs de la zone sylvopastorale. Premiers résultats. Rapport technique. Dahra, Sénégal, Isra-Lnerv/Crz, 20 p. (Physiol. Nutr. n° 45)
9. DIALLO I., SOW R., NGOMA A., DIOP B., 1985. Utilisation des blocs mélasse urée comportant trois sources de phosphates naturels (Thiès, Taiba, Matam) dans un essai de complémentation destiné à des génisses Gobra en élevage extensif. Dahra, Sénégal, Isra-Crz, p. 83-90. (Rapport annuel)
10. FERRANDO R., 1982. Le phosphore et la vie animale. Académie d'agriculture de France. In : Extrait du procès verbal de l'Académie d'agriculture de France, Paris, séance du 10 février 1982, p. 290-307.
11. FERRANDO R., 1994. Le phosphore dans le règne animal. In : Actes de la 4<sup>e</sup> conférence internationale de l'Institut mondial du phosphate (Phosphore, vie et environnement), Ghent, Belgique, 8-11 septembre 1994, p. 103-108.
12. FERRANDO R., 1994. Phosphorus deficiency in relation to animal pathology. In : Actes de la 4<sup>e</sup> conférence internationale de l'Institut mondial du phosphate (Phosphore, vie et environnement), Ghent, Belgique, 8-11 septembre 1994, p. 294-306.
13. FRIOT D., 1969. Rapport sur l'analyse chimique des eaux de forages profonds. Dakar-Hann, Sénégal, Lnerv, 10 p. (Convention 20/C/66/A FAC) IEMVT LNERV.
14. FRIOT D., CALVET H., 1971. Etudes complémentaires sur les carences minérales rencontrées dans les troupeaux du Nord Sénégal. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **24** : 393-407.
15. GUEGUEN L., 1961. Valeur comparée des phosphates minéraux comme source de phosphore pour les animaux. *Ann. Zootech.*, **10** : 177-196.
16. GUEGUEN L., 1970. Les critères de qualité nutritionnelle des compléments minéraux en alimentation animale. *Bull. Soc. sci. Hyg. aliment.*, **58** : 116-129.
17. GUEGUEN L., 1994. Biodisponibilité et bilan du phosphore chez l'animal. In : Actes de la 4<sup>e</sup> conférence internationale de l'Institut mondial du phosphate (Phosphore, vie et environnement), Ghent, Belgique, 8-11 septembre 1992, p. 276-293.
18. GUERIN H., 1987. Alimentation des ruminants domestiques sur pâturages naturels sahéliens et sahélo-soudaniens : étude méthodologique dans la région du Ferlo au Sénégal. Thèse Doct. Ing. agro., ENSA, Montpellier, France, 211 p.
19. MAUZAC M., GUERARD F., MATHIEU J., 1976. Dosage du fluor et de l'ammoniaque par électrode spécifique. *Analysis*, **4** : 326-329.
20. MILHAUD G., GODFRAIN J.C., 1975. La fluorose bovine d'origine industrielle. *Rec. Méd. vét. Alfort*, **191** : 265-272.
21. MONCIARDINI C., 1964 Sédimentation éocène au Sénégal ; le phosphate de chaux de la région de Louga - Linguère. Dakar, Sénégal, Bureau de recherches géologiques et minières, 22 p. (Rapport DAK 64 A4)
22. N'DIAYE V., 1985. Utilisation des phosphates naturels dans l'alimentation des bovins tropicaux. Cas du Sénégal. Thèse Méd. vét., EISMV, Dakar, Sénégal, 85 p. (n° 21)
23. READ M.V.P., ENGELS E.A.N., SMITH W.A., 1986. Phosphorus in the grazing ruminant. 1. The effect of supplementary P on sheep at Armoedsvlakte. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, **16**: 1-6.
24. READ M.V.P., ENGELS E.A.N., SMITH W.A., 1986. Phosphorus and the grazing ruminant 2. The effect of supplementary P on cattle at Glen and Armoedsvlakte. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, **16**: 7-12.
25. SAS, 1988. SAS User's guide: Statistics, version 5. Cary, NC, USA, SAS Institute Inc.
26. SERRES H., BERTAUTIERE L., 1979. Essais de distributions discontinues de phosphates naturels dans l'alimentation des bovins tropicaux. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **32** : 391-399.
27. SHUPE J.L., 1963. Diseases of cattle. Santa Barbara, CA, USA, American Veterinary Publications.
28. SOCIETE D'ETUDE ET D'APPLICATION DES MINERAIS DE THIES, 1967. Le Polyfos dans l'alimentation des vaches laitières. Résultats de quatre années de démonstration. Rapport technique. Thiès, Sénégal, Smt, 3 p.
29. UNDERWOOD E.J., 1956. Trace element in human and animal nutrition. New York, NY, USA, Academic Press Publishers, p. 312-340.

Reçu le 18.8.98, accepté le 27.8.99

## Summary

**Fall S.T., Sawadogo G., Diop M.** Rock phosphates and cattle feeding in Sahel. I. Influence on the Gobra zebu health and growth

Two trials were carried out in Senegal to specify the utilization mode of rock phosphates in animal feeding. Gobra zebus were supplemented with phosphates from Taiba (TAP 3 to 4% of fluorine dry matter) and Thies (THP 0.8 to 1% fluorine DM), in Dahra and in a controlled grazing environment in Sangalcam, in the Sahel area of Senegal. In trial 1 Gobra zebus were supplemented for three years on natural pastures at Dahra CRZ. Groups 1 and 2 were supplemented continuously and on alternate months, respectively, with 50 g TAP (group 2 low phosphate intake resulted in the alternate mode being suspended in the course of year 2). Groups 3 and 4 were continuously supplemented with 50 and 100 g THP, respectively, and group 5 continuously with 65 g bone meal. Group 6 was not supplemented as a control. The animals were supplemented during the dry season eight to nine months per year (between October and June). In trial 2 four groups were supplemented in a controlled grazing environment during nine months. Groups 1, 2 and 3 were continuously supplemented with 50 g TAP, alternately with 50 g TAP, and continuously with 200 g THP, respectively. Group 4 was not supplemented as a control. In both trials the authors monitored cattle phosphate consumption (daily), performed double weighing (monthly for each group), and carried out clinical examinations on their general state of health, locomotion apparatus and teeth to detect signs of fluorosis. Biochemical analyses were performed to evaluate phosphorus in blood and fluorine concentrations. Results showed a good tolerance of the used doses. The influence of mineral supplementation on animal growth was not however significant ( $P < 0.05$ ). As a result of its innocuousness, to demonstrate the beneficial effect of mineral supplementation on Gobra zebu zootechnical performances a longer trial period on traditional farm herds seems appropriate.

**Key words:** Cattle - Gobra Zebu - Rock phosphate - Food enrichment - Pasture - Sahel - Senegal.

## Resumen

**Fall S.T., Sawadogo G., Diop M.** Fosfatos naturales y alimentación del ganado. I. Influencia sobre la salud y el crecimiento del cebú Gobra

Se llevaron a cabo dos estudios en Senegal, con el fin de precisar el modo de utilización de los fosfatos naturales en la alimentación animal. Se suplementaron cebúes Gobra con el fosfato de Taiba (TAP 3 a 4 % de materia seca de fluor) y el de Thies (THP 0,8 a 1 % MS de fluor), en Dahra y en un medio controlado en Sangalcam, en la zona sahelina de Senegal. En el ensayo 1, la suplementación de los cebúes Gobra se efectuó en pastoreo natural, en el CRZ de Dahra, durante tres años. Las dosis administradas fueron de 50 g de fosfatos de Taiba, según los métodos continuo y discontinuo, respectivamente, para los lotes 1 y 2 (para este último lote la distribución según el método discontinuo se abandonó durante el curso del segundo año, debido a una baja ingestión del fosfato). Estas fueron (mediante el método continuo) de 50 y de 100 g de fosfato de Thies, respectivamente, para los lotes 3 y 4, y de 65 g de harina de huesos para el lote 5. El lote 6, testigo, no recibió ningún suplemento. Los animales se suplementaron durante la estación seca, durante ocho a nueve meses por año (de octubre a junio). En el ensayo 2, cuatro lotes se suplementaron en medio controlado durante nueve meses. Los bovinos recibieron 50 g de TAP en forma continua, 50 g de TAP en forma discontinua y 200 g de THP en forma continua, para los lotes 1, 2 y 3 respectivamente. Estos animales fueron comparados al lote 4, testigo, no suplementado. En los dos ensayos las medidas concernieron el control cotidiano del consumo de fosfatos, el seguimiento ponderal mediante una pesada doble mensual de los lotes y exámenes clínicos del estado general, el aparato locomotor y los dientes, con el fin de detectar los signos de fluorosis. Se realizó un control bioquímico para el análisis de la fosfatemia y del contenido de fluor. Los resultados demostraron una buena tolerancia a las dosis administradas. Sin embargo, la influencia de la suplementación mineral sobre el crecimiento de los animales no fue significativa ( $P < 0,05$ ). La inocuidad del producto sugiere un test de larga duración en medio de producción, más propicio para una demostración del efecto benéfico de la suplementación mineral sobre los rendimientos zootécnicos del cebú Gobra.

**Palabras clave:** Ganado bovino - Cebú Gobra - Fosfato mineral - Enriquecimiento de los alimentos - Pastizal - Sahel - Senegal.

Note de lecture

## Grass for Dairy Cattle

J.H. Cherney,  
D.J.R. Cherney, éditeurs

□ Cet ouvrage de 404 pages en anglais, édité par J.H. Cherney, spécialiste des sols, et D.J.R. Cherney, zootechnicien, de l'Université de Cornell, New York, Etats-Unis, traite du rôle que peuvent (re)jouer les graminées fourragères dans la production animale et particulièrement pour la production laitière intensive dans les régions tempérées et intertropicales.

Il n'a pas d'équivalent en français et il est particulièrement d'actualité si l'on se réfère à l'intérêt grandissant porté par les scientifiques et le reste de la communauté, soutenu par les politiques et les médias, sur l'environnement, la pollution des aliments et les problèmes économiques et sociaux liés aux productions animales et agricoles.

On sait, en effet, que le pâturage a été en partie remplacé en Europe et aux Etats-Unis, depuis quelques décennies, par des ressources plus productives et plus concentrées (ensilage de maïs, en particulier), des concentrés énergétiques (céréales) et des compléments azotés (tourteaux de coton, de soja...) qui permettent certes une plus grande intensification, mais cette dernière se faisant souvent au détriment de l'environnement et des lois de l'économie de marché. Le pâturage a toutefois repris de son importance depuis quelques années dans les systèmes de production.

Cet ouvrage traite donc de l'utilisation des espèces fourragères prairiales (principalement des graminées, peu des légumineuses) par des bovins à haute productivité. Il comprend 15 chapitres (dont deux traitent spécifiquement des graminées tropicales et de leurs problèmes

dans les zones intertropicales), chacun rédigé par des spécialistes anglo-saxons des domaines traités :

1. L'avenir des graminées pour les vaches laitières
2. Sélection des graminées des régions tempérées
3. Sélection des graminées tropicales et subtropicales
4. Caractéristiques du couvert et effets de la gestion sur la qualité des graminées des régions tempérées
5. Gestion et qualité des graminées des régions tropicales et subtropicales
6. Gestion du potassium
7. Gestion de l'azote et durabilité
8. Gestion du phosphore et durabilité
9. Ensilage des graminées
10. Balles rondes et balles enrubannées
11. Principes de la croissance des graminées et utilisation des pâturages
12. Systèmes de gestion des pâturages pour les vaches laitières
13. Complémentation des pâturages à base de graminées des régions tempérées pour les vaches laitières
14. Modélisation de l'utilisation des graminées par les vaches laitières
15. Economie des graminées pour les vaches laitières

Ces chapitres, écrits par des spécialistes d'Australie, d'Europe (Royaume-Uni), de Nouvelle-Zélande, d'Amérique du Nord et du Sud, s'appuient sur une littérature abondante, variée, souvent récente et, malheureusement, presque uniquement anglophone (quelques références francophones sont citées lorsqu'elles ont été publiées en anglais).

Les chapitres 3 et 5 présentent un intérêt particulier puisqu'ils traitent des espèces tropicales.

Dans le chapitre 3, les auteurs australien et brésilien passent en revue les principaux genres et les espèces fourragères graminéennes les plus utilisées sous les Tropiques pour la production laitière intensive (généralement située en altitude et/ou sur des sols relativement riches).

Ils commentent les cultivars qui ont été sélectionnés dans des centres de recherche, entre autres celui de l'Embrapa/Ird (ex-Orstom) au Brésil, du Ciat en Colombie et du Csiro en Australie, et qui ont été diffusés chez les producteurs dans le monde tropical en précisant leurs conditions d'utilisation.

Dans le chapitre 5, la gestion de ces espèces tropicales, particulièrement par coupe et distribution à l'auge, et leur qualité nutritive sont analysées et accompagnées de nombreux exemples commentés.

Bien que dans les chapitres suivants soient traitées plus spécifiquement les graminées des zones tempérées, la fertilisation (azote, phosphore, potassium) et sa gestion sont (re)situées dans un contexte plus écologique (moins de pertes, moins de pollution) et de durabilité biologique et économique. Par ailleurs, les nouvelles technologies de conservation des fourrages (ensilage et surtout balles enrubannées) sont présentées.

Le chapitre 11 nous semble particulièrement intéressant car il n'existe, à notre connaissance, aucune synthèse équivalente en français. Il traite de la physiologie des graminées fourragères et de leur relation pour une utilisation optimale de celles-ci par pâture à partir de la morphologie de la plante, de l'animal et du point de vue du producteur (période optimale de pâture durant la repousse, fréquence et sévérité de la défoliation, etc.).

Les deux derniers chapitres (modélisation et économie des graminées) sont plus théoriques mais au cœur de l'actualité dans les questions de recherche et de marché.

En conclusion, un ouvrage de référence pour tout spécialiste ou chercheur, technicien, étudiant, vulgarisateur, industriel intéressé par l'intensification fourragère et la production laitière et les travaux de recherche anglo-saxons, anciens et récents, sur le sujet.

