

Epidémiologie et contrôle de la theilériose bovine à *Theileria parva* dans la Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo

Epidemiology and control of bovine theileriosis to *Theileria parva* in North-Kivu Province, Democratic Republic of Congo



Moïse **KASEREKA KALUME**

Presses de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège

4000 Liège (Belgique)

D/2012/0480/27

ISBN 978-2-87543-021-2

ISBN 978-2-87543-021-2



9 782875 430212

Epidémiologie et contrôle de la theilériose bovine à *Theileria parva* dans la Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo

Thèse présentée par

Moïse Kasereka KALUME

en vue de l'obtention du grade de
Docteur en Sciences Vétérinaires

Année académique 2011-2012

Composition du Jury :

Prof. Laurent Gillet (Université de Liège, Belgique)	: Président
Prof. Bertrand Losson (Université de Liège, Belgique)	: Promoteur
Prof. Claude Saegerman (Université de Liège, Belgique)	: Co-promoteur
Prof. Alexis Makumyaviri (Université Catholique du Graben, Butembo/ RDC)	: Co-promoteur
Prof. Annick Linden (Université de Liège, Belgique)	: Membre
Prof. Stanny Geerts (Institut de Médecine Tropicale, IMT/ Anvers, Belgique)	: Membre
Prof. Eric Thys (Institut de Médecine Tropicale, IMT/ Anvers, Belgique)	: Membre
Prof. Frédéric Rollin (Université de Liège, Belgique)	: Membre
Prof. Pascal Gustin (Université de Liège, Belgique)	: Membre
Prof. Jean-Luc Hornick (Université de Liège, Belgique)	: Membre
Prof. Frédéric Farnir (Université de Liège, Belgique)	: Membre
Prof. Bernard Mignon (Université de Liège, Belgique)	: Membre
Drs. Kamal Touati (Université de Liège, Belgique)	: Membre

Juillet 2012

Le fruit de cet effort est dédié
à ma mère, à mon épouse Grâce Kavira Mbusa et
à mes enfants Ghislaine, Joël, Julien, Joseph et Deborah
non pas parce qu'ils ne comprendront rien du tout de cette thèse,
mais à cause de l'encouragement qu'ils m'ont donné et surtout qu'ils
prient toujours pour moi pour atteindre des objectifs plus élevés dans ma vie.

Remerciements

Cette thèse a été réalisée dans le cadre du renforcement des capacités professionnelles dans le domaine de l'enseignement et de la recherche scientifique au sein de l'Université Catholique du Graben (UCG) de Butembo, Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo (RDC).

Je voudrais commencer à rédiger ce manuscrit en adressant des remerciements à toutes les personnes qui ont contribué directement et indirectement à ma formation doctorale.

«*À tout seigneur, tout honneur*». Je voudrais exprimer, par ce principe, ma profonde gratitude à mes promoteurs les Professeurs Bertrand Losson et Claude Saegerman pour leur soutien au cours de la réalisation des travaux de cette thèse. Vous m'avez donné un support scientifique incontournable et la liberté d'évoluer comme un chercheur. Merci pour m'avoir donné votre temps, votre patience, votre assistance et vos conseils dans toutes les étapes de ce travail. Merci pour votre confiance en moi et j'espère que nous aurons d'autres opportunités de travailler ensemble au cours de ma future carrière scientifique.

Je voudrais aussi présenter mes remerciements au Professeur Alexis Makumyaviri, Doyen de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'UCG et promoteur local (en RDC) de cette thèse. Vos conseils et encouragements pendant les périodes de terrain ainsi que votre appui administratif m'ont permis d'arriver au bout de ce travail.

Mes sincères gratitudeux aux membres du jury pour la lecture de ce manuscrit et plus particulièrement aux Professeurs Pascal Gustin et Frédéric Rollin.

Une mention particulière de gratitude est adressée aux autorités de l'Université Catholique du Graben (UCG). Au Grand Chancelier de l'Université, Mgr Paluku Sikuli Melchisédech, évêque de Butembo et Beni, pour des conseils qu'il a toujours prodigué au personnel académique et scientifique de l'UCG pour la formation de la jeunesse du Grand Nord de la Province du Nord-Kivu afin de matérialiser l'œuvre de son prédécesseur, le regretté Archevêque Emmanuel Kataliko, à qui je rends hommage. Au Président de la Fondation

Universitaire du Graben (FUG) son Excellence l'Abbé Professeur Apollinaire Malumalu Muholongu, au Recteur de l'UCG le Professeur Angélu Mafikiri Tsongo et au Secrétaire Général Académique l'Abbé Professeur Vyakuno pour votre appui administratif durant ma formation doctorale. Vos conseils m'ont toujours poussé à faire mieux.

J'adresse des remerciements aux nombreuses personnes de la Coopération Technique Belge (CTB) qui, au cours de ces nombreuses années, ont soutenu financièrement les travaux de cette thèse tant sur le terrain qu'en Belgique, et en particulier je cite : Jean-Claude Kakudji, Angèle Mowa Kapundu, Jacqueline Massaut, Liesbet Vastenavondt, Nicolas Brecht et Joseph Kabuya, sans oublier Madame Sarah Stijnen. Votre accueil très chaleureux et l'efficacité de vos services financiers restent figés dans ma mémoire.

Je remercie aussi la Commission Universitaire pour le Développement (CUD) et le CECODEL en particulier Madame Hélène Crahay. Grâce à ces deux institutions, j'ai pu bénéficier d'une précieuse aide sociale.

Je suis sincèrement reconnaissant à l'équipe technique du Département de Santé animale de l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers (IMT), Belgique en particulier le Dr Tanguy Marcotty et Dr Maxime Madder pour leurs conseils techniques et scientifiques. Grâce à vous, Maxime Madder, j'ai bénéficié d'une formation très pratique sur l'identification des tiques africaines, organisée en 2009 à l'Université de Pretoria, Afrique du Sud.

Je suis redevable à mes amis au sein du service de parasitologie de l'Université de Liège. Je citerai : Jean-Pierre, Yannick, François, Françoise, Céline, Aline, Anne, Ludivine, Jessica et Laetitia. Mes remerciements aussi aux collègues de l'Université Catholique du Graben.

Pour terminer, je tiens à remercier ma mère, mes frères Raphaël Paluku Kasomo et Kakule Mukandirwa et tous les membres de ma famille. Sans vos prières, cette longue histoire n'aurait pas pu se dérouler. A toi mon épouse Grâce Kavira Mbusa en particulier, je dis merci pour ta patience, ton endurance, ton soutien moral et ta persévérance dans la prière. Il n'est plus question de rêve, plutôt une réalité et une réponse à tes espérances.

Table des matières

Remerciements	i
Table des matières	iii
Liste des abréviations	vii
Préface	x
Chapitre 1 : Introduction générale	1
Partie 1 : Aperçu sur les principales maladies bovines transmises par les tiques en Afrique Centrale et Orientale et les vecteurs respectifs	2
1.1. Nature des agents pathogènes et distribution des vecteurs	3
1.2. Theilériose à <i>Theileria parva</i>	3
1.3. Babésiose.....	7
1.4. Anaplasmose.....	8
1.5. Cowdriose.....	9
Partie 2 : Epidémiologie et contrôle de la theilériose bovine à <i>Theileria parva</i> en Afrique Centrale et Orientale : revue de la littérature	11
2.1. Historique de l'East Coast fever	12
2.2. Le parasite <i>Theileria parva</i>	13
2.2.1. Distribution	13
2.2.2. Position systématique	13
2.2.3. Cycle évolutif.....	16
2.3. Les vecteurs de <i>Theileria parva</i> et leur phénologie.....	18
2.4. Les bovidés et leur sensibilité à <i>Theileria parva</i>	21
2.5. La maladie : l'East Coast fever.....	22
2.5.1. Tableau clinique et pathogénie	22

2.5.2. Méthodes de diagnostic des infections à <i>Theileria parva</i>	23
2.5.3. Epidémiologie.....	25
2.5.4. Contrôle de l'East Coast fever	29
Partie 3 : Aperçu sur l'East Coast fever et ses méthodes de contrôle dans la Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo	38
3.1. Contexte de l'étude	39
3.2. East Coast fever au Nord-Kivu.....	39
3.2.1. Caractéristiques physiques de la Province du Nord-Kivu.....	41
3.2.2. Conditions socio-économiques de la Province du Nord-Kivu	45
3.2.3. Caractéristiques de l'élevage de bovins	47
3.3. Méthodes de contrôle de l'East Coast fever au Nord-Kivu	51
Chapitre 2 : Objectif de la thèse et structure des études.....	53
Objectif général	54
Objectifs spécifiques.....	54
Chapitre 3 : Enquête épidémiologique auprès des vétérinaires sur les principales maladies transmises par les tiques dans la Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo	57
Préambule et présentation synoptique	58
Présentation détaillée	59
Enquête épidémiologique auprès des vétérinaires concernant trois maladies vectorielles des bovins élevés dans la Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo.....	59
Résumé.....	60
Summary	61
Introduction	62

Matériel et méthodes.....	63
Résultats	65
Discussion et conclusions	80
Remerciements :	84
Chapitre 4 : Identification des tiques (Acari : <i>Ixodidae</i>) et séroprévalence vis-à-vis de <i>Theileria parva</i> chez les bovins élevés dans la Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo.....	85
Préambule et présentation synoptique	86
Présentation détaillée	88
Identification of hard ticks (Acari: <i>Ixodidae</i>) and seroprevalence to <i>Theileria parva</i> in cattle raised under an extensive farming system in North-Kivu Province, Democratic Republic of Congo.	88
Abstract	89
Introduction	90
Materials and methods	90
Results	94
Discussion	99
Acknowledgements.....	103
Chapitre 5 : Etats épidémiologiques de l'East Coast fever dans la Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo.....	104
Préambule et présentation synoptique	105
Présentation détaillée	106

Status épidémiologiques de l'East Coast fever dans deux troupeaux de bovins issus de systèmes d'élevage distincts au Nord-Kivu, République Démocratique du Congo	106
Résumé.....	107
Summary	108
Introduction	109
Matériel et méthodes.....	110
Résultats	116
Discussion	124
Conclusion.....	129
Remerciements	130
Chapitre 6 : Teneur en composés roténoïdes et effet acaricide <i>in vitro</i> des feuilles de <i>Tephrosia vogelii</i> sur la tique <i>Rhipicephalus appendiculatus</i>.	131
Préambule et présentation synoptique	132
Présentation détaillée	133
Rotenoid content and <i>in vitro</i> acaricidal effect of <i>Tephrosia vogelii</i> leaf extract on the tick <i>Rhipicephalus appendiculatus</i>	133
Abstract	135
Introduction	136
Materials and methods	137
Results	139
Discussion	143
Acknowledgements.....	145
Chapitre 7: Discussion générale, conclusions et perspectives	146
7.1. Perception des vétérinaires cliniciens sur les principales maladies transmises par les tiques dans la Province du Nord-Kivu.....	148