Georges RIPPSTEIN  
Cirad-emvt

J.H. Cherney, D.J.R. Cherney, eds., 1998. Grass for Dairy Cattle, 404 p. CAB International, CABI Publishing, Wallingford, Oxon OX10 8DE, UK. Tel.: +44 (0)1 491 83 21 11; Fax: +44 (0)1 491 83 35 08; E-mail: cabi@cabi.org - ISBN 0-85199-288-9



# Ingestibilité et digestibilité chez le mouton des foins de cinq graminées tropicales

C. Kaboré-Zoungana<sup>1</sup> A. Toguyeni<sup>1</sup> Y. Sana<sup>1</sup>

## Mots-clés

Ovin Djallonké - *Andropogon gayanus* - *Panicum anabaptistum* - *Pennisetum pedicellatum* - *Brachiaria lata* - *Andropogon pseudapricus* - Prise alimentaire - Digestibilité - Valeur nutritive - Burkina Faso.

## Résumé

Cinq graminées fourragères tropicales, deux pérennes (*Andropogon gayanus* Kunth. et *Panicum anabaptistum* Steud.) et trois annuelles (*Pennisetum pedicellatum* Trin., *Brachiaria lata* Schum. et *Andropogon pseudapricus* Stapf.), ont été exploitées à divers stades phénologiques se situant entre les stades tallage et paille. Les quantités de matière sèche (MS) volontairement ingérées par le mouton Djallonké de 23 foins de ces graminées ont varié de 108 à 26 g/kg de poids métabolique, selon l'espèce et le stade phénologique. Ces foins se sont caractérisés par des teneurs en matières azotées totales (MAT) faibles (131 à 8 g/kg MS). Les teneurs en matières azotées digestibles (MAD) des rations composées de ces foins, distribués seuls ou complétés avec des sources azotées (tourteau de coton, fanes de légumineuses), étaient positivement et étroitement liées ( $r = 0,996$  ; écart type résiduel (ETR) = 2,61 ;  $n = 36$ ) aux teneurs en MAT ingérées. La diminution de la digestibilité de la matière organique (dMO) au cours du cycle (0,21 point/jour) a entraîné une diminution d'ingestion de 1,6 g de matière sèche par kilogramme de poids métabolique et par point de dMO. Cette dMO a été très dépendante des teneurs en parois non digérées (NDFnd) de ces foins ( $r = 0,979$  ; ETR = 2,15 ;  $n = 23$ ), et la fraction soluble S (1 000 - NDF) a eu une digestibilité réelle de l'ordre de 100 p. 100.

## ■ INTRODUCTION

Un des problèmes importants auquel est confronté l'élevage des pays soudano-sahéliens est la fluctuation considérable avec la saison de l'état corporel et du poids des animaux. Le système d'élevage traditionnel des ruminants, totalement tributaire du pâturage naturel et des résidus de culture, vit au rythme des saisons et de la pluviométrie. Chaque année, les longues transhumances effectuées par le bétail sont de moins en moins efficaces, l'espace pastoral se rétrécissant sans cesse.

En attendant l'essor de la culture fourragère, qui est une pratique naissante au Burkina Faso et confinée aux zones aménagées, la constitution de réserves fourragères à partir des productions naturelles semble incontournable si l'on veut couvrir ne serait-ce que les besoins d'entretien des animaux et/ou obtenir une légère production durant la longue saison sèche. Partant de ce constat, l'apport d'aliments complémentaires sous forme de foins a été

envisagé dans cette étude. Encore faut-il alors s'assurer que la valeur alimentaire (ingestibilité et digestibilité) de ces derniers est en mesure de pallier à un tel déficit quantitatif et qualitatif des ressources fourragères.

Des valeurs de digestibilité d'espèces tropicales (dont *Andropogon gayanus* et *Pennisetum pedicellatum*) existent dans la littérature. Il ressort, par exemple, des nombreuses données compilées par Butterworth et Butterworth (4), une forte variabilité liée à l'espèce, mais les stades phénologiques et les conditions de mesures ne sont pas toujours précisés, alors qu'ils sont d'importants facteurs de variation.

Il est par conséquent nécessaire pour les espèces végétales étudiées ici que des valeurs nutritives soient données pour des stades phénologiques définis. De plus, la comparaison entre ces espèces sera d'autant plus valable que les mesures auront été effectuées dans les mêmes conditions.

Cinq graminées fourragères parmi les plus représentatives de la zone Nord soudanienne du Burkina Faso ont été retenues. Il s'agit de deux espèces pérennes, *Andropogon gayanus* Kunth. et *Panicum anabaptistum* Steud., et de trois espèces annuelles, *Pennisetum pedicellatum* Trin., *Andropogon pseudapricus* Stapf. et *Brachiaria lata* Schum.

1. IDR, Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, 01 BP 1091, Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso



## ■ MATERIEL ET METHODES

Les espèces étudiées ont été choisies pour leur appétibilité et leur contribution spécifique élevée sur les pâturages de la zone d'étude à la Station expérimentale de Gampéla (12°25' de latitude Nord et 1°21' de longitude Ouest) où s'est déroulée l'étude. Ces espèces se retrouvent sur trois types de pâturages : pâturages de plateau, pâturages de bas-fond et pâturages intermédiaires entre le plateau et le bas-fond. Elles y forment par endroits de larges plages continues quasi monospécifiques.

Les graminées ont été exploitées à divers stades phénologiques se situant entre les stades tallage et paille (tableau I). Le fourrage une fois fauché a été préfané au soleil une journée ou deux (en fonction du temps), puis séché à l'ombre sous un hangar, avec plusieurs retournements.

Le foin ainsi préparé a été distribué *ad libitum* à des moutons adultes mâles castrés de race Djallonké et d'un poids vif moyen de  $21,67 \pm 1,18$  kg. Le taux de refus toléré avec les fourrages tempérés (10 p. 100) est difficilement transposable aux fourrages tropicaux, du fait de leur caractère plus grossier, et a donc été majoré (15 à 25 p. 100). Cependant, la limite supérieure de 25 p. 100 était difficile à respecter pour certains stades, selon l'espèce, sous peine de mettre en péril la vie des animaux. Pour ces raisons, les taux de refus ont été élevés à 40 p. 100 pour

les stades paille de *Pennisetum pedicellatum* et maturation d'*Andropogon gayanus* et à 30 p. 100 pour cette dernière espèce à partir de l'épiaison.

Certains foins tardifs ont été non seulement distribués seuls mais aussi parfois avec un complément azoté. Dans ce cas, les valeurs obtenues n'ont été utilisées que pour le calcul des liaisons dMA/MAT.

Pour chaque mesure d'ingestibilité et de digestibilité, un lot homogène de six animaux a été constitué sur la base du poids vif. Ces moutons ont été maintenus en cages à métabolisme individuelles, ce qui a permis la mesure exacte des quantités d'aliments offertes et refusées ainsi que des fèces excrétées. La période pré-expérimentale de 15 jours a été suivie d'une période de collecte des fèces de sept jours.

La composition chimique des fourrages distribués et refusés et celle des fèces ont été déterminées. Les analyses chimiques suivantes ont été effectuées : matière sèche (MS) à l'étuve à 105 °C pendant 24 h ; cendres totales (MM) par calcination de la matière sèche à 550 °C ; matières azotées totales (MAT) correspondant à l'azote selon Kjeldahl ( $N \times 6,25$ ) ; constituants pariétaux, NDF (*neutral detergent fiber*), ADF (*acid detergent fiber*) dosé directement sur l'échantillon et ADL (*acid detergent lignin*) sulfurique déterminé à partir de l'ADF ; énergie par calorimétrie.

Tableau I

Quantité de matière sèche ingérée (g/kg  $p^{0,75}$ ) en fonction du stade phénologique

Stade phénologique		Pérennes		Annuelles		
		Ag	Pa	Ap	Bl	Pp
Tallage (début)	MSVI (g/kg $p^{0,75}$ )	68				74
	dMO (%)	56				66
	Taux de refus (%)	22				17
Tallage (fin)	MSVI (g/kg $p^{0,75}$ )	53	57			81
	dMO (%)	49	51			67
	Taux de refus (%)	23	32			20
Montaison	MSVI (g/kg $p^{0,75}$ )	40		45	108	72
	dMO (%)	43		53	68	61
	Taux de refus (%)	31		22	12	17
Epiaison	MSVI (g/kg $p^{0,75}$ )	32	58	41	98	60
	dMO (%)	43	45	48	61	58
	Taux de refus (%)	36	21	25	22	27
Fructification	MSVI (g/kg $p^{0,75}$ )	38	53			50
	dMO (%)	39	43			58
	Taux de refus (%)	31	24			20
Maturation	MSVI (g/kg $p^{0,75}$ )	26				42
	dMO (%)	31				48
	Taux de refus (%)	43				28
Dissémination	MSVI (g/kg $p^{0,75}$ )		50			
	dMO (%)		32			
	Taux de refus (%)		21			
Paille	MSVI (g/kg $p^{0,75}$ )		30	31		34
	dMO (%)		39	46		38
	Taux de refus (%)		33	27		40

*Andropogon gayanus* (Ag), *Panicum anabaptistum* (Pa), *Andropogon pseudapricus* (Ap), *Brachiaria lata* (Bl), *Pennisetum pedicellatum* (Pp)  
MSVI : matière sèche volontairement ingérée ; dMO : digestibilité de la matière organique

La valeur nutritive des foins est déterminée en calculant leurs valeurs énergétiques et azotées. Les valeurs énergétiques sont exprimées en unités fourragères lait (UFL), calculées à partir de l'énergie digestible (1) ; les valeurs azotées, exprimées en protéines digestibles dans l'intestin (PDI), sont calculées à partir des équations proposées par l'Inra (13), intégrant les teneurs en matières azotées totales et en cellulose brute du fourrage.

Les résultats obtenus ont été analysés au moyen du système Statgraphics (21). L'étude des relations entre les différentes variables a été effectuée par une analyse de régression et de variance (ANOVA). Les différences considérées comme significatives le sont au seuil de probabilité de  $p < 0,05$ .

## ■ RESULTATS

### Composition chimique des fourrages

Le tableau II donne, par espèce, les valeurs extrêmes des teneurs en constituants chimiques des fourrages distribués. Ces teneurs ont varié selon l'espèce et le stade. A stade phénologique équivalent, les teneurs en MAT ont été supérieures chez *Brachiaria lata*, puis chez *Pennisetum pedicellatum*, *Panicum anabaptistum*, *Andropogon gayanus* et *Andropogon pseudapricus*. Les teneurs en parois totales (NDF), à l'inverse, ont été plus faibles.

La diminution des teneurs en MAT avec l'âge a été très importante au cours du cycle. Elle a été plus brutale en début de végétation pour les espèces annuelles et plus faible par la suite pour toutes les espèces entre la montaison et les stades reproducteurs.

### Ingestibilité

Les quantités de matière sèche volontairement ingérées par le mouton ont varié de 1 081 à 268 g, soit de 108 à 26 g/kg de poids métabolique ( $p^{0,75}$ ) selon l'espèce et le stade phénologique (tableau I).

*Brachiaria lata* a été l'espèce consommée en plus grande quantité. A l'épiaison, son ingestibilité a été de 98 g/kg  $p^{0,75}$ , supérieure à celle de toutes les autres espèces, même lorsqu'elles étaient au stade très jeune. Cependant, les différences d'ingestibilité liées à l'espèce ont été plus faibles que celles liées aux stades phénologiques, c'est-à-dire à l'âge des espèces.

Sur des durées de mesure variant, selon l'espèce, de 30 à 95 jours la diminution journalière a été voisine (0,39 à 0,49 g/kg  $p^{0,75}$ ), bien que, pour une espèce donnée, elle n'ait pas été uniforme tout au long du cycle et qu'elle ait eu tendance à s'accroître avec l'âge du fourrage.

### Digestibilité

La digestibilité des 23 foins de graminées a varié de 67 à 30 p. 100 pour la matière sèche (dMS) et de 68 à 31 p. 100 pour la matière organique (dMO) selon l'espèce et le stade phénologique (figure 1). A stade phénologique équivalent, les espèces ont différé du point de vue de la dMS et de la dMO :

*Brachiaria lata* > *Pennisetum pedicellatum* > *Andropogon pseudapricus* > *Panicum anabaptistum* = *Andropogon gayanus*

A un stade donné, la plus grande différence de dMO entre espèces (*Brachiaria lata* et *Andropogon gayanus* à la montaison) a atteint 25 points et la plus faible (*Andropogon pseudapricus* et *Andropogon gayanus* au stade paille) 8 points.

La diminution journalière de la dMO des foins \* a été en moyenne de 0,21 point. La diminution au cours du cycle (stade tallage à paille) a été considérable. Elle a été de 18 points chez *Andropogon gayanus*.

La digestibilité des parois (dNDF et dADF) a varié respectivement de 77 à 32 p. 100 et de 69 à 26 p. 100. La digestibilité de la cellulose brute (dCB) a varié de 70 à 40 p. 100 et a été en moyenne supérieure de 4 points à la dADF (tableau II).