7.1.1. Diagnostic et prévalence des maladies transmises par les tiques	149
7.1.2. Facteurs liés à la présence des maladies transmises par les tiques	150
7.1.3. Contrôle des maladies transmises par les tiques au Nord-Kivu.....	153
7.2. Distribution agro-écologique des tiques et séroprévalence à <i>Theileria parva</i> chez les bovins élevés au Nord-Kivu.....	154
7.2.1. Relation entre présence de la tique <i>Rhipicephalus appendiculatus</i> sur les animaux et séropositivité vis-à-vis de <i>Theileria parva</i>	155
7.2.2. Evaluation de l'efficacité des modes de contrôle des tiques utilisés dans la région d'étude.....	157
7.3. Estimation des états épidémiologiques de l'East Coast fever au Nord-Kivu et stratégies de contrôle.....	159
7.3.1. Phénologie de la tique <i>Rhipicephalus appendiculatus</i> et capacité vectorielle	160
7.3.2. Etats épidémiologiques de l'ECF et proposition de méthodes de contrôle	162
7.4. Evaluation <i>in vitro</i> des propriétés acaricides des feuilles de <i>Tephrosia vogelii</i> sur la tique <i>Rhipicephalus appendiculatus</i>	164
7.5. Conclusions et perspectives.....	169
Chapitre 8 : Résumé - Summary	173
Résumé.....	174
Summary	177
Bibliographie	180
Annexe	209

Liste des abréviations

ABA :	Abattement
ABD :	Abdomen
ACOGENOKI :	Coopérative des Groupements d'Éleveurs du Nord-Kivu
AGRIPEL :	Agriculture, Pêche et Elevage.
ANE :	Anémie
ANO :	Anorexie
AVO :	Avortement
BUPAR :	Buparvaquone (Butalex®),
CAPSA :	Centre d'Adaptation et de Production des Semences Améliorées
CCM :	Chromatographie sur couche mince ou chromatographie planaire
CDMT :	Cadragre Sectoriel des Dépenses à Moyen Terme
CHI :	Chignon
cM:	corrected mortality rate
COA :	Conque auriculaire (oreilles)
COI :	Consultation internet
CON :	Constipation
CPL :	Chute de production laitière
DIMIN :	Diminazène (Bérénil®, Ganasag®, Trypasen®, Veriben®),
DIS :	Diarrhée sanguinolente
DJS :	Diarrhée à jet avec anus serré
DL₅₀ ou LD₅₀ :	Dose létale 50
ECF :	East Coast fever
ECV :	Ecole vétérinaire
ELISA :	Enzyme linked immunosorbent assay
ENC :	Encolure
FAC :	Face
FAN :	Fanon
FAO:	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FLC :	Flanc
FMV :	Faculté de Médecine vétérinaire
FOC :	Formation continue (séminaires, et études)

HPLC :	Chromatographie Liquide haute Performance
HYG :	Hypertrophie ganglionnaire
HYP :	Hyperthermie
ICT :	Ictère
IFAT :	Indirect Fluorescence Antibody Test
IMIDO :	Imidocarbe (Carbesia® ; Imizol®),
ITAV :	Institut Technique Agricole et Vétérinaire
JPA :	Journaux et périodiques
JSP :	Journaux scientifiques sous format papier,
LAR :	Larmolement
MAM :	Mamelle
MEM :	Membres
MET :	Météorisation
NRU :	Non rumination
OCHA :	Office for the Coordination of Humanitarian Affairs
oM:	mortality rate observed in the treated box
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
OR :	Odd ratio
PARVA :	Parvaquone (Clexon®)
PCR :	Polymerase chain reaction
PENK :	Projet d'Élevage du Nord-Kivu
PER :	Périnée
PIB :	Produit Intérieur Brut
PLL :	Pli de l'aine
PNUD :	Programme des Nations Unies pour le Développement
QUE :	Queue
QUINI :	Quinine (Quinan®)
QUINU :	Quinuronium (Acaprine®, Zothélonge®)
REA :	Région anale
REF :	Représentants firmes
REI :	Région inguinale
RDC :	République Démocratique du Congo
RVT :	Rencontres avec d'autres vétérinaires
SELISA :	Slide enzyme linked immunosorbent assay

TETRA :	Tétracyclines (Terramycine®, Auréomycine®),
TLC:	Thin Layer Chromatography
TRL :	Troubles locomoteurs
TRN :	Troubles nerveux
TRR :	Troubles respiratoires
TVB ou TVW :	<i>Tephrosia vogelii</i> , variété à fleurs blanches
TVV ou TVP :	<i>Tephrosia vogelii</i> , variété à fleurs violettes
UCG :	Université Catholique du Graben
UCOOPANOKI :	Union Coopérative d'Éleveurs et Agriculteurs du Nord-Kivu
ULg :	Université de Liège
uM:	mortality rate observed in the untreated box (distilled water).
URM :	Urines rouges et mousseuses
ZAE (ou AEZ) :	Zone agro-écologique (Agro-ecological zone)

Préface

Cette thèse est répartie en huit chapitres organisés de la manière suivante :

Le **premier Chapitre** consiste en une introduction générale. Il est subdivisé en trois parties : la première partie présente un aperçu sur les principales maladies transmises par les tiques en Afrique centrale et orientale et leurs vecteurs respectifs.

La deuxième partie est une revue de la littérature sur l'épidémiologie et contrôle de la theilériose bovine à *Theileria parva* en Afrique centrale et orientale portant sur l'historique de la maladie, la description du parasite *T. parva*, ses vecteurs, la sensibilité de l'hôte et la maladie clinique. On y trouve également une revue bibliographique concernant l'évaluation des différents états épidémiologiques liés à la maladie et les méthodes de contrôle disponibles. La troisième partie est un aperçu sur la theilériose bovine à *T. parva* dans la Province du Nord-Kivu. Les facteurs liés à la présence et à l'émergence de cette maladie dans la Province ainsi que les méthodes de contrôle utilisées localement y sont présentés.

Le **Deuxième Chapitre** présente brièvement les objectifs et la structure chronologique des différentes études réalisées dans le cadre de cette thèse.

Les **Chapitre Trois à Six** couvrent les quatre études individuelles conduites dans le cadre de cette thèse. Certaines ont été publiées et d'autres ont été soumises afin de l'être. La présentation de chaque article est précédée par un préambule et une présentation synoptique.

Le **Septième Chapitre** est consacré à une discussion générale, aux conclusions et aux perspectives des différentes études abordées dans ce travail. Les contraintes résiduelles et des recommandations y sont aussi présentées. Nous y mentionnons également l'utilisation potentielle d'une plante médicinale dans le contrôle des tiques dans le cadre d'une approche intégrée de contrôle de l'East Coast fever et des autres maladies transmises par les tiques.

Le **Huitième Chapitre** présente le résumé de cette thèse en français suivi de la version anglaise.

Une **Bibliographie** générale est présentée en fin d'ouvrage

Chapitre 1

Introduction générale

Introduction générale

Partie 1 :

Aperçu sur les principales maladies bovines transmises par les tiques en Afrique Centrale et Orientale et leurs vecteurs respectifs



Illustration d'un bovin infesté par les tiques (crédit photo : Prof. Bertrand Losson, Université de Liège, Belgique)

1.1. Nature des agents pathogènes et distribution des vecteurs

Les maladies transmises par les tiques aux bovins ou « *tick-borne diseases* » constituent un complexe de maladies dont les agents étiologiques peuvent être des protozoaires (*Theileria sp*, *Babesia sp*), des rickettsies (*Anaplasma sp*, *Cowdria sp*), des bactéries (*Coxiella burnetii*) ou des virus comme les Nairovirus (Bunyaviridés) (Morel, 2000). Leur caractéristique commune est qu'elles peuvent toutes être transmises par les tiques. En Afrique, la présence de ces maladies est étroitement liée à la présence et à la distribution potentielle des tiques vectrices (**Figure 1.1**).

Parmi les principales maladies transmises par les tiques en Afrique centrale et orientale, celles qui ont le plus d'impact économique sur l'élevage des bovins sont : la theilériose à *Theileria parva*, la babésiose, l'anaplasmose et la cowdriose (Young *et al.*, 1990 ; Mukhebi, 1996). Les agents pathogènes respectifs et les vecteurs les plus fréquents sont répertoriés respectivement dans le **Tableau 1.1** et la **Figure 1.2**.

1.2. Theilériose à *Theileria parva*

La fièvre de la côte orientale communément appelée « *East Coast fever* » (ECF) est une maladie aiguë et souvent létale des bovins. Son agent étiologique, *Theileria parva* est un protozoaire transmis potentiellement par trois espèces des tiques : *Rhipicephalus appendiculatus*, *R. zambeziensis* et *R. duttoni*. Néanmoins, son principal vecteur est *R. appendiculatus*, une tique brune à trois hôtes (Ashford *et al.*, 2001).

L'ECF est probablement la plus importante des maladies transmises par les tiques en termes de pertes économiques et de limitation du développement de l'élevage des bovins dans les pays affectés (Norval *et al.*, 1997 ; Wall et Shearer, 2001). En Afrique centrale, orientale et du sud, les pertes annuelles dues à l'ECF (calculées en 1989) sont estimées à 168 millions \$US incluant la mort de plus de 1,1 million de bovins (Mukhebi *et al.*, 1992).

La maladie se manifeste par un gonflement des ganglions parotidiens et préscapulaires (**Figure 1.3**) suivi d'une fièvre (39,5 à 42°C) et d'autres signes cliniques tels que l'anorexie, le larmolement, la dyspnée, le jetage et les œdèmes au niveau de l'arcade sourcilière, de l'auge et du fanon. Le contrôle de l'ECF s'effectue par le contrôle du vecteur, l'immunisation des bovins susceptibles et le traitement des cas cliniques (Kivaria, 2006 ; Walker, 2007).

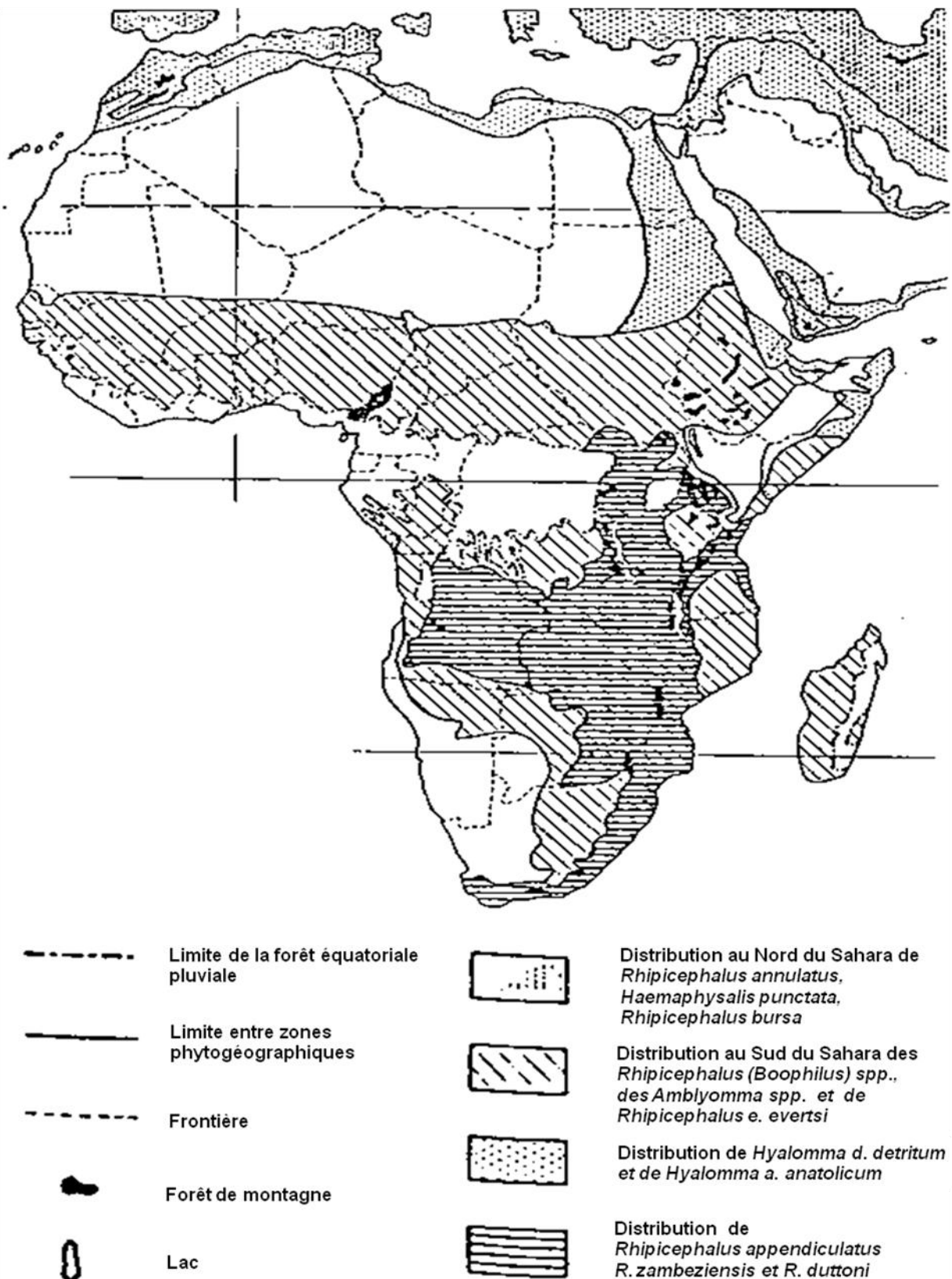


Figure 1.1 : Distribution des tiques du bétail vectrices de *Theileria*, *Babesia*, *Anaplasma* et *Ehrlichia* en Afrique (adaptée de Morel, 2000)

Tableau 1.1 : Liste des principales maladies transmises par les tiques aux bovins en Afrique centrale et orientale, des agents pathogènes responsables et des tiques vectrices, d'après Morel (2000).

Maladie et synonyme	Agents pathogènes	Tiques vectrices
- Theilériose bovine à <i>Theileria parva</i> - Fièvre de la cote orientale - <i>East Coast fever</i>	<i>Theileria parva</i>	- <i>Rhipicephalus appendiculatus</i> * - <i>Rhipicephalus duttoni</i> - <i>Rhipicephalus zambeziensis</i>
- Babésiose bovine tropicale - Piroplasmose bovine tropicale - <i>Red water</i>	- <i>Babesia bigemina</i> - <i>Babsia bovis</i>	- <i>Rhipicephalus microplus</i> ^(a) - <i>Rhipicephalus annulatus</i> ^(a) - <i>Rhipicephalus decoloratus</i> ^(b) - <i>Rhipicephalus geigy</i> ^(b)
- Anaplasmose bovine - <i>Gall sickness</i>	- <i>Anaplasma marginale</i> - <i>Anaplasma centrale</i>	- <i>Rhipicephalus (Boophilus) spp.</i> - <i>Rhipicephalus evertsi evertsi</i> - <i>Hyalomma spp.</i>
- Cowdriose bovine - <i>Heartwater</i>	<i>Ehrlichia ruminantium</i>	- <i>Amblyomma variegatum</i> ^(c) - <i>Amblyomma lepidum</i> - <i>Amblyomma gemma</i>

Légende : * = *Rhipicephalus appendiculatus* est le principal vecteur de *Theileria parva*, ^(a) = vecteurs de *Babesia bovis* et de *Babesia bigemina*, ^(b) = vecteurs de *Babesia bigemina*, ^(c) = *Amblyomma variegatum* est le principal vecteur de *Cowdria ruminantium* en Afrique centrale et orientale.

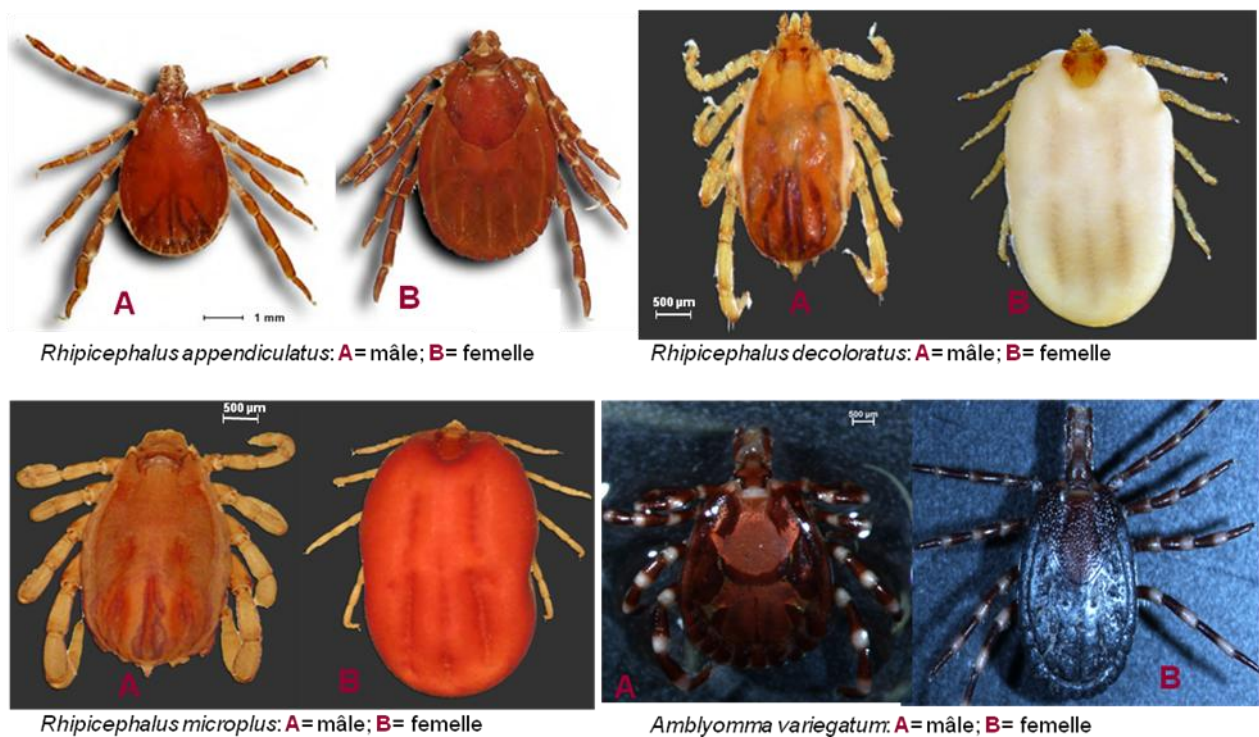


Figure 1.2 : Espèces des tiques les plus fréquentes en Afrique centrale et orientale selon Walker *et al.* (2003) (Source : Moïse Kasereka Kalume, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège / Belgique)