\* Sauf pour *Brachiaria lata*, non évaluée à cause du nombre insuffisant de données

Tableau II

Valeurs extrêmes des teneurs en constituants chimiques (g/kg MS), de la digestibilité (%) des parois et de la valeur nutritive des foins de graminées exprimée en unités fourragères lait (UFL), protéines digestibles dans l'intestin (PDI) et en matière organique digestible ingérée (MODI)

	Pp	Ag	Pa	Ap	BI
Constituants chimiques					
Cendres	138-81	63-40	63-50	70-47	121-120
MAT	96-16	57-18	70-17	25-8	131-120
NDF	644-803	748-828	755-848	794-819	649-686
ADF	353-520	396-520	399-446	494-538	313-327
ADL	23-69	29-61	47-65	28-63	33-41
CB	331-474	370-492	382-447	464-506	305-313
Digestibilité des parois					
NDF	72-45	63-32	58-35	55-47	73-61
ADF	69-40	59-30	52-26	56-52	65-54
CB	70-43	62-42	51-42	63-55	75-62
Valeur nutritive					
UFL	0,59-0,16	0,41-0,08	0,39-0,13	0,24-0,19	0,84-0,62
PDI	48-6	29-5	28-5	8-7	90-81
MODI (g/kg $p^{0,75}$ )	46-12	33-13	28-9	23-14	64-52

*Pennisetum pedicellatum* (Pp), *Andropogon gayanus* (Ag), *Panicum anabaptistum* (Pa), *Andropogon pseudapricus* (Ap), *Brachiaria lata* (BI)  
MAT : matières azotées totales ; NDF : neutral detergent fiber ; ADF : acid detergent fiber ; ADL : acid detergent lignin ; CB : cellulose brute

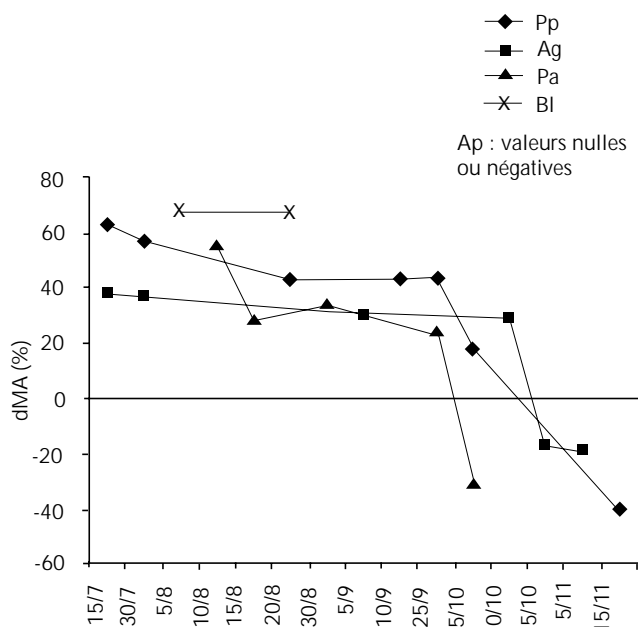
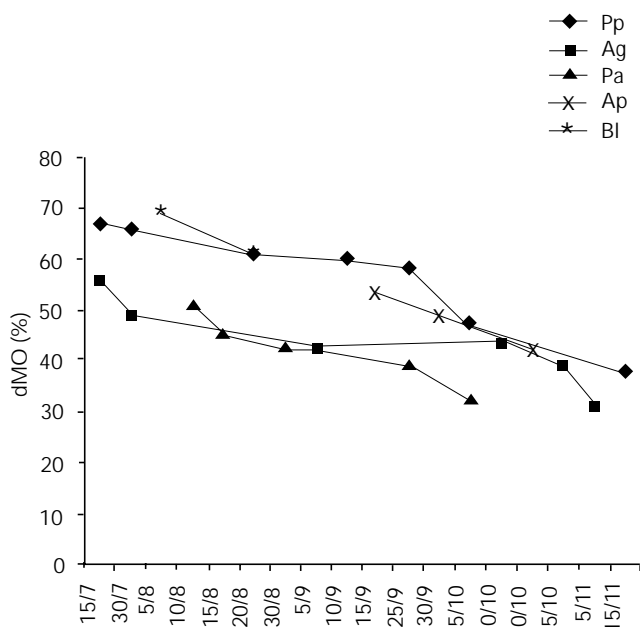


Figure 1 : évolution au cours du cycle de végétation de la digestibilité (%), de la matière organique (dMO) et des matières azotées (dMA) de Pennisetum pedicellatum (Pp), Andropogon gayanus (Ag), Panicum anabaptistum (Pa), Andropogon pseudapricus (Ap) et Brachiaria lata (BI).

La digestibilité des matières azotées (dMA) des foin a été beaucoup plus variable que leur dMO (figure 1). La dMA maximale a été de 68 p. 100 (*Brachiaria lata* à la montaison) et les dMA ont été nulles et négatives respectivement à partir de la montaison pour *Andropogon pseudapricus* et du stade paille pour toutes les autres espèces.

Relation entre l'ingestibilité et la digestibilité

L'exploitation plus tardive du fourrage s'est traduite par une baisse des quantités de foin ingérées par l'animal, suite à une modification de la composition chimique et de la digestibilité de la matière organique. Une diminution d'un point de la dMO s'est traduite par une diminution d'ingestion de 1,6 g de MS/kg p<sup>0,75</sup> (figure 2).

L'espèce végétale a cependant été un facteur de variation important, puisque, avec la même digestibilité, la quantité de MS ingérée pouvait être très différente. C'est ainsi que, par exemple, avec *Brachiaria lata* au stade montaison elle a été de 36 g/kg p<sup>0,75</sup> (soit de 49 p. 100) plus élevée qu'avec *Pennisetum pedicellatum* au même stade. Cette différence correspond à 21 g de matière organique digestible ingérée (MODI) par kilogramme de poids métabolique, soit l'équivalent du besoin d'entretien.

Les teneurs en MAT du foin distribué expliquent au mieux (r = +0,89) la variation de la quantité de MS ingérée (figure 3). Les liaisons avec les éléments des parois ont été moins étroites : r = -0,84 pour l'ADF ; r = -0,77 pour le NDF ; r = -0,31 pour l'ADL.

Relation entre les teneurs en MAD et MAT

A partir des foin distribués seuls et de rations composées de ces mêmes foin, complétés avec des sources de matières azotées (fanés de légumineuses ; tourteaux de coton, n = 13), une relation linéaire avec une précision acceptable (écart type résiduel (ETR) = 2,67) a pu être établie entre les teneurs en MAD et MAT des foin (figure 4).

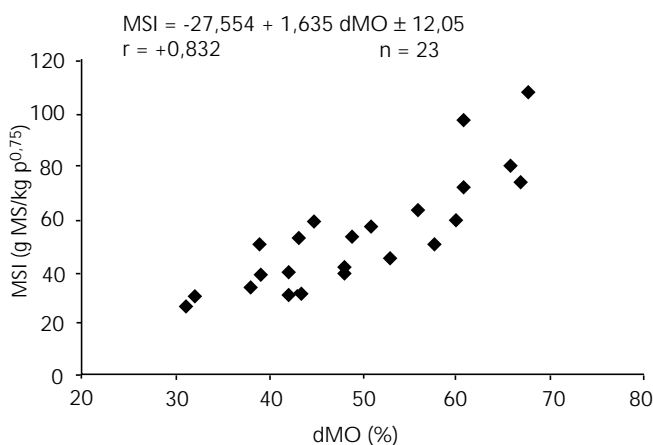


Figure 2 : variation de l'ingestibilité (MSI) en fonction de la digestibilité de la matière organique (dMO) des foin.

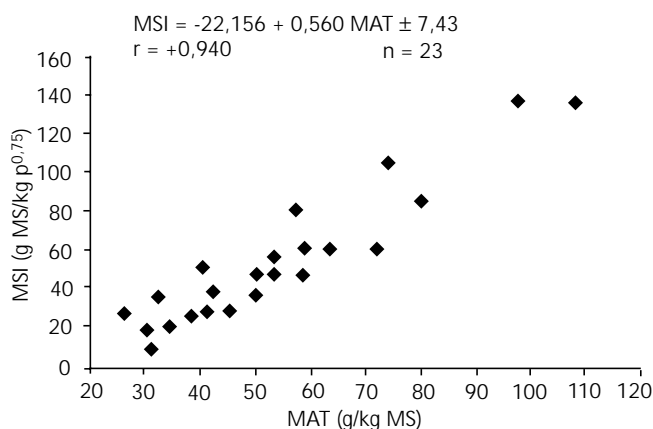


Figure 3 : variation de l'ingestibilité (MSI) en fonction des matières azotées totales (MAT) des foin.

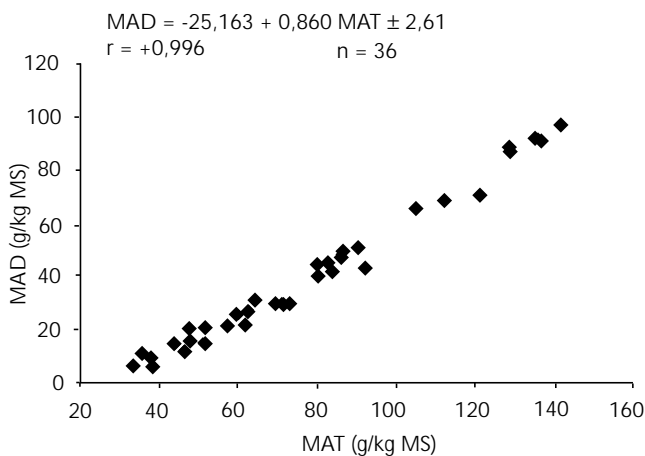


Figure 4 : relation entre les teneurs en matières azotées digestibles (MAD) et les teneurs en matières azotées totales (MAT) des foins seuls ou complémentés.

La digestibilité réelle des MAT a été très élevée (86 p. 100). Les teneurs en matières azotées non digestibles (MAND) calculées à partir des teneurs en MAT et de la digestibilité apparente ont été de l'ordre de  $35,5 \pm 5,3$  g.

#### Relation entre la digestibilité des parois et les teneurs en ces parois

Des différents constituants des parois (NDF, ADF et ADL), seule la teneur en NDF a été liée significativement à la dNDF ( $r = -0,57$ ). L'écart type résiduel élevé (11 points de digestibilité) s'explique par le fait qu'à teneur équivalente de NDF dans l'ingéré, la digestibilité pouvait être très différente selon l'espèce. Elle a été par exemple de 65 et 40 p. 100 respectivement chez *Pennisetum pedicellatum* et *Andropogon gayanus* pour une teneur dans l'ingéré de 750 g. La différence doit provenir, du moins en partie, des teneurs en ADL plus faibles pour *Pennisetum pedicellatum* que pour *Andropogon gayanus* (41 contre 57 g/kg MS).

En revanche, la fraction soluble (S) des foins correspondant à celle éliminée lors du dosage du NDF a été totalement utilisable, comme en témoigne la relation linéaire établie entre la digestibilité de cette fraction (SD) et les teneurs (figure 5). La digestibilité réelle de S a été de l'ordre de 100 p. 100.

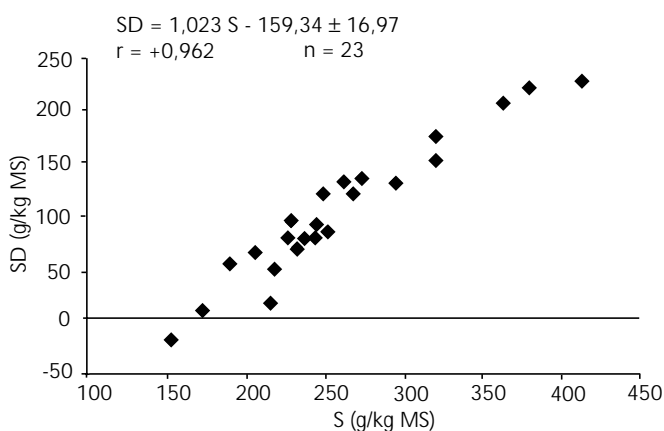


Figure 5 : relation entre les fractions soluble digestible (SD) et soluble ingérée (S) des foins de graminées.

#### DISCUSSION

De nombreuses valeurs d'ingestibilité de fourrages tropicaux existent dans la littérature pour les espèces distribuées en vert (9, 17, 19) ou sous forme de foins (de 35 à 68,5 g/kg p<sup>0,75</sup>) (5, 11, 22). Des taux de refus variables (de 5 à plus de 50 p. 100) ont été tolérés, alors que l'ingestibilité a été influencée par les quantités de MS offertes (12) qui conditionnent le degré de tri opéré par l'animal (23) dans le cas des fourrages pauvres.

Des cinq espèces étudiées, *Brachiaria lata* était la plus digestible, contenait plus de constituants solubles digestibles et moins de parois non digestibles et avait aussi l'ingestibilité la plus élevée.

L'ingestibilité et la dMO des foins étudiés ont évolué dans le même sens. La théorie de la limitation de l'ingestibilité par la masse de parois dans le rumen, et surtout sa dépendance vis-à-vis de la vitesse de dégradation après un temps de séjour court (8), est largement reconnue, faisant du NDF un critère de prévision relativement efficace pour la prédiction de l'ingestibilité (10). Cependant, c'est la teneur en MAT des foins qui permet de prédire au mieux l'ingestibilité, grâce, probablement, à une plage de variation des teneurs en MAT importante et aussi parce que la teneur en MAT évolue, comme la proportion de feuilles dont l'ingestibilité est bien supérieure à celle des tiges. Mais cela peut aussi être dû en partie au fait que des teneurs faibles en MAT n'assurent pas les besoins de la microflore et inhibent ainsi la cellulolyse (15).

Des évolutions et des valeurs de dMO comparables à celles obtenues dans cette étude ont été observées pour des foins de graminées tropicales par d'autres auteurs : 70 à 54 p. 100 (22) et 59 p. 100 (11). La diminution moyenne de la dMO, comprise entre 0,19 et 0,23 point par jour, était comparable à celle trouvée pour les fourrages verts tropicaux, mais moins variable : 0,21 à 0,39 point/jour (6,7) ou 0,18 à 0,41 point/jour (20).

La dMO était positivement et étroitement corrélée à la digestibilité des parois totales et, plus que les teneurs dans l'aliment, elle était très dépendante des teneurs en fraction non digérée des parois (NDFnd) (figure 6). Ces résultats concordent avec ceux d'Aufrère et coll. (2). Il existe en fait peu de constituants intracellulaires d'origine alimentaire dans les fèces, comme le confirme l'équation établie pour les foins de cette étude entre la fraction soluble et sa digestibilité, ou pour d'autres fourrages tropicaux (5, 18). La fraction indigestible de 159 g de fraction soluble par kilogramme de matière sèche ingérée serait donc essentiellement d'origine

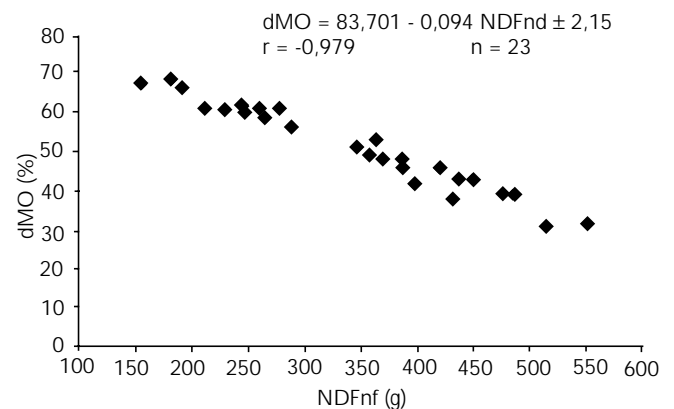


Figure 6 : relation entre la digestibilité de la matière organique (dMO) et les teneurs en NDF (neutral detergent fiber) non digestible (NDFnd) des foins de graminées.

métabolique. La fraction de NDFnd évolue comme la teneur en NDF des foins ; elle s'accroît avec l'âge du fourrage, conséquence du vieillissement, de la lignification et de la modification de la composition morphologique.