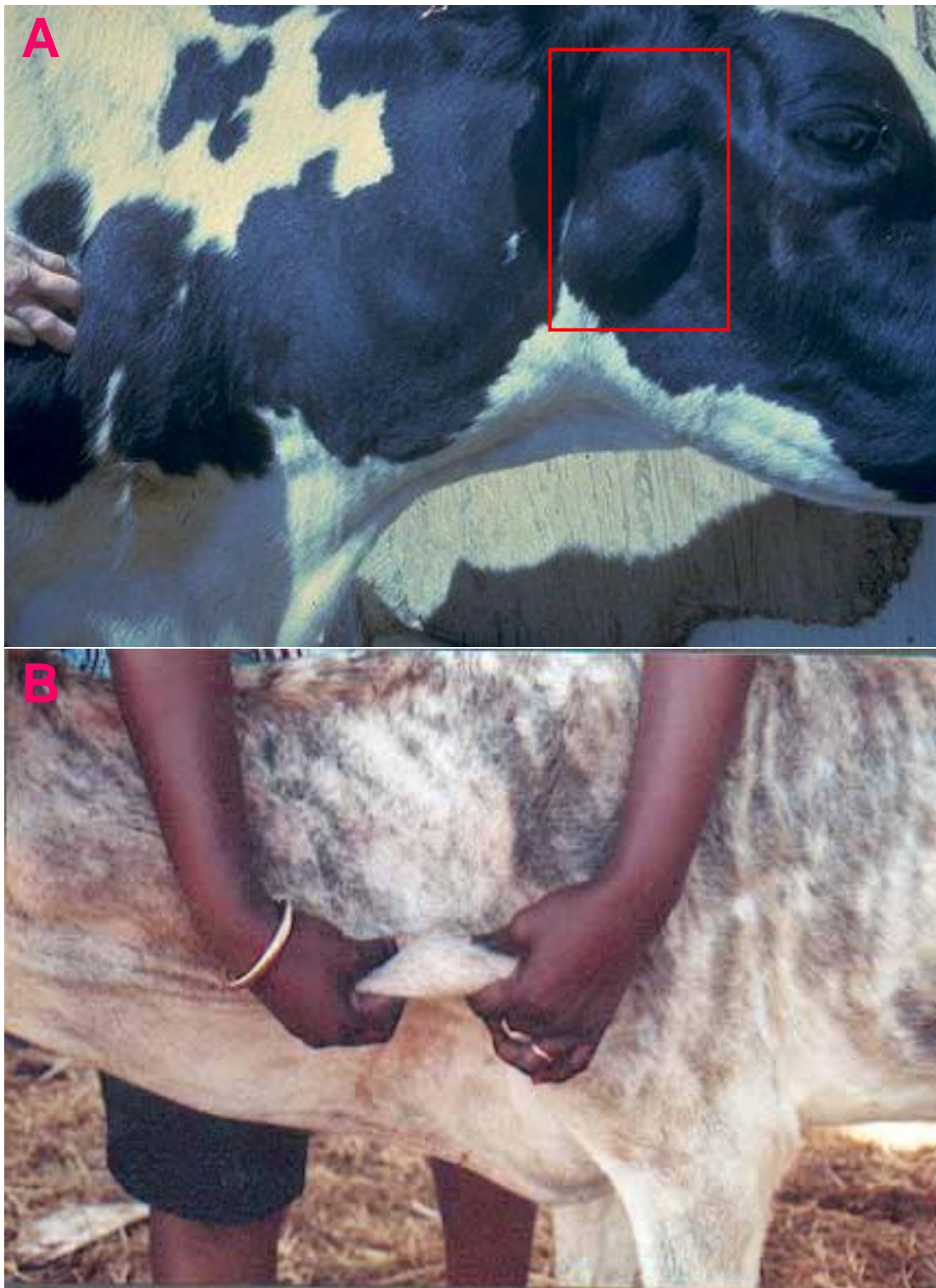


Figure 1.3 : Illustration des principaux signes cliniques de la theilériose bovine à *Theileria parva* : gonflements des ganglions parotidiens (A) et préscapulaires (B) (source : [http:// : www.vetmed.ucdavis.edu /.../INF-DA_CONDEMNED.HTML](http://www.vetmed.ucdavis.edu/.../INF-DA_CONDEMNED.HTML))

1.3. Babésiose

Babesia bovis et *Babesia bigemina* sont les agents pathogènes responsables de la babésiose (ou piroplasmose) bovine tropicale en Afrique centrale et orientale (Morel, 2000). *Rhipicephalus microplus* est le principal vecteur de *B. bovis* et de *B. bigemina* dans les pays tropicaux et subtropicaux. Cependant, *B. bigemina* présente une répartition plus étendue et il est aussi transmis par *R. decoloratus* et *R. geigy*.

La forme aiguë de la maladie est caractérisée par une forte fièvre, de l'anémie, de l'ataxie, de l'hémoglobinurie, de l'ictère et parfois la mort de l'animal (Bock *et al.*, 2004). La pathogenèse de la babésiose bovine diffère quelque peu en fonction de l'agent pathogène responsable. Pour l'infection à *B. bovis*, des signes nerveux sont fréquents en raison de la séquestration des érythrocytes infectés dans les capillaires cérébraux. La parasitémie maximale est faible (inférieure à 1%) et les phénomènes d'hémolyse sont alors relativement peu importants. Mais l'infection induit des modifications de différents composants plasmatiques ce qui induit de la stase circulatoire, un état de choc et de la coagulation intravasculaire. Par contre, *Babesia bigemina* est responsable d'une hémolyse brutale qui s'accompagne d'hémoglobinémie et de fièvre. La parasitémie peut être supérieure à 40%.

Les animaux qui survivent à la primo-infection présentent par après une parasitémie pratiquement indétectable par examen microscopique (état de prémunition). Cette infection subclinique peut perdurer durant de longues périodes (Brown *et al.*, 2006) et les animaux infectés agissent alors comme réservoirs du parasite. Cette prémunition contre la maladie est acquise, chez les animaux adultes, via des contacts modérés avec des tiques infectées. Les jeunes animaux de moins de 9 mois d'âge présentent une résistance élevée contre la maladie, liée aux anticorps transmis par le lait maternel.

La babésiose bovine tropicale a tendance à être plus sévère chez les animaux de races exotiques. Bien que les infections à *B. bovis* soient considérées comme les plus graves, les bovins indigènes maintenus dans de mauvaises conditions de santé et de nutrition peuvent aussi être affectés sévèrement par *B. bigemina* (Minjauw et McLeod, 2003).

Le succès thérapeutique repose sur un diagnostic précoce suivi par l'administration rapide (au début de la maladie) des médicaments appropriés, ce qui est difficile à réaliser dans la plupart des zones affectées en Afrique centrale et orientale. Des vaccins atténués existent à la fois

contre *B. bovis* et *B. bigemina* (Mangold *et al.*, 1996). Néanmoins, des échecs ont été rapportés lors de l'utilisation du vaccin dirigé contre *B. bovis* (Bock *et al.*, 1995). Ils sont liés au choix de la souche vaccinale, à la présence de diverses souches sur le terrain et à des facteurs liés à la résistance de l'hôte (état général de l'animal, son degré d'immunité et la susceptibilité de type et de race).

1.4. Anaplasmosse

Anaplasma marginale (Rickettsiales : *Anaplasmataceae*) est le principal agent étiologique de l'anaplasmosse bovine tropicale (Kocan *et al.*, 2004). Des infections à *Anaplasma centrale* sont aussi observées, mais elles sont le plus souvent bénignes (Morel, 2000). La maladie est transmise cycliquement par *Rhipicephalus (Boophilus) spp.*, *Rhipicephalus evertsi evertsi* et *Hyalomma spp.* La transmission mécanique peut se réaliser par différents insectes hématophages, particulièrement ceux de la famille des *Tabanidae*. Pour que cette transmission soit possible, il doit y avoir un grand nombre de mouches piqueuses au moment du pic de parasitémie chez l'animal et la transmission doit se faire dans les minutes qui suivent parce que les *Anaplasma* ne survivent pas longtemps sur les pièces buccales de l'insecte. L'homme peut aussi servir de vecteur mécanique lors des vaccinations ou d'interventions thérapeutiques effectuées sans désinfection du matériel pour injection. La transmission transplacentaire a été aussi signalée (Morel, 2000).

La maladie se manifeste par de la fièvre, de l'anémie, une perte de poids, des avortements, de la faiblesse, de l'ictère, une perte d'appétit, de la dépression, de la déshydratation, une respiration laborieuse ; la mort peut survenir chez les animaux âgés de plus de 2 ans (De Waals, 2000). La létalité va de 5 à 40%, mais elle peut atteindre environ 70% lors d'une épidémie. A la différence de *Babesia* et des piroplasmes de *Theileria*, l'anaplasme est situé en permanence dans un diverticule vacuolaire de la membrane de l'hématie ; il n'est pas en contact direct avec le cytoplasme de la cellule hôte. L'hémolyse est très faible au cours de l'infection, d'où absence de l'hémoglobinémie et de l'hémoglobinurie. L'anémie observée est due à une phagocytose des hématies, particulièrement dans la rate, qui transforme l'hémoglobine en bilirubine conjuguée facilement éliminée par la bile. Seuls les animaux splénectomisés peuvent présenter de l'ictère en cas d'anaplasmosse (Morel, 2000).

Les animaux qui survivent à l'infection primaire développent une infection subclinique, caractérisée par la persistance sur une longue durée de temps d'une faible rickettsiémie (French *et al.*, 1998 ; French *et al.*, 1999). Comme pour la babésiose bovine, l'état de « portage asymptomatique » est entretenu par l'exposition à une faible infestation par des tiques infectées.

Les races taurines d'origine européenne sont plus susceptibles de développer une maladie aiguë et létale par rapport aux bovins indigènes de race pure (Zébu et Ankole) ou croisés. L'efficacité des traitements dépend aussi de la précocité du diagnostic et de l'administration rapide (au début de la maladie) de médicaments appropriés. Des vaccins atténués dirigés contre *A. centrale* sont disponibles, mais ils donnent parfois des résultats très variables du fait de l'existence de souches antigéniquement très différentes.

1.5. Cowdriose

La Cowdriose bovine ou « *Heartwater* » est causée par une rickettsie, *Ehrlichia ruminantium* qui est transmise par la tique *Amblyomma variegatum* en Afrique centrale et orientale (Walker *et al.*, 2003). La maladie présente quatre formes cliniques différentes (suraiguë, aiguë, subaiguë et subclinique) déterminées par les variations dans la sensibilité de l'hôte et la virulence variable des diverses souches de l'agent pathogène (Uilenberg, 1983).

Des signes nerveux comme l'attitude de pousser au mur, l'agressivité, le beuglement angoissé, l'ataxie et la paralysie des membres inférieurs (**Figure 1.4**) sont très fréquents lors des formes suraiguë et aiguë de la cowdriose bovine. Ces signes cliniques sont imputables aux lésions de l'encéphale : des foyers de nécrose dans le cortex cérébelleux, de l'œdème des gaines axoniques, de la dégénérescence de la névroglie, de la chorio-méningite fibrineuse et des lésions vasculaires sont en effet observés (Morel, 2000). Une endotoxine a été mise en évidence mais son rôle n'a jamais été établi.

Les races exotiques et les bovins indigènes importés des zones indemnes vers les zones d'endémie sont les plus affectés par la maladie. Un diagnostic précoce associé à un traitement rapide et adéquat se traduit par la récupération d'une grande proportion d'animaux atteints. La vaccination contre la cowdriose est utilisée et consiste en l'infection des animaux par *Ehrlichia ruminantium* ou via une infestation par des tiques infectées et l'application concomitante d'une chimiothérapie adéquate. Le contrôle de l'infection se fait aussi par le

contrôle des tiques, mais cette approche s'est avérée très coûteuse et généralement inadéquate ou non satisfaisante pour prévenir la maladie.

Les méthodes de vaccination contre la Cowdriose incluent la technique de vaccination basée sur l'infection et le traitement, les vaccins à base de parasites atténués ou inactivés et les vaccins à ADN (Collins *et al.*, 2003 ; Jongejan *et al.*, 1993 ; Zweygarth *et al.*, 2005). La seule méthode disponible sur le marché, utilisée principalement en Afrique du Sud, est la vaccination basée sur l'infection et le traitement qui consiste en une injection par voie intraveineuse du sang de moutons infectés suivie du traitement aux tétracyclines lors de l'apparition de la fièvre. La souche « Ball 3 » est préférentiellement utilisée car elle a une virulence moyenne, permettant ainsi le traitement des animaux. Ce vaccin confère une protection forte et durable contre la maladie. Cependant, cette méthode est peu utilisée sur le terrain puisqu'elle est trop risquée et très coûteuse. Ce coût est lié au respect de la chaîne du froid pour conserver l'inoculum et effectuer un suivi journalier de la température des animaux pendant environ 3 à 5 semaines, les animaux pouvant mourir s'ils ne sont pas traités dans les temps. La méthode est aussi confrontée à une diversité des souches d'*E. ruminantium* (Jongejan *et al.*, 1991 ; 1993) et à la transmission possible d'autres agents pathogènes via le matériel infectieux.

L'utilisation d'implants sous-cutanés à base de doxycycline au moment de l'immunisation des animaux a permis d'améliorer un peu la technique en éliminant l'étape liée à l'administration répétée des tétracyclines.



Attitude de pousser au mur

Paralysie du trait postérieur

Figure 1.4 : Illustration des signes nerveux les plus fréquents lors de la Cowdriose bovine, à gauche (Crédit photo : Prof. Frédéric Rollin, Université de Liège, Belgique) et à droite (http://www.larousse.fr/encyclopedie/data/Images/1300116Enc%C3%A9phalopathie_spongiforme_bovine.jpg)

Introduction générale

Partie 2 :

Epidémiologie et contrôle de la theilériose bovine à *Theileria parva* en Afrique Centrale et Orientale : revue de la littérature



Les races exotiques (à gauche) sont très sensibles à l'East Coast fever et les bovins indigènes (à droite) sont très résistants à la maladie (<http://www.asareca.org/index.php?page&as=127>).

2.1. Historique de l'East Coast fever

Au début du XX^{ème} siècle, un grand nombre de bovins furent introduits en Afrique du Sud par des importations à partir du Kenya et de la Tanzanie afin de repeupler les troupeaux dévastés par la peste bovine et par la guerre Anglo-Boer (Lawrence, 1992). C'est ainsi que les animaux porteurs du parasite *Theileria parva*, agent pathogène de la theilériose bovine furent introduits dans un environnement où son vecteur était déjà présent. Il en résulte d'importantes épizooties puisque la majorité du bétail était dépourvue de défenses immunitaires. Suite aux premières épizooties qui furent observées à l'Est de l'Afrique du Sud en 1914, la maladie reçut alors le nom **d'East Coast fever (ECF)**. L'ECF s'est depuis lors répandue dans la majeure partie de l'Afrique australe et orientale, favorisée par les mouvements des populations bovines (Norval *et al.*, 1992).

Certains pays affectés ont fourni des efforts importants afin de contrôler, voire d'éradiquer la maladie. Ainsi, l'ECF fut éradiquée en Afrique du Sud (en 1960) et au Zimbabwe (en 1954) suite à une campagne d'environ 50 ans qui consistait en trois activités incluant un contrôle régulier des tiques et des mouvements de bovins, un dépeuplement des pâtures infestées et un abattage des animaux infectés (Lawrence, 1992).

Cependant, le vecteur n'était pas complètement éradiqué et de nouveaux syndromes causés par *T. parva* furent décrits : la *Corridor disease* (corridor entre les parcs Hluhluwe et Imfolozi en Afrique du Sud) et la *January disease* ou *Zimbabwe theileriosis* au Zimbabwe (Lawrence, 1992). Ces deux maladies présentent d'importantes différences épidémiologiques avec l'ECF bien qu'elles soient transmises par les mêmes tiques et causées par la même espèce *T. parva*, parasitant les bovins et le buffle africain (*Syncerus caffer*). Contrairement à l'ECF qui est caractérisée par l'inoculation de *T. parva* de la tique aux bovins entraînant une parasitose aiguë et létale, une très faible parasitémie est observée durant la *Corridor disease* malgré la sévérité des réactions cliniques (Ashfort *et al.*, 2001). Cette dernière maladie est appelée *Buffalo disease* puisque *T. parva* est transmis chez les bovins par des tiques qui ont acquis leur infection en se nourrissant sur les buffles. La *January disease* quant à elle, est une forme bénigne rencontrée au Zimbabwe pendant la saison des pluies (décembre à mai).

2.2. Le parasite *Theileria parva*

2.2.1. Distribution

Lessard *et al.* (1990) ont rapporté la présence d'anticorps dirigés contre *T. parva* dans plus de quinze pays en Afrique centrale, orientale et du sud. Néanmoins, la menace concerne essentiellement onze pays (Mukhebi *et al.*, 1992). La distribution de *T. parva* est étroitement liée à celle de son vecteur et ne couvre pas toutes les zones infestées par la tique (**Figure 1.5**) du fait de la distribution discontinue des tiques (Estrada-Peña, 2003) liée elle-même à différents facteurs bio-climatiques (Olwoch *et al.*, 2003 ; Nshimiyimana et Mutandwa, 2010). La distribution des tiques est en outre liée à la distribution des hôtes (Pearson et Dawson, 2003).

Ainsi, une relation positive entre la distribution de *R. appendiculatus* et la séroprévalence à *T. parva* a été constatée aussi bien dans des études transversales (Deem *et al.*, 1993 ; Gachohi *et al.*, 2011) que longitudinales (Rubaire-Akiiki *et al.*, 2006). Cependant, contrairement à cette observation générale, Bazarusanga *et al.* (2007b) ont rapporté au Rwanda un phénomène non encore clairement expliqué, à savoir, une séroprévalence à *T. parva* très élevée chez les bovins d'une région liée à de faibles infestations par les tiques.

2.2.2. Position systématique

Theileria parva (Theiler, 1904 ; Levine *et al.*, 1980 ; Anon, 1989 ; Adl *et al.*, 2005) est l'agent pathogène principal de l'ECF en Afrique centrale et orientale. Des espèces telles que *T. mutans*, *T. sergenti*, *T. orientalis*, *T. buffeli*, *T. taurotragi* et *T. velifera* affectent également les bovins (**Tableau 1.2**) mais leur importance est moindre (Norval *et al.*, 1992). L'espèce *T. annulata* est l'agent de la theilériose méditerranéenne. Elle est véhiculée par des espèces de tiques dures du genre *Hyalomma* et sa distribution géographique comprend l'Afrique du Nord (pays du Maghreb), le sud de l'Europe, le Moyen-Orient et certains pays asiatiques (Inde et Chine) (Morel, 2000). Elle est souvent considérée avec *T. orientalis* comme relativement cosmopolite (Jacquiet *et al.*, 1994 ; Gharbi, 2006).

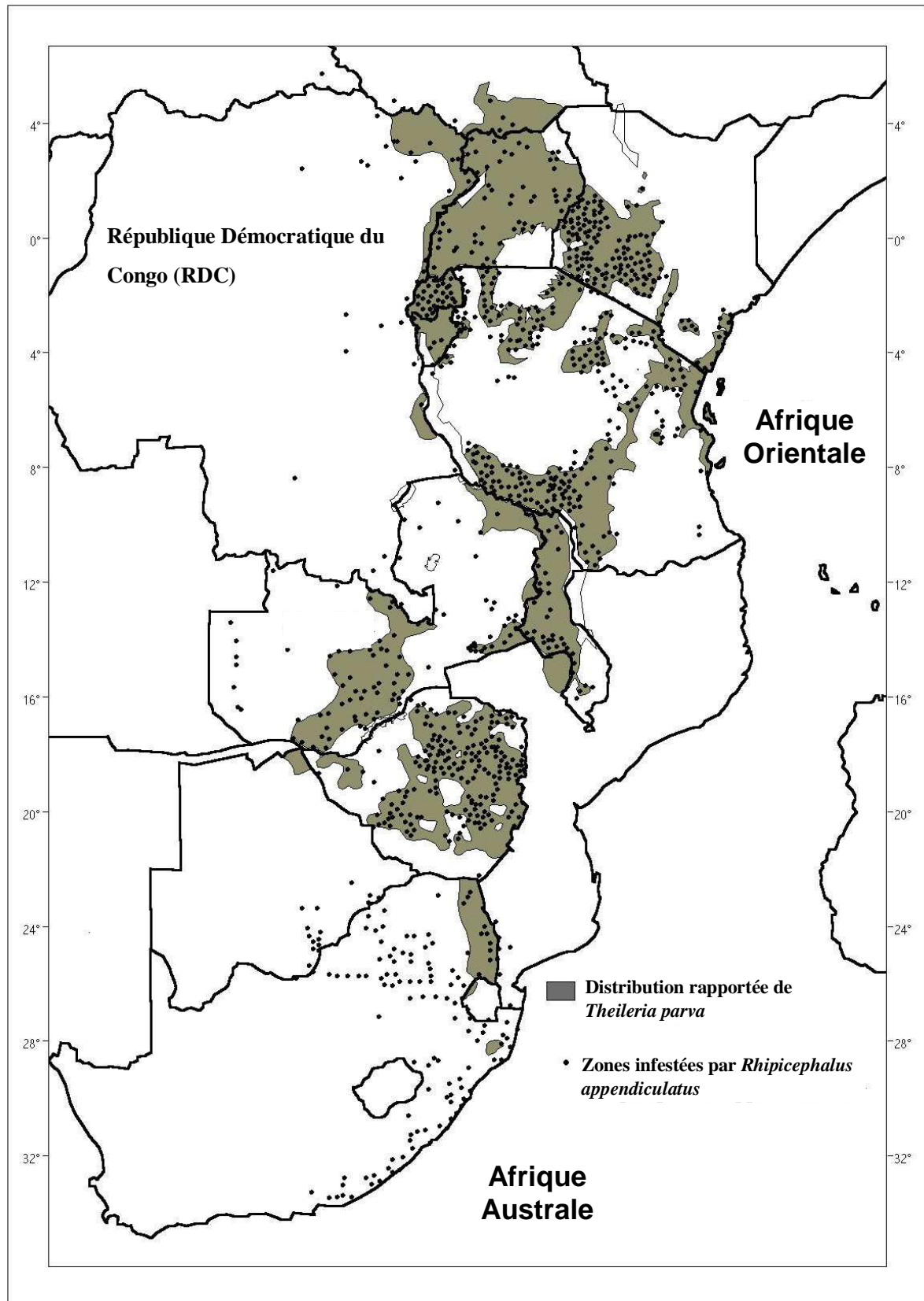


Figure 1.5 : Distribution de *Theileria parva* et de *Rhipicephalus appendiculatus*, adaptée de Fandamu (2005).