L'évolution au cours du cycle de végétation de la dMA, plus importante que celle de la dMO, a suivi celle de la teneur en MAT des fourrages. La digestibilité réelle des MAT des foins (86 p. 100) a été identique à celle trouvée pour un nombre plus important de foins tropicaux (16), mais elle a été légèrement plus faible que celle obtenue pour des fourrages verts tropicaux (6, 20).

La dMA apparente n'a guère dépassé 68 p. 100, à cause des teneurs élevées en azote des fèces provenant, d'une part, de la fraction alimentaire non digestible (en moyenne 14 p. 100), qui correspondrait en majorité à la fraction d'azote liée aux parois, et, surtout, des 25 g de MAT d'origine non alimentaire, excrétés par kilogramme de matière sèche ingérée, constitués à 57-87 p. 100 par des résidus bactériens (14).

## ■ CONCLUSION

Les valeurs d'ingestibilité et de digestibilité, en dehors de *Brachiaria lata* et des stades jeunes des autres espèces, ont été plutôt

faibles. Elles ont conduit à une production animale limitée par un apport azoté ou énergétique déficient. La couverture du besoin d'entretien (estimé à 0,44 UFL et 34 g PDI) ne peut être assurée par les seules distributions de *Pennisetum pedicellatum* au stade tallage et de *Brachiaria lata* jusqu'à l'épiaison.

On sait que les valeurs d'ingestibilité et de digestibilité des foins sont plus faibles que celle des fourrages verts correspondants. Il n'empêche que la production animale a été généralement faible, voire négative, sur les pâturages de la zone d'étude, au delà de l'épiaison. Le facteur incriminé le plus limitant était sans doute l'ingestion de MS qui a été plus variable (de 1,9 fois) que la digestibilité. Elle conditionne, plus que cette dernière, la quantité de MOD ingérée par les animaux.

La capacité d'ingestion limitée a probablement résulté des teneurs élevées en parois des foins, entraînant une vitesse de dégradation plus lente, associée à un apport d'azote insuffisant pour l'activité cellulolytique et la couverture des besoins des animaux.

Le contenu des espèces au stade retenu pour leur exploitation, moins de parois et plus de MODI, pourrait servir de critères de choix et de classification. Dans ce cas, *Brachiaria lata* est de loin la meilleure.

## BIBLIOGRAPHIE

- ANDRIEU J., DEMARQUILLY C., WEGAT-LITRE E., WEISS Ph., 1981. Prévion de la valeur énergétique des foins. In : Prévion de la valeur nutritive des aliments des ruminants. Versailles, France, Inra publications, p. 119-127.
- AUFRERE J., GRAVIOU D., DEMARQUILLY C., ANDRIEU J., EMILE J.C., GIOVANNI R., MAUPETIT P., 1992. Estimation of organic matter digestibility of whole maize plants by laboratory methods. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **36**: 187-204.
- BUTTERWORTH M.H., 1967. The digestibility of tropical grasses. *Nutr. Abstr. Rev.*, **37**: 349-351.
- BUTTERWORTH M.H., BUTTERWORTH J., 1965. Some aspects of utilisation of tropical forages. 2. Pangola and costal Bermuda hays. *J. Agric. Sci.*, **65**: 389-395.
- CARLIER L.A., COTTYN B.J., AERT J.V., 1976. Apparent and true digestibility of Weende components, cell content and cell wall of ryegrass. *An. Feed Sci. Technol.*, **1**: 607-617.
- CHENOST M., 1973. La valeur alimentaire de quatre graminées et d'une légumineuse tropicales et ses facteurs de variation. *Fourrages*, **54**: 87-108.
- CHENOST M., 1975. La valeur alimentaire du Pangola (*Digitaria decumbens* stent.) et ses facteurs de variation, en zone tropicale humide. *Ann. Zootech.*, **24**: 327-349.
- DEMARQUILLY C., CHENOST M., 1969. Etude de la digestion des fourrages dans le rumen par la méthode des sachets de nylon ; liaison avec la valeur alimentaire. *Ann. Zootech.*, **18**: 419-436.
- DIENG A., BULDGEN A., COMPERE R., 1991. La culture fourragère temporaire d'*Andropogon gayanus* Kunth var. *bisquamulatus* en zone soudano-sahélienne sénégalaise - 4. Composition chimique et valeur alimentaire du fourrage. *Bull. Rech. agro. Gembloux*, **26**: 351-366.
- DULPHY J.P., 1987. Prévion de l'ingestibilité des foins chez le mouton à partir de leur teneur en parois. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **27**: 193-194.
- GIHAD E.A., 1976. Intake, digestibility and nitrogen utilisation of tropical natural grass hay by goat and sheep. *J. Anim. Sci.*, **43**: 879-883.
- HAGGAR R.J., AHMED M.B., 1970. Seasonal production of *Andropogon gayanus* - II. Seasonal changes in digestibility and feed intake. *J. agric. Sci.*, **77**: 47-52.
- INRA, 1978. Alimentation des ruminants. Versailles, France, Inra publications, 597 p.
- MASON V.C., 1969. Some observations on the distribution and origin of nitrogen in sheep faeces. *J. agric. Sci.*, **73**: 99-111.
- MILFORD R., MINSON D.J., 1965. Intake of tropical pasture species. In: Proc. IXth International Grassland Congress, Sao Paulo, Brazil, 07-20 January 1965, p. 815-822.
- MILFORD R., MINSON D.J., 1965. The relation between the crude protein content and digestible crude protein content of tropical pasture plants. *J. Br. Grassl. Soc.*, **20**: 177-179.
- MINSON D.J., 1972. The digestibility and voluntary intake by sheep of six tropical grasses. *Aust. J. exp. Agric. Anim. Husb.*, **12**: 21-27.
- MINSON D.J., 1984. Digestibility and voluntary intake by sheep of five *Digitaria* species. *Aust. J. exp. Agric. Anim. Husb.*, **24**: 494-500.
- MINSON D.J., BRAY R.A., 1986. Voluntary intake and *in vivo* digestibility by sheep of five lines of *Cenchrus ciliaris* selected on the basis of preference rating. *Grass Forage Sci.*, **41**: 47-52.
- RICHARD D., 1987. Valeur alimentaire de quatre graminées fourragères tropicales. Maisons-Alfort, France, Cirad-lemvt, 314 p.
- STATGRAPHICS, 1988. Statistical graphics system. Cary, NC, USA, STSC.
- VENTURA M., MOORE J.E., RUELKE O.C., FRANKE D.E., 1975. Effect of maturity and protein supplementation on voluntary intake and nutrient digestibility of *Pangola digitaria* grass hays. *J. Anim. Sci.*, **40**: 769-774.
- ZEMMELINK G., HAGGAR R.J., DAVIES J.H., 1972. A note on voluntary intake of *Andropogon gayanus* hay by cattle, as affected by level of feeding. *Anim. Prod.*, **15**: 85-88.

Reçu le 5.9.97, accepté le 10.9.99



## Summary

**Kaboré-Zougrana C., Toguyeni A., Sana Y.** Feed intake and digestibility by sheep of five tropical grass hays

Five tropical grass hays, two perennial (*Andropogon gayanus* Kunth. and *Panicum anabaptistum* Steud.) and three annual (*Pennisetum pedicellatum* Trin., *Brachiaria lata* Schum. and *Andropogon pseudapricus* Stapf.) were used at various phenological stages occurring between tillering and the straw stage. Depending on the species and phenological stage, voluntary intake amounts of dry matter (DM) of 23 grass hays by Djallonke (= West African Dwarf) sheep varied from 108 to 26 g/kg of metabolic weight. Total crude protein contents (TCP) of these hays were low (131 to 8 g/kg DM). Digestible crude protein (DCP) contents of the hay rations, given alone or protein-supplemented (with cottonseed cake, legume haulms) were positively and closely related ( $r = 0.996$ ; residual standard error (RSE) = 2.61;  $n = 36$ ) to ingested TCP contents. Decrease of organic matter digestibility (OMd) during the cycle (0.21 point/day) induced an intake decrease of 1.6 g DM per kilogram of metabolic weight and per Omd point. Omd was highly correlated to the non-digested wall contents (NDFnd) of the hays ( $r = 0.979$ ; RSE = 2.15;  $n = 23$ ), and S the soluble fraction (1000 - NDF) had a true digestibility of about 100%.

**Key words:** Djallonke sheep - *Andropogon gayanus* - *Panicum anabaptistum* - *Pennisetum pedicellatum* - *Brachiaria lata* - *Andropogon pseudapricus* - Feed intake - Digestibility - Nutritive value - Burkina Faso.

## Resumen

**Kaboré-Zougrana C., Toguyeni A., Sana Y.** Ingestión y digestibilidad en el cordero de los henos de cinco graminéas tropicales

Cinco graminéas forrajeras tropicales, dos perennes (*Andropogon gayanus* Kunth. y *Panicum anabaptistum* Steud.) y tres anuales (*Pennisetum pedicellatum* Trin., *Brachiaria lata* Schum. y *Andropogon pseudapricus* Staf.), fueron explotadas a diversos estadios fenológicos, entre el estadio de macolla y el de paja. Las cantidades de materia seca ingeridas voluntariamente por el cordero Djallonké de 23 henos de estas graminéas variaron de 108 a 26 g/kg de peso metabólico, según la especie y el estadio fenológico. Estos henos se caracterizaron por tenencias en materias nitrogenadas totales (MAT) bajas (131 a 8 g/kg MS). Las tenencias en materias nitrogenadas digeribles (MAD) de las raciones compuestas de estos henos, distribuidas solas o suplementadas con fuentes nitrogenadas (torta de algodón, hojas secas de leguminosas), estuvieron positiva y estrechamente ligadas ( $r = 0,996$ ; desviación estándar residual (ETR) = 2,61 ;  $n = 36$ ) a las tenencias en MAT ingerida. La disminución de la digestibilidad de la materia orgánica (dMO) durante el ciclo (0,21 punto/día) indujo a una disminución de la ingestión de 1,6 g de materia seca por kilogramo de peso metabólico y por punto de dMO. Esta dMO fue altamente dependiente de las tenencias en las paredes no digeridas (NDFnd) de estos henos ( $r = 0,979$ ; ETR = 2,75 ;  $n = 23$ ) y la fracción soluble S (1000 - NDF) tubo una digestibilidad real del orden de 100%.

**Palabras clave:** Ovino Djallonké - *Andropogon gayanus* - *Panicum anabaptistum* - *Pennisetum pedicellatum* - *Brachiaria lata* - *Andropogon pseudapricus* - Ingestión de piensos - Digestibilidad - Valor nutritivo - Burkina Faso.

Note de lecture

## An Introduction to Animal Husbandry in the Tropics

5th Edition

W.J.A. Payne,  
R.T. Wilson

□ Quarante ans après sa première édition (1959), le classique *An Introduction to Animal Husbandry in the Tropics* fait l'objet d'une 5<sup>e</sup> édition sous la coordination de W.J.A. Payne et de R.T. Wilson. Si William Payne a été l'auteur ou le co-auteur de l'ouvrage à ses différentes éditions, Trevor Wilson, en revanche, n'y est associé, comme coordonnateur, que pour cette dernière édition. Sur les 21 chapitres de cet ouvrage, six d'entre eux ont été signés par d'autres auteurs. Cette nouvelle édition de 816 pages comprend 364 illustrations, un index général détaillé et fort utile et une bibliographie substantielle répartie par thèmes. Elle reste fidèle à son principe initial consistant à traiter de façon analytique le vaste sujet de la production animale tropicale par grands thèmes. Par ailleurs, elle a fait l'objet d'une révision de l'ensemble des chapitres et de la rédaction de quatre nouveaux chapitres sur des thèmes qui ne sont pas nécessairement nouveaux mais qui sont ainsi mieux identifiés et présentés de façon cohérente, tels que :

- la conservation des ressources génétiques animales domestiques (chapitre 5) ;
- les systèmes d'élevage durables (chapitre 6) ;
- les espèces mineures : lapin, cochon d'Inde, rats, aulacodes, reptiles... (« Microlivestock », chapitre 17) ;
- le travail animal (chapitre 21).

La cible de cet ouvrage reste large : étudiants, spécialistes et professionnels du développement de l'élevage en région tropicale. Il est, dans cette optique, d'une lecture et d'une utilisation aisée ; il compte beaucoup d'éléments techniques et pratiques ainsi que de solides références scientifiques actualisées.

L'ouvrage est toujours organisé en trois grandes parties :

- la première (« Basic Principles »), qui comprend six chapitres, traite en 175 pages des grands principes de l'élevage sous les tropiques ;
- la deuxième (« Husbandry »), la plus importante avec plus de 500 pages et 11 chapitres, aborde la « zootechnie spéciale », c'est-à-dire l'élevage des différentes espèces ;
- la troisième (« Animal Products ») traite des principales productions animales tropicales en quatre chapitres recouvrant une centaine de pages.

Dans la première partie consacrée aux bases de la production animale en milieu tropical, sont traitées, classiquement, les questions d'alimentation, d'adaptation, de santé, de génétique et de reproduction. Au-delà de ces éléments fondamentaux, les nouveaux chapitres insistent à juste titre sur deux enjeux d'actualité :

- la conservation et l'utilisation des ressources génétiques animales domestiques. Les tropiques présentent, en effet, une très large biodiversité animale pas toujours bien connue qui justifie amplement ce nouveau développement. On regrette simplement que ce chapitre ne fasse qu'une douzaine de pages, mais la deuxième partie revient sur la diversité génétique des principales espèces élevées en région tropicale ;
- la durabilité des systèmes d'élevage tropicaux. Dans le chapitre 6, également, l'exposé reste très général.

La deuxième partie, classique et assez peu modifiée par rapport à l'édition précédente, reprend les principaux élevages espèce par espèce ou par groupe d'espèces : bovins, buffles, ovins, caprins, camélidés, ânes, chevaux et mules, porcs, oiseaux domestiques, gibier et élevages mineurs. Avec ces compléments, cette nouvelle édition couvre assez bien le vaste champ des espèces animales utilisées, pour divers usages, sous les tropiques. Certains élevages ne sont, bien sûr, que survolés, comme par exemple les élevages de faune. Les aspects socio-économiques sont malheureusement très peu abordés.