Tableau 1.2 : Principales espèces du genre *Theileria* affectant les bovins, d'après Morel (2000) et Ashford *et al.* (2001).

Espèces	Maladie et synonymes	Tiques vectrices	Hôtes (mammifères)	Pathogénicité
<i>Theileria parva</i> (Theiler, 1904)	- <i>East Coast fever</i> (ECF)	- <i>Rhipicephalus appendiculatus</i>	- Bovins	Forte
	- <i>Corridor (ou buffalo) disease</i>	- <i>Rhipicephalus duttoni</i>	- Buffle africain (<i>Syncerus caffer</i>)	
	- <i>January disease</i>	- <i>Rhipicephalus zambeziensis</i>	- Buffle asiatique (<i>Bubalus bubalis</i>)	
<i>Theileria annulata</i> (Dzhunkovskii et Luhs, 1904)	- Theilériose tropicale	- <i>Hyalomma d. detritum</i>	- Bovins	Forte
	- Fièvre méditerranéenne	- <i>Hyalomma a. anatolicum</i>	- Buffle Asiatique (<i>Bubalus bubalis</i>)	
	- Theilériose bovine d'Afrique du Nord	- <i>Hyalomma dromedarii</i>		
<i>Theileria mutans</i> (Theiler, 1906 ; Theiler et Graf, 1928)	- Theilériose bénigne Afro-tropicale (I)*	<i>Amblyomma</i> spp.	- Bovins	Faible
	- Theilériose bénigne du buffle noir		- Certaines races de buffle d'Afrique - Moutons (temporaire)	
<i>Theileria taurotragi</i>	- Theilériose bénigne Afro-tropicale (II)*	<i>Rhipicephalus appendiculatus</i>	- Bovins, Ovins et Caprins (temporaire)	Faible
	- Theilériose cérébrale		- Antilopes africaines	
<i>Theileria velifera</i> (Uilenberg, 1964)	Theilériose bénigne de bovins et buffles d'Afrique	<i>Amblyomma</i> spp.	- Bovins	Nulle
			- Buffle africain (<i>Syncerus caffer</i>)	
<i>Theileria orientalis</i> (Yakimov et Sudachenkov, 1931)	Theilériose bovine bénigne cosmopolite : souches non pathogènes	<i>Haemaphysalis</i> spp.	Bovins	Nulle

Légende : * Même maladie mais causée par deux espèces différentes de *Theileria*. Les mentions I et II sont utilisées pour spécifier les différences d'espèces

Trois sous-espèces de *T. parva* ont été reconnues : *T. parva parva* agent pathogène classique de l'ECF (Lawrence *et al.*, 2004a), *T. parva lawrencei* responsable de la *Corridor disease* ou *Buffalo disease* transmise des buffles aux bovins (Lawrence *et al.*, 2004b) et *T. parva bovis* agent causal de la *Zimbabwe theileriosis*, forme la plus bénigne aussi connue sous le nom de *January disease* (Lawrence *et al.*, 1994).

Cette nomenclature trinomiale était basée sur les paramètres cliniques et épidémiologiques des maladies respectives (Yusufmia *et al.*, 2010) mais sa signification phylogénique demeure l'objet de discussions (Allsopp *et al.*, 1989 ; Perry et Young, 1993). Elle a été abandonnée puisque les études sur l'immunité croisée et sur les différents génomes n'ont jamais justifié la présence de sous-espèces au sein de *T. parva*. Cependant, la composition antigénique au sein de l'espèce *T. parva* peut varier en fonction des isolats (Nambota *et al.*, 1997 ; Geysen *et al.*, 1999). Ces différences peuvent expliquer des variations dans la pathogénicité et des variations d'incidence de l'infection à *T. parva* en fonction des zones géographiques étudiées.

2.2.3. Cycle évolutif

Theileria parva utilise comme hôte intermédiaire les bovidés et son hôte définitif principal est la tique *R. appendiculatus* chez laquelle se réalise la phase sexuée (Watt et Walker, 2000) (**Figure 1.6**). A l'occasion du repas sanguin sur son hôte, la tique infectée inocule au bout de 3 à 4 jours des sporozoïtes de *T. parva* contenus dans sa salive. Le complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (MHC-I) localisé sur les lymphocytes T et B des mammifères permet l'adhérence entre les sporozoïtes et les lymphocytes (Shaw *et al.*, 1995). Les extraits de glandes salivaires de tiques, ainsi que l'interleukine 2 (IL2) stimulent le processus de phagocytose (Shaw, 2003). Dès que le sporozoïte pénètre le lymphocyte, plusieurs cycles de division nucléaire conduisent à la formation de schizontes. Il s'agit d'une transformation temporaire du lymphocyte en lymphoblaste, transformation liée à la présence du protozoaire (Ole-Moi Yoi, 1989). Les lymphoblastes peuvent à leur tour se multiplier entraînant la dissémination des parasites et sont facilement cultivés *in vitro* (Madder *et al.*, 2003), et leur culture conduit à une prolifération infinie.

La particularité importante de la schizogonie de *T. parva* est qu'elle stimule une division de la cellule hôte de manière synchrone à sa multiplication. Il semblerait que la synchronisation entre la mitose chez *T. parva* à celle de la cellule hôte se réalise pendant la phase M du cycle

cellulaire au cours de laquelle le schizonte possède 8 à 15 noyaux. Ceci expliquerait pourquoi le nombre de noyaux au sein des schizontes varie très peu au cours de l'infection (Irvin *et al.*, 1982). Une telle stratégie de multiplication a comme avantage, pour le parasite, de n'être jamais en contact avec l'espace extracellulaire. On assiste, en moyenne, à une division cellulaire toutes les 20 heures, correspondant à une multiplication des lymphocytes infectés par un facteur dix tous les 2 à 3 jours (Jarrett *et al.*, 1969).

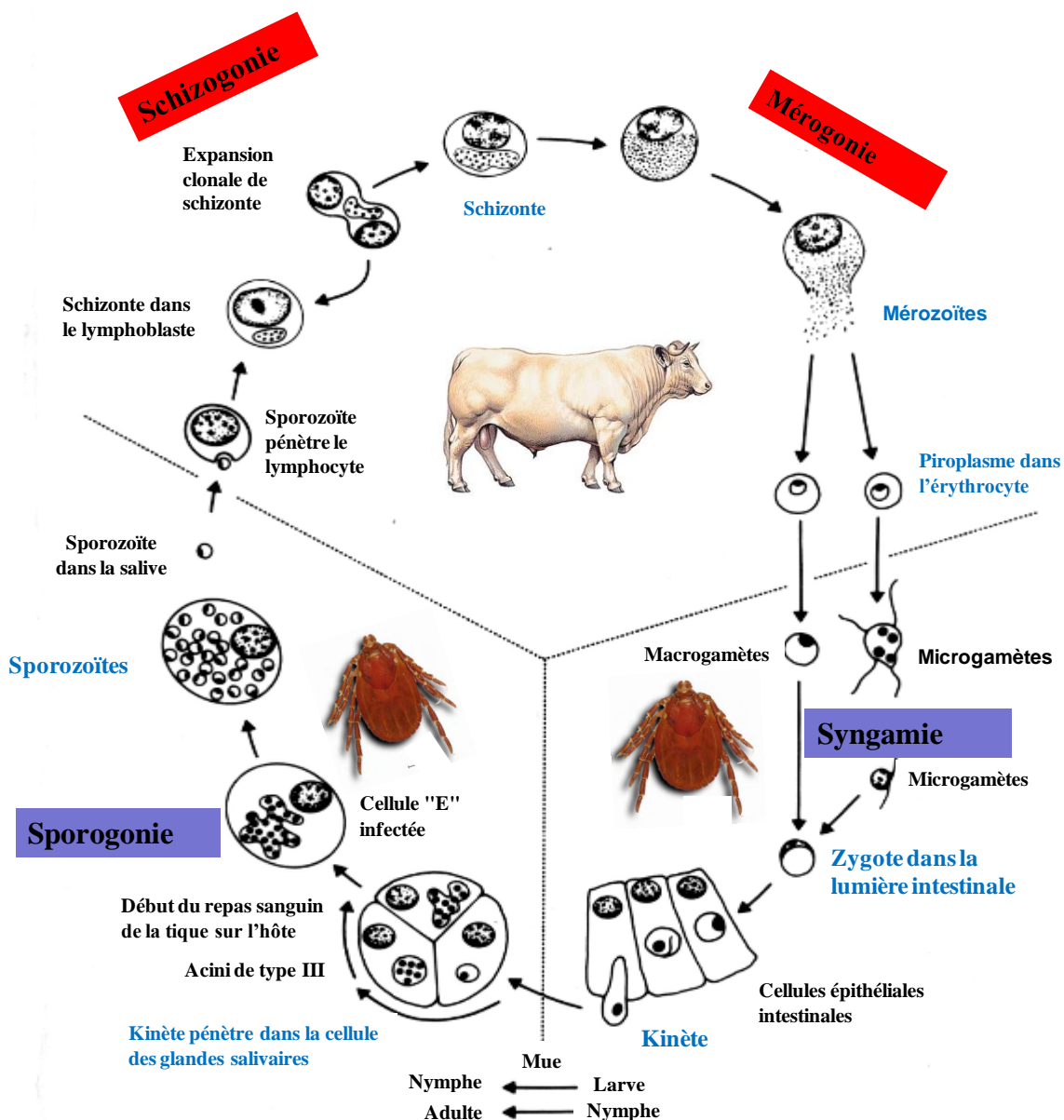


Figure 1.6 : Cycle évolutif de *Theileria parva* chez les bovins et la tique dure *Rhipicephalus appendiculatus*, adapté de Norval *et al.* (1992).

La mérogonie intervient 10 à 12 jours après l'infection. La membrane cytoplasmique parasitaire forme des bourgeons qui donnent au méronte sa forme typique de rosette. Les noyaux et éléments cellulaires sont reliés entre eux par un système de microtubules. La rupture de la membrane lymphocytaire libère les mérozoïtes, qui pénètrent les hématies par un mécanisme semblable à celui mis en œuvre par les sporozoïtes vis-à-vis des lymphocytes (Shaw et Tilney, 1992). Contrairement à la plupart des hématozoaires comme *T. annulata*, *Babesia* spp. et *Plasmodium* spp., les piroplasmes ou formes intra-érythrocytaires de *T. parva* sont caractérisés par une multiplication limitée (Ashford *et al.*, 2001). Cependant, des divisions intra-érythrocytaires de *T. parva* ont été décrites *in vitro* (Conrad *et al.*, 1986 ; Fawcett *et al.*, 1987).

La tique s'infecte pendant le repas sanguin sur un animal en phase aiguë ou infecté asymptomatique. Chez la tique, la transmission de *T. parva* est transstadiale (Bowman, 2009), il n'y a pas de transmission transovarienne, ni de transmission du stade larvaire au stade adulte sans réinfection au stade nymphal. Les « corps rayés » ou « *ray bodies* » observés par Koch en 1906 dans l'intestin de tiques infectées sont des micro et macrogamontes, précurseurs multinucléés des microgamètes et macrogamètes (Norval *et al.*, 1992). Dans la lumière intestinale de la tique, les macro et microgamètes fusionnent pour donner des zygotes. Les zygotes pénètrent dans les cellules épithéliales intestinales de la tique où ils subissent une méiose et donnent des kinètes mobiles (Gauer *et al.*, 1995) qui migrent vers la glande salivaire à travers l'hémolymphe. A ce stade, les kinètes sont appelés sporontes. Bien qu'il soit possible que tous les types d'acini de la glande salivaire de la tique puissent être infectés, les kinètes de *T. parva* ne se développent que dans les acini de type III, au sein des cellules granuleuses de type « E ». Les sporoblastes sont produits par sporogonie qui débute avec le repas sanguin de la tique. La maturation des sporoblastes est alors stimulée et les sporozoïtes haploïdes sont produits et excrétés au cours des phases de salivation (Gauer *et al.*, 1995).

2.3. Les vecteurs de *Theileria parva* et leur phénologie

Trois espèces de tiques sont potentiellement vectrices de *T. parva* : *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann 1901, *Rhipicephalus duttoni* Neumann 1907 et *Rhipicephalus zambeziensis* (Walker *et al.*, 1981 ; Lawrence *et al.*, 1983). Mais, les facteurs comme la température et la pluviométrie qui déterminent la transmission et l'épidémiologie de *T. parva*

en régions endémiques de l'ECF sont liés à la distribution et à l'abondance de la tique *R. appendiculatus* (Ashford *et al.*, 2001).

Rhipicephalus appendiculatus (**Figure 1.7**) est une petite tique brune ou brun rougeâtre, possède des palpes courts et des festons au bord postérieur. Elle se fixe préférentiellement sur les oreilles des bovins au stade adulte, ce qui lui a valu en anglais le nom de « *brown ear tick* » (Bowman, 2009). Son évolution est trixène et passe par 4 stades (**Figure 1.8**) : œuf, larve, nymphe et adulte (mâle ou femelle). Les stades émergents de la tique se nourrissent sur des hôtes séparés et les mues se déroulent pendant les phases libres. Les ongulés sont les hôtes préférentiels au stade adulte tandis que les formes immatures sont ubiquistes et se nourrissent sur une grande variété d'hôtes avec une préférence pour les micromammifères bien que les nymphes manifestent également un tropisme important pour les ongulés (Walker *et al.*, 2003).

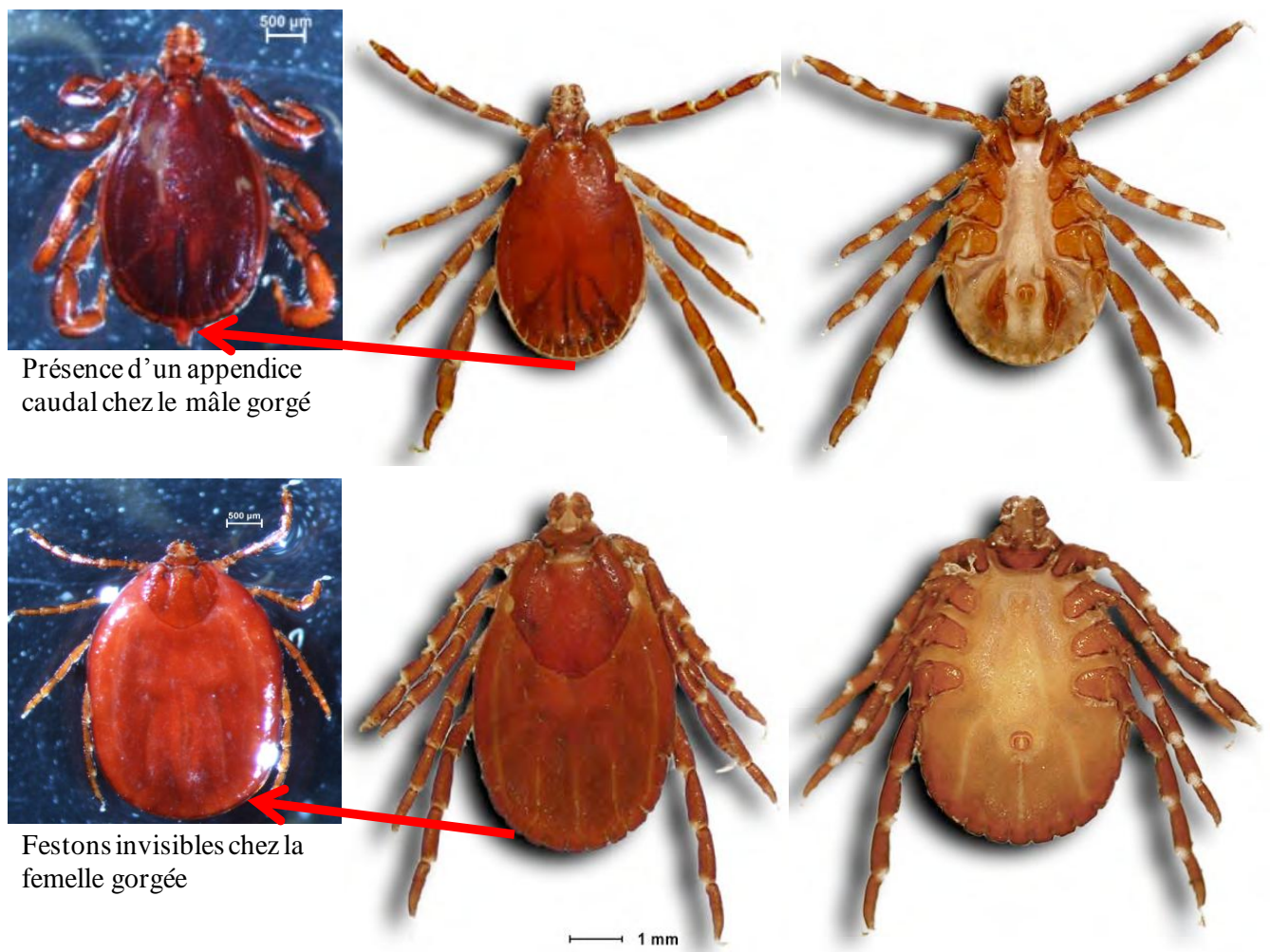


Figure 1.7 : *Rhipicephalus appendiculatus* mâle (en haut) et femelle (en bas) : face dorsale à gauche et face ventrale à droite (Source : Moïse Kasereka Kalume, Faculté de Médecine vétérinaire, ULg / Belgique).

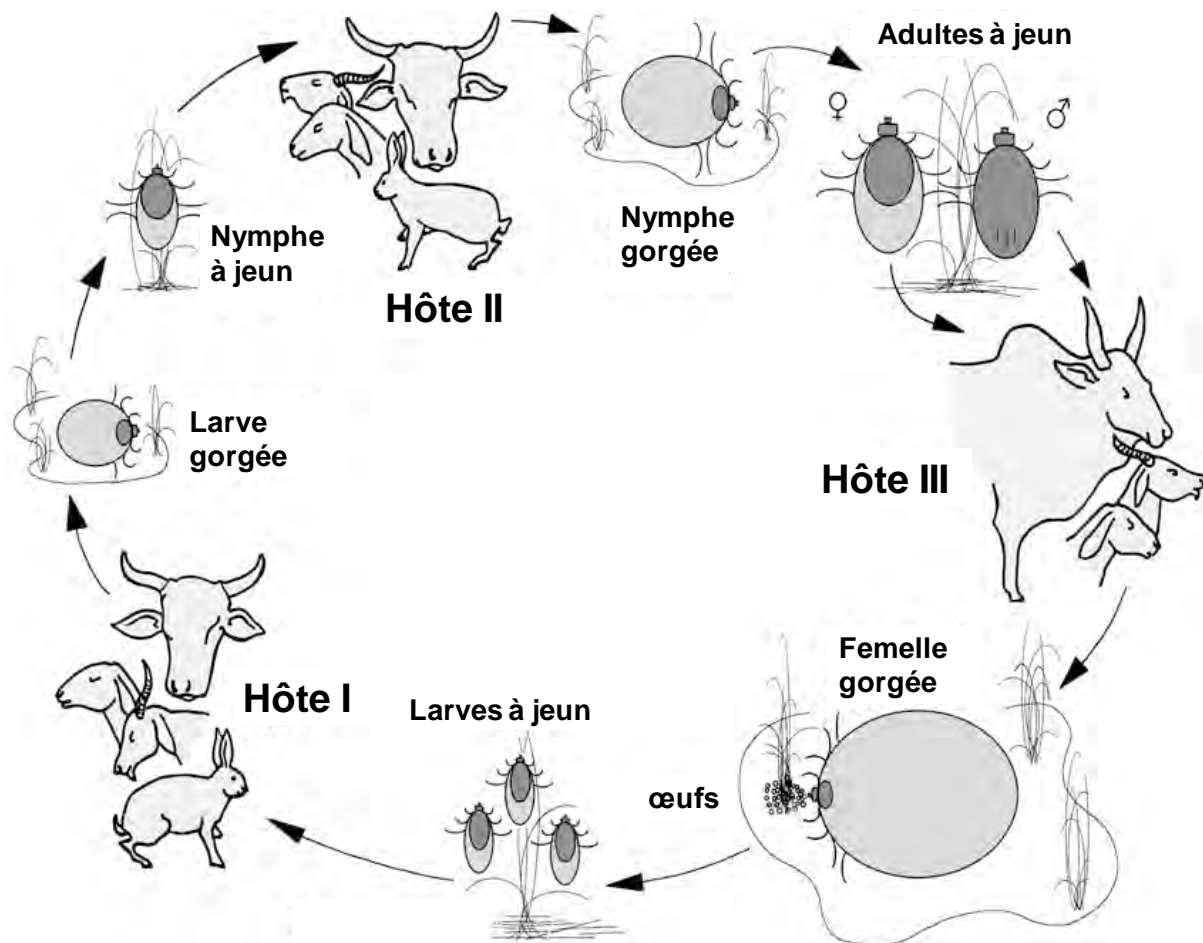


Figure 1.8 : Cycle évolutif de *Rhipicephalus appendiculatus*, adapté de Speybroeck (2003).