Enfin, dans la troisième partie, sont abordés les principaux produits animaux : lait et produits laitiers, viandes et sous-produits de l'abattage, les fibres animales (laines et poils), le travail animal. On aurait pu y introduire la valorisation des déjections et la gestion de la fumure animale qui tiennent encore une place importante dans de nombreux systèmes mixtes du Sud.

L'ensemble de ces présentations est très complet mais reste analytique. L'iconographie de l'ouvrage est hélas en noir et blanc et de petite taille ; les illustrations sont néanmoins précises et bien choisies, même si certaines ayant passé au travers des différentes ré-éditions datent quelque peu. Un tel sujet aurait pu justifier des illustrations plus abondantes et plus didactiques (schémas, modèles, graphiques, etc.) et certaines parties, d'ailleurs, les utilisent de manière plaisante, mais ce n'est pas le cas de l'ensemble de l'ouvrage qui est hétérogène sur cet aspect.

Les références aux éleveurs eux-mêmes sont minimales : les auteurs ayant choisi le point de vue des sciences animales, ils ne traitent pas les aspects socio-économiques pourtant si prégnants dans le développement des systèmes d'élevage des tropiques. Les présentations thématiques font beaucoup de références à des travaux menés en Afrique orientale et australe ainsi qu'en Asie et, dans une moindre mesure, en Amérique latine. L'ambition reste globale en essayant, par exemple, de présenter la diversité des races bovines dans le monde tropical, ce qui est ambitieux.

On doit toujours regretter le peu de références à des auteurs francophones et à des travaux en français : les auteurs britanniques ne nous lisent pas dans notre langue. Les exemples dans ce domaine seraient nombreux, mais pour ne citer que le thème de la traction animale, on ne trouvera aucune référence aux travaux du Cirad, malgré les contacts excellents que nous entretenons avec l'auteur de ce chapitre et la parution récente de deux ouvrages majeurs dans ce domaine, une thèse (Eric Vall, 1996) et un ouvrage collectif (Agriculture africaine et traction animale, 1996, Cirad).

Cette somme ainsi actualisée constitue sans doute la synthèse la plus complète disponible en anglais sur l'élevage en zone tropicale. Son pendant en français, *L'élevage en pays tropicaux* de J. Pagot (1985, Maisonneuve et Larose), ne bénéficie malheureusement pas de ces actualisations périodiques dont il faut féliciter nos collègues britanniques.

Philippe LHOSTE  
Cirad-mipa

W.J.A. Payne, R.T. Wilson, 1999. *An Introduction to Animal Husbandry in the Tropics*, 5th ed. Oxford, UK, Blackwell Scientific, 816 p. To order: Marston Book Services, PO Box 269, Abingdon, Oxon OX14 4YN, UK; Fax: 01-235-46-55-55; £85.00.

# Etude du statut phylogénétique du bovin Kouri du lac Tchad à l'aide de marqueurs moléculaires

P. Souvenir Zafindrajaona<sup>1</sup> V. Zeuh<sup>1</sup>  
K. Moazami-Goudarzi<sup>2</sup> D. Laloë<sup>3</sup>  
D. Bourzat<sup>1</sup> A. Idriss<sup>1</sup> F. Grosclaude<sup>2</sup>

## Mots-clés

Bovin Kouri - *Bos taurus* - *Bos indicus* - Polymorphisme biochimique - Microsatellite - Phylogénie - Afrique occidentale - Lac Tchad.

## Résumé

Le polymorphisme de 25 systèmes de marqueurs génétiques autosomaux (11 systèmes de groupes sanguins, 5 locus de lactoprotéines et 9 microsatellites) a été analysé dans un échantillon de la population de bovins Kouri du lac Tchad provenant de la zone en bordure du lac et d'îles localisées dans la préfecture de Bol. Les résultats obtenus, ainsi que les données déjà acquises sur différentes populations de taurins et de zébus africains et sur les races françaises, ont été traités par analyse factorielle des correspondances et par des méthodes de classification pour tenter de préciser le statut phylogénétique du Kouri. Selon cette étude, basée sur des marqueurs autosomaux, le Kouri se rapproche plus des zébus que des taurins africains alors que, dépourvu de bosse et possédant le chromosome Y submétacentrique de *Bos taurus*, il est classé normalement parmi les taurins. Il reste à évaluer la validité de diverses hypothèses explicatives, d'ailleurs non exclusives, différant par l'ancienneté postulée de l'apport de gènes de zébus : parenté du Kouri avec le Sanga du Sud de l'Afrique, introgression du zébu lors de son expansion sur le continent à partir du VIII<sup>e</sup> siècle après J.-C., ou métissages, à l'époque moderne, avec les zébus entourant le bassin du lac Tchad.

## ■ INTRODUCTION

Le bovin Kouri, ou Boudouma, est un animal sans bosse, donc un taurin, élevé sur les îles et le littoral du lac Tchad, aux confins de quatre pays, le Cameroun, le Niger, le Nigeria et le Tchad. Il s'agit d'un animal de grande taille, présentant une ossature développée et dont le poids va de 400 à 500 kg chez les femelles et de 400 à 700 kg chez les mâles. Il se distingue surtout par son cornage spectaculaire, caractérisé par des cornes de grandes dimensions qui peuvent prendre des formes diverses, notamment bulbeuse ou en

lyre haute, et dont la circonférence à la base peut atteindre 80 à 100 cm. Sa robe est généralement blanche, la présence de taches noires ou rouges étant interprétée, à tort ou à raison, comme un indice de croisement avec des zébus. Ses aptitudes sont intéressantes, tant pour la production de viande que pour celle de lait (4 à 6 litres par jour environ). Les Kouris réputés « purs » sont plutôt localisés dans les zones insulaires où les éleveurs, appartenant surtout à l'ethnie Boudouma, les déplacent d'une île à l'autre en fonction des ressources fourragères. Ils exploitent la végétation aquatique (zones basses, bordures et îles flottantes) à base de graminacées et de cypéracées. A la périphérie du lac, le Kouri est souvent métissé avec des zébus Choa ou M'Bororo, conduits vers les rives par les éleveurs Foulbés et Peuls (1, 26).

Selon Epstein (5), les premiers bovins domestiques implantés en Afrique ont été des taurins à cornes longues provenant du foyer de domestication de l'Asie du Sud-Ouest. Introduits en Egypte dans la seconde moitié du cinquième millénaire avant J.-C., ils se sont ensuite répandus dans le tiers Est et Nord du continent. Au deuxième millénaire avant J.-C., une seconde vague, constituée de

1. Laboratoire de recherches vétérinaires et zootechniques de Farcha, BP 433, N'Djaména, Tchad

2. Laboratoire de génétique biochimique et de cytogénétique, Institut national de la recherche agronomique, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France

3. Station de génétique quantitative et appliquée, Institut national de la recherche agronomique, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France

Correspondance : goudarzi@biotec.jouy.inra.fr

taurins à cornes courtes, s'est répandue en Afrique à partir du même foyer d'origine, en se substituant souvent au premier peuplement. Des zébus à bosse cervico-thoracique et thoracique ont été introduits graduellement par l'Égypte et par la côte orientale de l'Afrique à partir du deuxième millénaire avant J.-C. C'est en Afrique de l'Est, et notamment en Ethiopie, que leur introgression dans les populations préexistantes de taurins à longues cornes a conduit au type Sanga, bétail métis à longues cornes qui s'est ensuite répandu vers le sud du continent. La véritable expansion du zébu en Afrique, et plus précisément du zébu à bosse thoracique, s'est faite beaucoup plus tard, avec l'invasion arabe, à partir de 700 ans environ après J.-C. Selon Epstein (5), les zébus auraient été sélectionnés en Asie du Sud-Ouest à partir de la même base populationnelle que les taurins. Toutefois, Loftus et coll. (15) ont conclu, d'une analyse comparée de l'ADN mitochondrial, que le zébu indien (*Bos indicus*) aurait été domestiqué, peut-être dans la région de l'actuel Pakistan, à partir d'une population sauvage (*Bos primigenius*) différente de la population d'origine des taurins et ayant divergé de cette dernière depuis au moins 200 000 ans. Selon la même équipe, toutes les populations de zébus africains résulteraient de l'introgression de ce zébu indien par la voie mâle dans les populations taurines préexistantes (2, 15, 16).

Le Kouri est considéré comme étant, avec le N'Dama, une des deux races reliques du peuplement initial de l'Afrique par les taurins domestiques à cornes longues. Il est possible qu'il soit le lointain descendant des taurins à cornes gigantesques qui ont peuplé l'ensemble du Sahara pendant le « néolithique humide » (de 4500 à 2500 avant J.-C.) et qui sont représentés par de célèbres gravures et peintures rupestres. Au cours des dernières décennies, le métissage assez fréquent du Kouri avec des zébus à la périphérie du lac a fait craindre l'extinction de ce type original (26). Toutefois, les pratiques des éleveurs de la zone insulaire du lac Tchad, ainsi sans doute que les difficultés d'accès à cette zone, ont permis de préserver jusqu'ici une population d'animaux généralement considérés comme purs et dont les effectifs, estimés (sans qu'ils aient jamais été connus avec certitude) à environ 30 à 50 000 (1), seraient en diminution.

L'objet du présent travail a été d'évaluer, à l'aide de diverses classes de marqueurs du génome (groupes sanguins, protéines du sang et du lait, microsatellites), les distances génétiques entre la population Kouri et diverses races ou populations de taurins et de zébus.

## ■ MATERIEL ET METHODES

### Echantillons

Les prélèvements d'échantillons individuels de sang et de lait d'animaux Kouri ont été effectués d'octobre 1994 à février 1996 dans des troupeaux privés localisés dans la préfecture de Bol, en bordure et sur des îles du lac Tchad. La collecte a porté au total sur 169 échantillons de lait, 140 prises de sang destinées au typage des microsatellites après extraction de l'ADN et 94 prises de sang pour l'analyse des groupes sanguins, les trois types de prélèvements ayant souvent été effectués sur des animaux différents (tableau I). Des échantillons de sang destinés au typage des microsatellites ont également été prélevés sur 37 zébus M'Bororo et 33 zébus Choa dans des troupeaux en bordure du lac.

Les échantillons de sang destinés au typage des microsatellites et les échantillons de lait ont été congelés à -20 °C jusqu'à leur expédition vers la France (Laboratoire de génétique biochimique et de cytogénétique). Les échantillons de sang destinés à l'analyse des groupes sanguins ont été expédiés par avion de Bol vers la France

via N'Djaména au fur et à mesure de leur collecte. Ils ont été reçus dans un délai de 48 heures après leur prélèvement au Laboratoire d'analyses génétiques pour les espèces animales, Jouy-en-Josas.

Les échantillons et données concernant les autres populations étaient ceux de Grosclaude (8), Grosclaude et coll. (9) et Mozambi-Goudarzi et coll. (20) pour les races françaises, Grosclaude et coll. (11), Queval et coll. (24) et Mahé et coll. (17) pour les bovins africains. Parmi les données de Queval et coll. (24), l'échantillon de Guinée a été retenu pour représenter le N'Dama, les échantillons du Burkina Faso et de Côte d'Ivoire, descendant tous deux d'acquisitions en pays Lobi, ont été regroupés pour représenter le Baoulé. Les échantillons de sang destinés au typage des microsatellites provenaient du ranch d'Etat de Samandeni, au Burkina Faso, dont le troupeau a été constitué à partir d'acquisitions au ranch de Marahoué, en Côte d'Ivoire, et, pour le Baoulé, du ranch d'Etat de Gaoua, au Burkina Faso. Par ailleurs, le zébu malgache a été ajouté à l'étude comme témoin externe de type *Bos indicus*, les données étant celles de Souvenir Zafindrajaona et Lauvergne (28). Les effectifs des animaux utilisés sont rappelés dans le tableau I.

### Systèmes génétiques polymorphes

L'ensemble des systèmes génétiques polymorphes retenus dans ce travail est présenté dans les tableaux II et III.

#### Groupes sanguins

Les onze systèmes de groupes sanguins érythrocytaires (A, B, C, F, J, L, M, S, Z, R' et T') connus chez les bovins ont été analysés par isohémolyse (10). Comme dans les travaux de Grosclaude et coll. (9) sur les races françaises et ceux de Queval et coll. (24) sur les populations africaines, les systèmes complexes B, C et S, vraisemblablement codés par plusieurs gènes étroitement liés, ont été simplifiés et ramenés à ce qui peut être assimilé à des séries alléliques. Toutefois, au système B, les particularités du zébu malgache (fréquence élevée de phénogroupes comportant à la fois P<sub>2</sub> et T) ont conduit à ajouter à la série hepta allélique antérieure (G<sub>1</sub>, I<sub>1</sub>, K, P<sub>2</sub>, T, J' et -) un huitième allèle, P<sub>2</sub>T. Pour le reste, comme dans Grosclaude et coll. (9) et Queval et coll. (24), les phénogroupes possédant I<sub>1</sub>K et G<sub>1</sub>K ont été classés avec K, I<sub>1</sub>T avec T et I<sub>1</sub>G<sub>1</sub> avec G<sub>1</sub>. Au système C, la série hexa allélique retenue a été celle de Queval et coll. (24), soit C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>C<sub>2</sub>, C<sub>0</sub> et (-), les deux derniers allèles étant spécifiques des populations africaines. Au système S, les résultats obtenus sur les zébus malgaches avec le réactif anti-U" ne présentant pas, pour des raisons inconnues, la fiabilité voulue, le facteur U" n'a été pris en compte dans aucune des populations, ce qui, par rapport à la série allélique précédemment retenue (24), a conduit à des regroupements. En revanche, trois allèles supplémentaires, présents dans certaines populations, ont été adjoints (UH', U'<sub>0</sub> et U'<sub>0</sub>H'H'). La série allélique retenue comptait ainsi, au total, 13 allèles.

#### Lactoprotéines

Le polymorphisme des caséines α<sub>s1</sub>, β et κ, de l'α-lactalbumine (α-La) et de la β-lactoglobuline (β-Lg) pris en compte dans le présent travail a fait l'objet d'une publication spécifique (17).

#### Microsatellites

Les 9 microsatellites (ETH 152, ETH 225, INRA κ, INRA 005, INRA 032, INRA 035, INRA 063, INRA 072, INRA 016) utilisés dans cette étude ont été choisis parmi les 17 déjà mis en œuvre pour l'étude des races françaises (20, 21). Le choix a été effectué en fonction, d'une part, de leurs caractéristiques techniques (bonne aptitude à l'amplification et interprétation aisée des typages) et, d'autre part, de leurs caractéristiques génétiques (nombre d'allèles, localisation et répartition dans le génome). L'extraction d'ADN



Tableau I

Effectifs des échantillons de populations retenus pour les différentes classes de marqueurs (groupes sanguins, protéines du lait, microsatellites)

Pays	Populations	Nombre d'animaux		
		Groupes sanguins	Protéines du lait	Microsatellites
Tchad	Kouri	94	169	140
	Zébu M'Bororo			37
	Zébu Choa			33
Guinée et Burkina Faso	N'Dama	192	76	31
Côte d'Ivoire et Burkina Faso	Baoulé	470	96	37
Burkina Faso	Zébu Peul soudanais	138	1 022	
Madagascar	Zébu malgache	210	586	60
France	Aubrac	156	94	
	Brune des Alpes	350	151	
	Flamande	400	298	
	Salers	226	94	
	Tarentaise	271	286	
	Bretonne Pie-Noire	91	78	40
	Charolaise	435	154	50
	Limousine	377	40	47
	Montbéliarde	396	350	54
	Normande	454	318	50
	Holstein			50
	Jersey			50
	Maine-Anjou			31
Parthenaise			50	
Vosgienne			50	

génomique a été effectuée selon le protocole de Jeanpierre (13). Les modalités de détermination des génotypes par électrophorèse en gel de polyacrylamide-urée après PCR en présence d'amorces fluorescentes ont été décrites par Moazami-Goudarzi et coll. (20). Le nombre d'allèles détectés par population est donné dans le tableau III.

### Traitement des données

#### Calcul des fréquences alléliques

Pour les systèmes génétiques à allèles codominants, les fréquences alléliques ont été établies par comptage direct (les données peuvent être disponibles sur demande). Pour les locus bialléliques comportant un allèle négatif, les fréquences alléliques ont été calculées par la méthode de la racine carrée, et pour les systèmes complexes, par la méthode d'itération de Ceppellini et coll. (3).

#### Calcul des distances génétiques

L'indice de « distance standard » de Nei (22) a été utilisé pour quantifier la ressemblance entre races.

#### Analyse factorielle des correspondances

Cette analyse, qui permet une représentation simultanée des observations et des variables (14), donc ici des races et des allèles, a été effectuée par la procédure CORRESP du progiciel RSAS (version 6, SAS Institute 1989).

### Construction des phénogrammes

La représentation arborée de *neighbour-joining* (27) a été utilisée pour construire les phénogrammes à partir de la matrice des distances calculées selon Nei (22). L'analyse de la robustesse des arbres a été réalisée par le test de *bootstrap* (4, 6). Après 500 ré-échantillonnages des marqueurs, un arbre de consensus majoritaire permettant de visualiser les concordances a été construit (18). Les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel Phylip (7).

## ■ RESULTATS

Comme l'indique le tableau I, les trois classes de marqueurs génomiques (groupes sanguins, protéines du lait, microsatellites) n'ont pas été analysées dans toutes les populations. Cet état de fait a conduit à considérer deux sous-ensembles de données :

- le polymorphisme des groupes sanguins et des protéines du lait, soit un total de 16 systèmes, dans 15 races ou populations, dont 5 africaines (Kouri, N'Dama, Baoulé, zébu malgache, zébu Peul soudanais) et 10 races françaises (tableau I) ;

- le polymorphisme des 9 microsatellites dans 16 races ou populations, dont 6 africaines (Kouri, N'Dama, Baoulé, zébu malgache, zébu Choa, zébu M'Bororo) et 10 races françaises, dont 5 communes avec le premier sous-ensemble (tableau I).



Tableau II

Allèles pris en compte pour les systèmes des groupes sanguins et des lactoprotéines. Pour A et AZ', etc., lire A<sup>A</sup>, A<sup>AZ'</sup>; (-) désigne un allèle « négatif ». Les notations C<sub>1</sub><sup>-</sup> et U<sub>1</sub><sup>-</sup>, utilisées dans Queval et coll. (24) ont été remplacées ici par C<sub>0</sub> et U<sub>0</sub>. Le nombre total d'allèles s'élève à 64 soit 48 allèles indépendants

Systèmes génétiques															
Groupes sanguins											Lactoprotéines				
A	B	C	F	J	L	M	S	Z	R'	T'	$\alpha_{S1}$ -Cn	$\beta$ -Cn	$\kappa$ -Cn	$\alpha$ -La	$\beta$ -Lg
A	G <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	F	J	L	M <sub>1</sub>	H'	Z	R'	T'	B	A <sup>1</sup>	A	A	A
AZ'	I <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	V	(-)	(-)	M'	UH'	(-)	(-)	(-)	C	A <sup>2</sup>	B	B	B
(-)	K	C <sub>1</sub> <sup>"</sup>	(-)			(-)	U'				D	A <sup>3</sup>	J		D
	P <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> <sup>"</sup>					SS"H'				H	B			
	P <sub>2</sub> <sup>T</sup>	C <sub>0</sub>					SH'					C			
	T	(-)					U' <sub>2</sub>					D			
	J"						UH"H'								
	(-)						S"H'								
							H"H'								
							US"H'								
							U' <sub>0</sub>								
							U' <sub>0</sub> H"H'								
							(-)								
3	8	6	3	2	2	3	13	2	2	2	4	6	3	2	3

Tableau III

Nombre d'allèles des marqueurs microsatellites. Le nombre total d'allèles différents s'élève à 112, soit 103 allèles indépendants

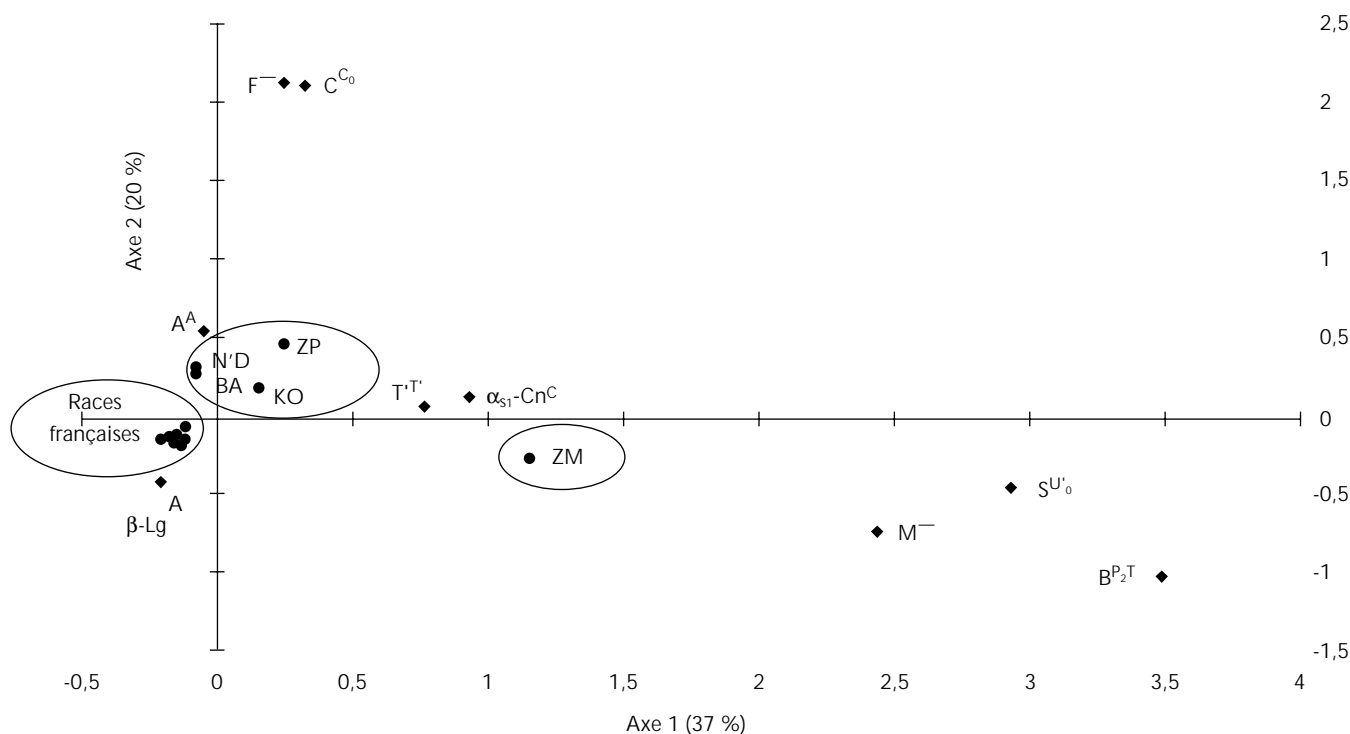
Populations	Nombre d'allèles par microsatellite								
	ETH 152	ETH 225	INRA $\kappa$	INRA 016	INRA 032	INRA 035	INRA 005	INRA 063	INRA 072
Kouri	6	14	7	9	11	9	6	5	12
N'Dama	4	8	5	7	3	3	2	5	6
Baoulé	3	5	2	7	7	3	3	3	5
Zébu Choa	6	7	4	8	9	7	8	5	10
Zébu M'Bororo	6	6	4	8	8	5	6	5	8
Zébu malgache	9	7	7	6	13	4	4	6	7
Races françaises	9	6	6	10	6	10	3	7	11
Nombre total d'allèles différents	12	16	10	11	16	13	10	9	16

Chacun de ces deux sous-ensembles a fait l'objet d'une analyse factorielle des correspondances (AFC) et d'une démarche de classification aboutissant à la construction d'un phénogramme.

### Analyse factorielle des correspondances

Dans le cas du polymorphisme des groupes sanguins et des protéines du lait, l'AFC sépare trois groupes de populations : les races françaises, très agrégées, les races ouest africaines, plus dispersées, et le zébu malgache qui se situe assez nettement à l'écart. Au sein du groupe ouest africain, N'Dama et Baoulé sont très proches

(figure 1). Au total, les deux premiers axes rendent compte de 57 p. 100 de la variance totale. Sur le premier axe, le zébu malgache, et à un moindre degré le zébu Peul soudanais et le Kouri, se détachent des autres populations. Les allèles contribuant le plus à la construction de cet axe sont M<sup>-</sup> (30,7 p. 100 de l'inertie de cet axe),  $\alpha_{S1}$ -Cn<sup>C</sup> (10,8 p. 100), T<sup>T</sup> (8,3 p. 100), S<sup>U<sub>0</sub></sup> (7,8 p. 100) et B<sup>P<sub>2</sub>T</sup> (7,6 p. 100). On rappellera que l'allèle B<sup>P<sub>2</sub>T</sup> est, tout au moins pour les populations considérées, spécifique du zébu malgache. Par ailleurs, S<sup>U<sub>0</sub></sup>, fréquent chez le zébu malgache (0,2) existe aussi chez le N'Dama, le Baoulé et le zébu Peul soudanais,



**Figure 1** : analyse factorielle des correspondances appliquée aux données relatives aux groupes sanguins et aux lactoprotéines - projection, sur le plan des deux premiers axes, des races bovines africaines et françaises et des neuf allèles les plus discriminants. BA : Baoulé ; N'D : N'Dama ; KO : Kouri ; ZM : zébu malgache ; ZP : zébu Peul soudanais ; AU : Aubrac ; BU : Brune des Alpes ; BR : Bretonne Pie-Noire ; CH : Charolaise ; FL : Flamande ; LI : Limousine ; MO : Montbéliarde ; NO : Normande ; SA : Salers, TA : Tarentaise.

alors qu'il est absent des races françaises. L'effet des autres allèles discriminants est dû à des différences de fréquence, la plus connue étant la prédominance générale de l'allèle  $\alpha_{s1}$ -Cn<sup>C</sup> chez les zébus, qui s'oppose à celle de l'allèle  $\alpha_{s1}$ -Cn<sup>B</sup> chez les taurins (17,19). Le second axe se caractérise surtout par la séparation des populations ouest africaines des autres populations. Les allèles contribuant le plus à la construction de cet axe sont C<sup>C</sup><sub>0</sub> (21,3 p. 100) et F<sup>-</sup> (7,7 p. 100) qui sont spécifiques des populations africaines (24), ainsi que  $\beta$ -Lg<sup>A</sup> (6,6 p. 100) et A<sup>A</sup> (5,6 p. 100).

Dans le cas du polymorphisme des microsatellites, l'AFC identifie clairement quatre sous-ensembles : les races françaises, les taurins africains (Baoulé et N'Dama), les bovins du Tchad (zébu Choa, zébu M'Bororo et Kouri) et le zébu malgache (figure 2). Les deux premiers axes rendent compte de 54 p. 100 de la variance totale, valeur très proche de celle obtenue avec les groupes sanguins et les lactoprotéines. Le premier axe sépare les trois premiers groupes de races. Trois allèles contribuent principalement à sa construction, les allèles [191 pb] du microsatellite ETH 152, [174 pb] du microsatellite INRA  $\kappa$  et [157 pb] du microsatellite ETH 225, qui expliquent respectivement 8,8 p. 100, 7 p. 100 et 7 p. 100 de l'inertie de l'axe. Le deuxième axe met surtout en évidence la distance entre les zébus malgaches et les autres populations. Les deux allèles qui influencent le plus cet axe sont l'allèle [213 pb] du microsatellite ETH 152, apparemment spécifique des zébus malgaches, et l'allèle [137 pb] du microsatellite ETH 225, qui contribuent respectivement à 33 et 10,3 p. 100 de l'inertie de l'axe.

### Phénogrammes

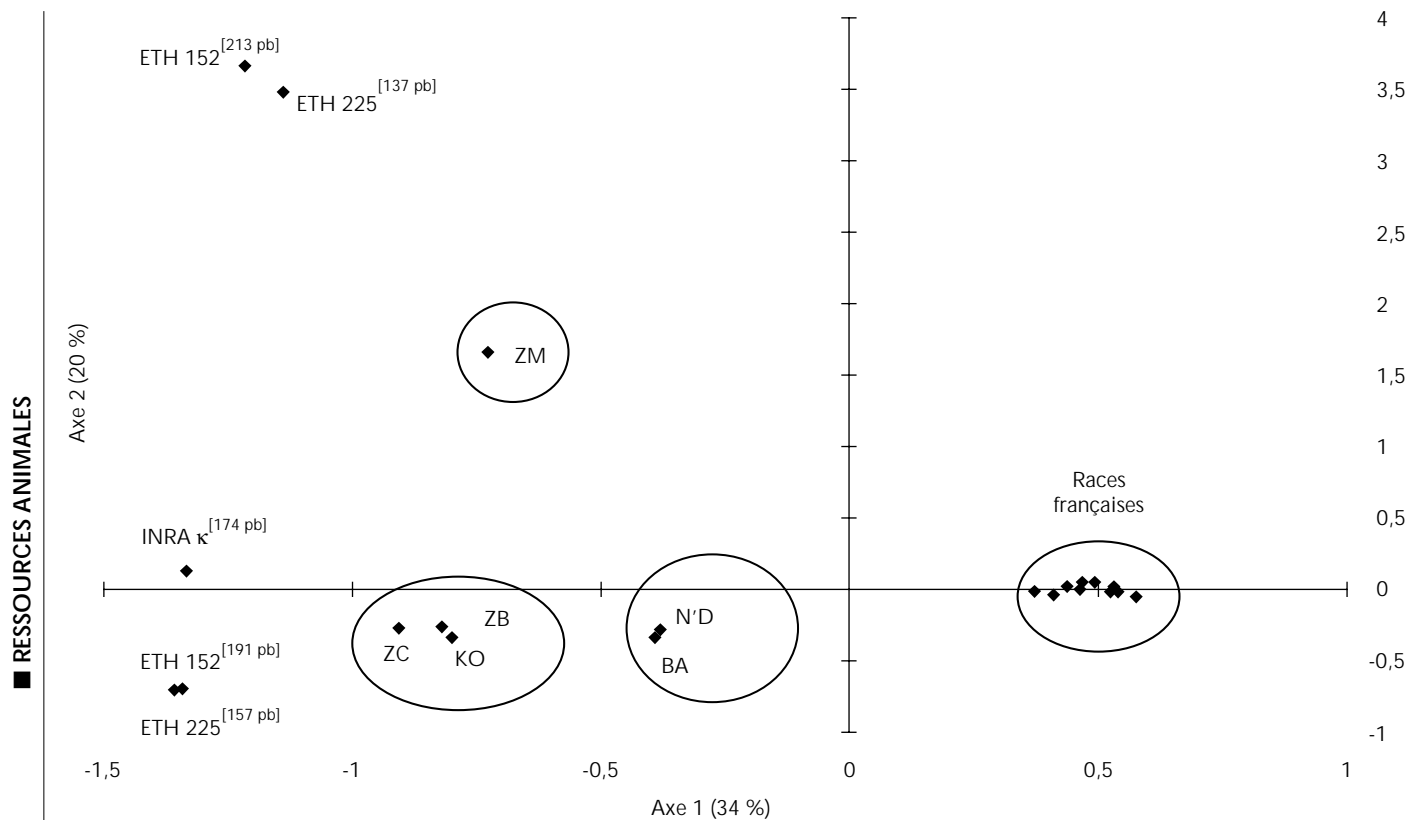
La figure 3 représente le phénogramme obtenu à partir du polymorphisme des microsatellites. La séparation entre races françaises et populations africaines, caractérisée par une valeur maximale, est

parfaitement tranchée. La proximité génétique des zébus tchadiens, Choa et M'Bororo, est également très nette, tout comme celle du Kouri avec ces zébus. Les deux types de taurins africains, N'Dama et Baoulé, sont également proches. Le phénogramme obtenu à partir des données sur les groupes sanguins et les lactoprotéines (non montré) donne des résultats comparables, mais avec des valeurs de *bootstrap* moins significatives, sauf pour la proximité du N'Dama et du Baoulé (93 p. 100).

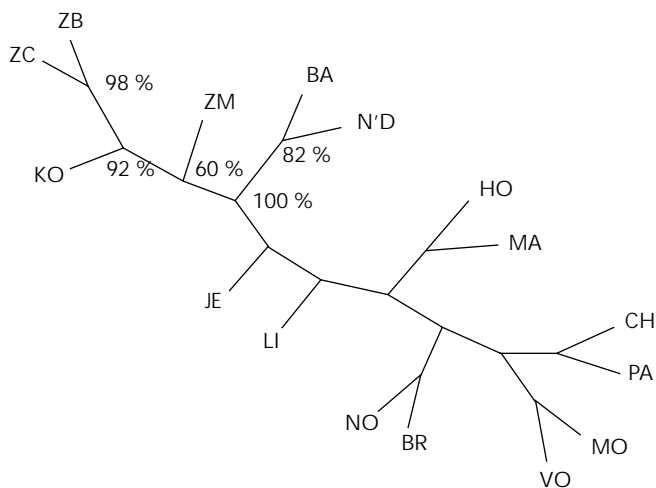
### DISCUSSION

Queval et Petit (25) ont publié, il y a 26 ans, dans cette même revue, un article donnant les fréquences alléliques des systèmes de groupes sanguins simples de la race Kouri (systèmes A, F, J, L, M, Z, R', T') et les fréquences phénotypiques des facteurs antigéniques des systèmes complexes (B, C, S). La seule différence vraiment significative entre les valeurs obtenues par ces auteurs et celles qui ont été estimées dans le présent travail concerne la fréquence de l'allèle T<sup>T'</sup> (0,14 pour Queval et Petit contre 0,64 dans cette étude). Il est vraisemblable que cette discordance n'est due qu'à une évolution de la spécificité du réactif anti-T', qui a été difficile à mettre au point. Pour les autres systèmes, les fréquences sont voisines, voire quasi identiques (identité à 0,01 près pour les systèmes L, Z et R', et à 0,02 près pour les facteurs antigéniques I<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, T, K et J' du système B). Sur la base de ces observations, il est permis de considérer que la population Kouri n'a guère évolué au cours du dernier quart de siècle.

Le présent travail avait pour objectif de préciser la position génétique du Kouri parmi les populations de taurins et de zébus de l'Afrique de l'Ouest. Le fait que le polymorphisme des marqueurs « classiques », groupes sanguins et lactoprotéines, et celui des



**Figure 2 :** analyse factorielle des correspondances appliquée aux données relatives aux microsatellites - projection, sur le plan des deux premiers axes, des races bovines africaines et françaises et des cinq allèles les plus discriminants. Les allèles, indiqués entre crochets, sont caractérisés par la taille, en paires de bases, de l'unité répétée. BA : Baoulé ; N'D : N'Dama ; KO : Kouri ; ZC : zébu Choa ; ZB : zébu M'Bororo ; ZM : zébu malgache ; BR : Bretonne Pie-Noire ; CH : Charolaise ; HO : Holstein ; JE : Jersey ; LI : Limousine ; MA : Maine-Anjou ; MO : Montbéliarde ; NO : Normande ; PA : Parthenaise ; VO : Vosgienne.



**Figure 3 :** arbre de consensus obtenu après 500 ré-échantillonnages des données (microsatellites). Les valeurs de bootstrap inférieures à 50 p. 100 ne sont pas indiquées. BA : Baoulé ; N'D : N'Dama ; KO : Kouri ; ZC : zébu Choa ; ZB : zébu M'Bororo ; ZM : zébu malgache ; BR : Bretonne Pie-Noire ; CH : Charolaise ; HO : Holstein ; JE : Jersey ; LI : Limousine ; MA : Maine-Anjou ; MO : Montbéliarde ; NO : Normande ; PA : Parthenaise ; VO : Vosgienne.

microsatellites n'aient pu être analysés dans toutes les populations considérées a conduit à effectuer deux analyses séparées, basées, pour l'une, sur les 48 allèles indépendants des 16 marqueurs classiques et, pour l'autre, sur les 103 allèles indépendants des 9 microsatellites. Ce traitement fractionné présente toutefois l'intérêt de permettre la comparaison des résultats de deux analyses indépendantes et d'apprécier ainsi le degré de concordance de ces résultats.

Dans l'analyse factorielle des correspondances basée sur les microsatellites, le Kouri s'agrège sans ambiguïté avec les zébus africains. En revanche, dans l'analyse basée sur les marqueurs classiques, il apparaît plus ou moins intermédiaire entre les taurins africains et le zébu Peul soudanais. Cette position intermédiaire du Kouri est particulièrement nette dans le cas des protéines du lait (17). Il faut toutefois souligner que, dans la présente analyse, les trois locus permettant selon Queval et coll. (24) la meilleure discrimination entre les taurins et les zébus, ceux de trois protéines sanguines (hémoglobine, transferrine, albumine), n'ont pas été pris en compte. Il est probable que l'adjonction de ces locus aurait conduit à séparer beaucoup plus nettement, comme dans Queval et coll. (24), les zébus africains des taurins. Or les fréquences chez le Kouri des allèles Hb<sup>B</sup> (0,381 selon Petit et Queval (23), et 0,520 selon Souvenir Zafindrajaona et Zeuh (29)) et Tf<sup>F</sup> (0,296 selon les derniers auteurs) rapprochent fortement le Kouri des zébus. La prise en compte des locus de protéines sanguines aurait donc, de toute évidence, rapproché le Kouri des zébus, et éloigné ce groupe de celui des taurins africains et européens. Il ressort ainsi que le Kouri, qui est un taurin puisqu'il n'a pas de bosse et possède le chromosome Y de *Bos taurus*, est plus proche, par ses marqueurs autosomaux, des zébus que des taurins.

Ces résultats sont à rapprocher de ceux de MacHugh et coll. (16) qui, en se basant sur la fréquence relative des chromosomes Y spécifiques de *Bos taurus* et de *Bos indicus*, et sur celle d'allèles de microsatellites considérés comme provenant du zébu indien, ont conclu à l'existence d'un gradient d'introgression de ce zébu de l'est vers l'ouest de l'Afrique, phénomène qui aurait procédé de la seule voie mâle, et aurait même affecté le N'Dama, population taurine de l'extrême Ouest africain. On notera toutefois, à ce stade, qu'aucun de la douzaine de caryotypes de mâles Kouri examinés jusqu'ici n'était de type *Bos indicus* (12, 23). Chez ce taurin du lac Tchad, le phénomène postulé par MacHugh et coll. (16) ne serait donc décelable qu'au niveau du polymorphisme des marqueurs autosomaux.

Toutefois, la question des origines du Kouri paraît rester très ouverte. Il serait intéressant de savoir si la présence des allèles rapprochant ce taurin du zébu est la conséquence des mélanges qui se sont produits en bordure du lac Tchad au cours des dernières décennies ou si, d'après la thèse de MacHugh et coll. (16), elle résulterait d'une introgression bien antérieure qui serait la conséquence de l'expansion du zébu vers l'ouest de l'Afrique, elle-même liée à l'invasion de ce continent par les Arabes. Mais on ne peut pas non plus exclure l'hypothèse que des particularités génétiques du Kouri aient une origine plus ancienne et que ce bovin soit apparenté aux animaux Sanga du Sud de l'Afrique ou même, à la limite, qu'il ait conservé, plus que le N'Dama, des allèles de la population domestique originelle de taurins à cornes longues de l'Asie du Sud-Ouest (5). Ces diverses possibilités ne s'excluent d'ailleurs pas les unes les autres.

Pour tenter de répondre à ces questions, il conviendrait en premier lieu de compléter les données de cette étude sur les systèmes marqueurs qui n'ont pas été examinés dans certaines populations (protéines sanguines et protéines du lait) pour permettre une étude unifiée de toutes les races ou populations considérées. Il serait aussi utile de procéder à l'examen d'un nombre plus élevé de caryotypes mâles, pour savoir si le chromosome Y de *Bos indicus* peut être détecté chez le Kouri réputé pur, même à faible fréquence. Par ailleurs, l'analyse dans cette population des 10 microsatellites ayant servi dans les travaux de MacHugh et coll. (16) à déceler le phénomène d'introgression du zébu indien permettrait de vérifier si le Kouri peut relever du phénomène décrit par ces auteurs. Deux seulement de ces 10 microsatellites sont inclus dans cette étude (ETH 152 et ETH 225). Enfin, des investigations sur des populations de type Sanga à l'aide de la même série de marqueurs moléculaires permettraient de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse d'une parenté du Kouri avec le Sanga.

### Remerciements

Cette étude a été réalisée dans le cadre du projet Conservation de la race bovine Kouri dans le bassin conventionnel du lac Tchad, financé par l'Union européenne, Commission des communautés européennes, Direction générale du développement (DG VIII/A/1, ligne budgétaire B7 - 5040/93/24). Nous tenons à exprimer notre plus vive gratitude aux personnalités dont le soutien constant a permis sa réalisation, notamment son altesse Mboudou M. Yousouf, Chef de Canton de Bol, M. A.Ch. Mahamat, alors Ministre de l'Élevage et de l'hydraulique de la République du Tchad et M. G. Durazzo, alors Conseiller pour le Développement rural à la Délégation de l'Union européenne en République du Tchad. Nous remercions la Sodelac (Société de développement du Lac) pour son accueil et son aide logistique, ainsi que les différents services administratifs, l'équipe du secteur vétérinaire de Bol, les autorités locales de la Préfecture du Lac ainsi que les éleveurs eux-mêmes qui, par leur accueil, ont beaucoup facilité notre tâche sur le terrain. Nous sommes particulièrement reconnaissants au Cirades

(Centre international de recherche-développement sur l'élevage en zone subhumide) et notamment à Issa Sidibé pour la fourniture d'échantillons de sang indispensables pour mener cette étude à bonne fin. Ce travail a bénéficié de l'aide efficace, pour les analyses et les traitements de données, du département de génétique animale de l'Inra (Laboratoire de génétique biochimique et de cytogénétique) et du Gie Labogena (Laboratoire d'analyses génétiques pour les espèces animales).

### BIBLIOGRAPHIE

1. BOURZAT D., SOUVENIR ZAFINDRAJAONA P., 1996. L'élevage du bœuf Kouri dans la zone lacustre du bassin du lac Tchad. In : Atlas d'élevage du bassin du lac Tchad. Wageningen, Pays-Bas, CTA, p. 88-90.
2. BRADLEY D.G., MACHUGH D.E., CUNNINGHAM P., LOFTUS R.T., 1996. Mitochondrial diversity and the origin of African and European cattle. *Proc. natl. Acad. Sci. USA*, **93**: 5131-5135.
3. CEPPELLINI R., SINISCALCO M., SMITH C.A.B., 1956. The estimation of gene frequencies in a random mating population. *Ann. Hum. Genet.*, **20**: 97-115.
4. EFRON B., 1979. Bootstrap methods: an other look at the jackknife. *Ann. Stat.*, **7**: 1-26.
5. EPSTEIN H., 1971. The origin of domestic animals of Africa, Vol. 1. New-York, NY, USA, Africana publishing, p. 208-212.
6. FELSENSTEIN J., 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, **39**: 783-791.
7. FELSENSTEIN J., 1993. PHYLIP (Phylogeny inference package), Version 3.5. Seattle, WA, USA, Washington University, Department of Genetics, 275 p.
8. GROSCLAUDE F., 1988. Le polymorphisme génétique des principales lactoprotéines bovines. *Inra Prod. Anim.*, **1**: 5-17.
9. GROSCLAUDE F., AUPETIT R.Y., LEFEBVRE J., MERIAUX J.C., 1990. Essai d'analyse des relations génétiques entre les races bovines françaises à l'aide du polymorphisme biochimique. *Genet. Sel. Evol.*, **22**: 317-338.
10. GROSCLAUDE F., GUERIN G., HOULIER G., 1979. The genetic map of the B system of cattle blood groups as observed in French breeds. *Anim. Blood Groups biochem. Genet.*, **10**: 199-218.
11. GROSCLAUDE F., MAHE M.F., MERCIER J.C., 1974. Comparaison du polymorphisme génétique des lactoprotéines du zébu et des bovins. *Ann. Génét. Sél. Anim.*, **6**: 305-329.
12. HANOTTE O., OKOMO M., BRADLEY D., VERJEE Y., OCHIENG J., TEALE A., REGE J.E.O., 1998. Geographic distribution and frequency of taurine *Bos taurus* and zebu *Bos indicus* Y chromosome haplotypes amongst sub-Saharan African cattle breeds (Poster). In: XXVI International Conference on Animal Genetic, Aukland, Australia, August 1998.
13. JEANPIERRE M., 1987. A rapid method for purification of DNA from blood. *Nucleic Acids Res.*, **15**: 9611.
14. LEBART L., MORIBEAU A., PIRON M., 1995. Statistique exploratoire multidimensionnelle. Paris, France, Dunod, 439 p.
15. LOFTUS R.T., MACHUGH D.E., BRADLEY D.G., SHARP P.M., CUNNINGHAM P., 1994. Evidence for two independent domestications of cattle. *Proc. natl. Acad. Sci. USA*, **91**: 2757-2761.
16. MACHUGH D.E., SHRIVER M.D., LOFTUS R.T., CUNNINGHAM P., BRADLEY D.G., 1997. Microsatellites DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics*, **146**: 1071-1086.
17. MAHE M.F., MIRANDA G., QUEVAL R., BADO A., SOUVENIR ZAFINDRAJAONA P., GROSCLAUDE F., 1999. Genetic polymorphism of milk proteins in African *Bos taurus* and *Bos indicus* populations. Characterization of variants  $\alpha_{s1}$ -Cn<sup>H</sup> and  $\kappa$ -Cn<sup>I</sup>. *Genet. Sel. Evol.*, **31**: 239-253.
18. MARGUSH T., McMORRIS F.R., 1981. Consensus N-trees. *Bull. Math. Biol.*, **43**: 239-244.
19. MERCIER J.C., GROSCLAUDE F., 1993. Génétique moléculaire des protéines du lait et de leurs gènes. In : Martinet J., Houdebine L.M. éd. Biologie de la lactation. Paris, France, Inserm/Inra, p. 319-347.

## Phylogenetic status of Kuri cattle

20. MOAZAMI-GOUDARZI K., LALOE D., FURET J.P., GROSCLAUDE F., 1997. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genet.*, **28**: 338-345.
21. MOAZAMI-GOUDARZI K., VAIMAN D., MERCIER D., GROHS C., FURET J.P., LEVEZIEL H., MARTIN P., 1994. Emploi de microsatellites pour l'analyse de la diversité génétique des races bovines françaises : premiers résultats. *Genet. Sel. Evol.*, **26** : 155-165.
22. NEI M., 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.*, **106**: 283-292.
23. PETIT J.P., QUEVAL R., 1973 : Le Kouri : race bovine du lac Tchad. II. Etude biochimique : les hémoglobines et les constituants du sérum. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **26** : 97-104.
24. QUEVAL R., MOAZAMI-GOUDARZI K., LALOE D., MERIAUX J.C., GROSCLAUDE F., 1998. Relations génétiques entre populations de taurins ou zébus d'Afrique de l'Ouest et taurins européens. *Genet. Sel. Evol.*, **30** : 367-383.
25. QUEVAL R., PETIT J.P., 1973. Le Kouri : race bovine du lac Tchad. III. Les facteurs érythrocytaires. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **26** : 235-244.
26. QUEVAL R., PETIT J.P., TACHER G., PROVOST A., PAGOT J., 1971. Le Kouri, race bovine du lac Tchad. I. Introduction générale à son étude zootechnique et biochimique : origines et écologie de la race. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **24** : 667-687.
27. SAITOU N., NEI M., 1987. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, **4**: 406-425.
28. SOUVENIR ZAFINDRAJAONA P., LAUVERGNE J.J., 1993. Comparaison de populations de zébu malgache à l'aide des distances génétiques. *Genet. Sel. Evol.*, **25** : 749-771.
29. SOUVENIR ZAFIDRAJAONA P., ZEUH V., 1996. Volet de travaux génétiques. In : Projet de « Conservation de la race bovine Kouri dans le bassin conventionnel du lac Tchad », rapport final. N'Djaména, Tchad, Laboratoire de recherches vétérinaires et zootechniques de Farcha, p. 16-66.

Reçu le 1.12.98, accepté le 22.9.99

**Summary**

Souvenir Zafindrajaona P., Zeuh V., Moazami-Goudarzi K., Laloë D., Bourzat D., Idriss A., Grosclaude F. Study on the phylogenetic status of Lake Chad Kuri cattle using molecular markers

The polymorphism of 25 autosomal genetic marker systems (i.e., 11 blood group systems, 5 lactoproteins loci and 9 microsatellites) was analyzed in a sample of the Lake Chad Kuri cattle population originating from shore areas and islands located in the Bol district. The results obtained, together with those previously reported for various populations of African taurine and zebu cattle, and for French breeds, were submitted to correspondence analysis and classification methods in an attempt to specify the phylogenetic status of the Kuri. Since the Kuri is humpless and has *Bos taurus* submetacentric Y chromosome, it is normally classified as taurine cattle. However, according to the present study based on autosomal markers the Kuri appears to be closer to zebu than to African taurine cattle. Non exclusive divergent explanations as to which period the zebu gene admixture can be traced back remain to be evaluated: relationship between Kuri and Sanga cattle of Southern Africa, introgression of the zebu during its expansion through the continent from the eighth century A.D. onwards or crossbreeding with zebus located around Lake Chad in recent times.

**Key words:** Kuri cattle - *Bos taurus* - *Bos indicus* - Biochemical polymorphism - Microsatellite - Phylogeny - West-Africa - Lake Chad.

**Resumen**

Souvenir Zafindrajaona P., Zeuh V., Moazami-Goudarzi K., Laloë D., Bourzat D., Idriss A., Grosclaude F. Estudio del estadio filogenético del bovino Kuri del lago Chad, mediante marcadores moleculares

Se analizó el polimorfismo de 25 sistemas de marcadores genéticos autosómicos (11 sistemas de grupos sanguíneos, 5 locus de lactoproteínas y 9 microsatélites), en una muestra de la población de bovinos Kuri del lago Chad, provenientes de la zona periférica del lago y de las islas localizadas en el municipio de Bol. Los resultados obtenidos, así como los datos adquiridos sobre las diferentes poblaciones de taurinos y de cebúes africanos y sobre las razas francesas, fueron tratados mediante análisis factorial de correspondencia y por los métodos de clasificación, para intentar precisar el estadio filogenético del Kuri. Según el presente estudio, basado en marcadores autosómicos, el Kuri se acerca más de los cebúes que de los taurinos africanos, aunque, desprovisto de giba y portador del cromosoma Y submetacéntrico del *Bos taurus*, se clasifica normalmente entre los taurus. Queda por determinar la validez de las diversas hipótesis explicativas, no exclusivas, diferenciando por la antigüedad postulada del aporte genético de los cebúes: parentesco del Kuri con el Sanga del Sur de África, introgresión del cebú durante la expansión de la raza en el continente a partir del siglo VIII D.C. o mestizajes durante nuestra época, con los cebúes que rodean la meseta del lago Chad.

**Palabras clave :** Ganado bovino Kuri - *Bos taurus* - *Bos indicus* - Polimorfismo bioquímico - Microsatélite - Filogenia - África occidental - Lago Chad.



# A Quantitative Biology of the Pig

Edited by I. Kyriazakis

Genetics and Behavioural Sciences Department  
Scottish Agricultural College, Edinburgh, UK

A large amount of qualitative information has been gathered on many aspects of pig biology over recent years, in areas such as genetics, growth and physiology, and welfare. It is now widely recognized that there is a need to use this data as a basis for the development of quantitative models, in order to further improve performance and productivity. This has been achieved in some areas, notably physiology, but no previous attempt at bringing together and integrating this material has been made.

This book, written by leading researchers from Europe, the USA and Australasia, fills that gap. It begins with descriptions of the animal, its feed and its environment. The latest mechanistic mathematical models which describe particular physiological processes are then provided by specialists in those areas, taking into account the external factors which influence them. In conclusion, the advantages and implications of a quantitative approach to pig biology are discussed. The ideas presented will be essential reading for animal scientists, particularly applied physiologists, with an active interest in pigs and will also have relevance to research on other farm animals.

## Contents

### Introduction

*I. Kyriazakis*

### Part I: Describing the Elements of the System

- ◆ Describing the Pig  
*A. Schinckel, Purdue University, West Lafayette, USA*
- ◆ The Chemical and Physical Description of Feedstuffs  
*P.J. Moughan et al., Massey University, Palmerston North, New Zealand*
- ◆ The Thermal and Infectious Environment  
*J.L. Black, John L. Black Consulting, Warimoo, Australia*  
*H.J. Bray, ID-DLO, Lelystad, The Netherlands*  
*L.R. Giles, Elizabeth MacArthur Agricultural Institute, Camden, Australia*
- ◆ Describing the Social Environment and its Effects on Food Intake and Growth  
*C.A. Morgan et al., Scottish Agricultural College, Edinburgh, UK*

### Part II: Processes and Control

- ◆ Mating, Pregnancy and Pre-natal Growth  
*J.-Y. Dourmad et al., Inra, Station de recherches porcines, France*
- ◆ Lactation and Neonatal Growth  
*R.H. King, Victorian Institute of Animal Science, Werribee, Australia*  
*J. Le Dividich, Inra, Station de recherches porcines, France*  
*F.R. Dunshea, Victorian Institute of Animal Science, Werribee, Australia*
- ◆ Growth and Body Composition  
*G.C. Emmans, Scottish Agricultural College, Edinburgh, UK*  
*I. Kyriazakis*
- ◆ Quantitative Regulation by Endocrine Systems  
*J.P. McNamara, Washington State University, Pullman, USA*  
*R.D. Boyd, Pig Improvement Company, Franklin, USA*

### Part III: Food Intake and Metabolism

- ◆ Voluntary Food Intake and Diet Selection  
*I. Kyriazakis and G.C. Emmans*
- ◆ Digestion, Absorption and Excretion  
*D. Bastianelli and D. Sauvant, Inra Laboratoire de nutrition et alimentation, Paris, France*
- ◆ Quantification of Absorbability and Requirements of Macroelements  
*A.W. Jongbloed et al., ID-DLO, Lelystad, The Netherlands*
- ◆ Protein Metabolism in the Growing Pig  
*P.J. Moughan, Massey University, Palmerston North, New Zealand*
- ◆ Carbohydrate and Lipid Metabolism  
*A. Danfaer, National Institute of Animal Science, Tjele, Denmark*
- ◆ Energy Flows  
*G.C. Emmans*

### Part IV: Conclusions

- ◆ Future Directions for Models in Pig Biology  
*I. Kyriazakis*

### Index

1999

408 pages, Hardback  
ISBN 085199 273 0  
£60.00 (US\$110.00)

CABI Publishing  
Wallingford

Oxon OX10 8DE, UK  
Fax: +44 (0)149 182 9292  
E-mail: orders@cabi.org

ERRATA

Les figures 2 et 3 ci-dessous remplacent celles publiées dans le n° 1, vol. 52, 1999, p. 27.

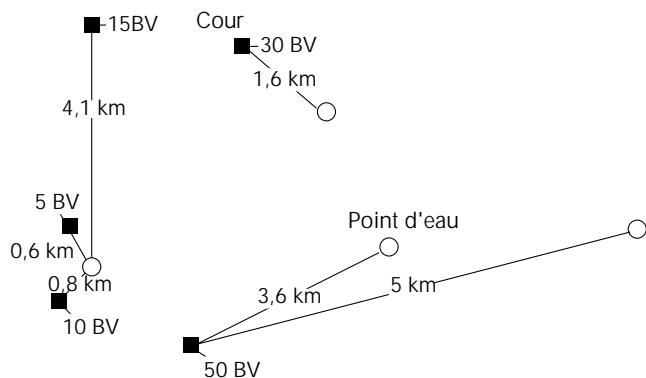


Figure 2 : traçage des trajectoires cour-point d'eau.

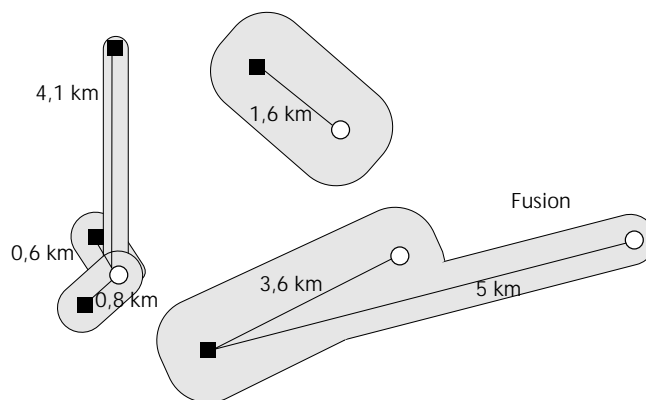


Figure 3 : traçage et fusion des polygones de zone d'influences des bovins.

Dans la légende de la figure 5 p. 29 intervenir les carrés représentatifs des distances cour-point d'eau :

□ < 1 km

□ 1-4 km

□ > 4 km