Le repas sanguin peut prendre 6 jours pour les larves et 8 jours pour les nymphes et adultes en fonction de la résistance de l'hôte et des conditions climatiques (Branagan, 1974 ; Madder *et al.*, 2005). Seules les femelles font un repas de sang prolongé, nécessaire pour la maturation des ovocytes et ne peuvent terminer leur repas que si elles sont fécondées. Pendant le repas, les femelles émettent une phéromone sexuelle qui attire les mâles et l'accouplement a lieu le plus souvent sur l'animal hôte. Après le repas au cours duquel les femelles fécondées ont augmenté de volume, elles se détachent de leur hôte pour pondre environ 3000 à 5000 œufs dans un microenvironnement adapté (sous la végétation ou dans un terrier) et ensuite meurent (Walker *et al.*, 2003). L'éclosion des œufs donnera environ 2000 à 3000 larves dont seulement 10% atteindront le stade nymphal et 1% le stade adulte (Short et Norval, 1981a). Les mâles peuvent rester sur l'hôte pendant 4 à 6 semaines et peuvent s'accoupler avec

plusieurs femelles. La ponte, l'éclosion et la mue nécessitent une température et une humidité adéquates.

La tique *R. appendiculatus* a été signalée dans 17 pays de l'Afrique centrale, orientale et du sud (Norval *et al.*, 1992) et son abondance varie en fonction des facteurs en rapport avec les conditions climatiques (température, pluviosité et photopériode) et la disponibilité d'hôtes.

L'activité journalière de *R. appendiculatus* est influencée par la photopériode (Short et Norval, 1981a ; Sonenshine, 1993 ; Madder et Berkvens, 1997). La tique est plus active le matin et le soir en association avec les activités de pâturage de son hôte (Minshull et Norval, 1982 ; Mwangi *et al.*, 1991). Son activité saisonnière repose sur l'abondance des pluies dans une région donnée et des possibilités de rencontrer l'hôte (Short et Norval, 1981b ; Cummings, 2002 ; Moorling *et al.*, 2004 ; Randolph, 2008). Les densités de la tique dans les pâtures et les taux d'infestation des animaux par la tique sont en corrélation positive avec les mois ou années les plus pluvieux. L'activité de *R. appendiculatus* est élevée en zones équatoriales de l'Afrique orientale. La tique présente une diapause en Afrique australe et du sud (Rechav, 1982 ; Speybroeck *et al.*, 2002). Dans ces régions où la saisonnalité est plus marquée avec des périodes très chaudes et sèches, c'est *R. zambeziensis* qui est la plus active (Lawrence *et al.*, 1983 ; Berkvens *et al.*, 1995), mais son rôle dans l'épidémiologie de l'ECF est mal défini. La tique *R. duttoni* est rencontrée à l'Ouest de la République Démocratique du Congo et en Angola où aucun cas d'ECF n'a jamais été rapporté (Lessard *et al.*, 1990). Son rôle est donc limité voire nul dans la transmission de *T. parva*. Les bouleversements climatiques observés actuellement pourraient modifier la dynamique de transmission de *T. parva*.

2.4. Les bovidés et leur sensibilité à *Theileria parva*

Les principales espèces de bovidés hôtes de *T. parva* sont le bovin, le buffle Africain (*Syncerus caffer*), le buffle Asiatique (*Bubalus bubalis*) et le Kob (*Kobus ellipsiprymmus*) (Stagg *et al.*, 1983 ; Stagg *et al.*, 1994). Parmi les espèces sauvages, le buffle d'Afrique joue le rôle le plus important dans l'épidémiologie de l'ECF (Ashford *et al.*, 2001).

Chez le bovin, la sensibilité à *T. parva* est fonction non seulement de la condition générale de l'animal et de son immunité active ou passive (Perry *et al.*, 1985) mais aussi de la susceptibilité de la race (Paling *et al.*, 1991). Les bovins indigènes (*Bos indicus*) de type Sanga (ou Ankole) et Zébu de régions endémiques présentent une résistance habituellement

élevée contre l'infection à *T. parva* (Young *et al.*, 1981 ; Baldwin *et al.*, 1986). Cette résistance est probablement le résultat de la sélection naturelle pendant des siècles dans la population bovine. Il en est de même chez les bovins de type Ankole dans le bassin du lac Victoria (en Tanzanie) (Morel, 2000). La résistance s'observe chez les bovins de toute catégorie d'âge qui ont été infectés et qui ont survécu. Par contre, les bovins *Bos indicus* et *Bos taurus* importés des régions indemnes sont plus susceptibles de contracter la maladie et la mortalité est élevée (Ndungu *et al.*, 2005 ; Oura *et al.*, 2005).

Les animaux guéris suite à l'infection primaire présentent une immunité de longue durée contre les infections homologues (Bücher et Otim, 1986). Ils deviennent des porteurs chroniques et sont capables d'infecter les tiques et entretenir l'état d'endémie de l'infection à *T. parva* (Young *et al.*, 1996). Medley *et al.* (1993) ont rapporté qu'en régions endémiques d'ECF, le nombre d'animaux présentant la maladie clinique augmente le taux de diffusion de l'infection à *T. parva* au sein d'un troupeau de bovins mais la contribution du nombre élevé d'animaux infectés subcliniques dans la transmission globale de l'infection est de loin la plus importante.

L'interaction hôte-parasite nécessite de prendre en compte l'intensité de transmission de *T. parva* par les tiques vectrices et l'invasion des cellules de l'hôte ainsi que le degré d'immunité acquise par les animaux (Cebula et LeClerc, 1997).

Les programmes de sélection instaurés dans les élevages bovins, et menés ces dernières années dans la plupart des Pays affectés par l'ECF ont permis d'augmenter les populations de bovins de race taurine (haute productrice de lait ou de viande) grâce à des croisements avec les types Zébu et Ankole. Les bovins issus de ce croisement présentent une tolérance partielle contre l'infection à *T. parva*. Cependant, l'incidence de l'ECF et les pertes économiques engendrées chez les bovins améliorés n'ont jamais été évaluées dans la plupart des régions endémiques.

2.5. La maladie : l'East Coast fever

2.5.1. Tableau clinique et pathogénie

Chez les bovins, la maladie de l'ECF dure environ 3 semaines avec une période pré-patente de 5-10 jours et environ 2 semaines de phase clinique (Ashford *et al.*, 2001). La forme aiguë se reconnaît par un gonflement du ganglion parotidien surtout lorsqu'il est unilatéral, à mettre

en relation avec le site préférentiel de fixation du stade adulte de la tique au niveau des oreilles (Lawrence *et al.*, 1994). L'adénite ganglionnaire se généralise rapidement. La forte fièvre (39,5 à 42°C) débute entre le 7^{ème} et le 10^{ème} jour après l'infection et s'accompagne d'anorexie et de larmoiement. La dyspnée sévère, le jetage, l'arrêt de la rumination, les œdèmes au niveau de l'arcade sourcilière, de l'auge et du fanon sont aussi des signes cliniques fréquents. La mortalité est plus ou moins élevée. Par contre, les formes chroniques sont plus difficiles à diagnostiquer. Les signes cliniques spécifiques sont absents. On observe une perte sévère de l'état de santé et de nutrition souvent accompagnée de diarrhée.

L'effet pathogène de *T. parva* est dû à sa capacité à induire une multiplication incontrôlée des lymphocytes infectés (Hulliger *et al.*, 1964; Malmquist *et al.*, 1970). La mort de bovins infectés est le résultat de cette lymphoprolifération et l'infiltration des organes lymphoïdes et non lymphoïdes par les cellules parasitées qui interfèrent avec le fonctionnement normal de ces organes, plus particulièrement les poumons. Lors de l'évolution aiguë ou suraiguë, la mort survient avant l'apparition des piroplasmes de *T. parva*. Lorsque la maladie évolue vers la guérison, les schizontes lymphoblastiques diminuent et ont tendance à disparaître en l'absence des réinfections, pendant que les mérozoïtes érythrocytaires persistent jusqu'à la fin de la phase morbide et plus tard (Morel, 2000).

L'autopsie révèle des lésions liées à l'hyperperméabilité vasculaire : des congestions et pétéchies généralisées, des œdèmes dans la plupart des organes et de nombreux épanchements dans le thorax, le péricarde et l'abdomen. Les infiltrations lymphocytaires provoquent des lésions rénales et spléniques, la nécrose de la muqueuse intestinale et des ulcérations de la caillette. De la lymphopénie et de l'anémie sont observées bien qu'il y ait une multiplication intra-érythrocytaire limitée des piroplasmes de *T. parva* (Mbassa *et al.*, 1994).

2.5.2. Méthodes de diagnostic des infections à *Theileria parva*

Le diagnostic parasitologique peut être posé dès l'apparition des premiers signes cliniques. Des frottis réalisés à partir de pontions de lymphoganglionnaire et colorés au May-Grünwald-Giemsa révèlent des schizontes. Des frottis sanguins obtenus par la même technique permettent de visualiser les piroplasmes dans les hématies. Cela n'est possible qu'à partir du 12^e jour après l'infection. Mais cette technique est relativement peu sensible et ne permet pas de différencier les piroplasmes de *T. parva* de ceux des espèces non pathogènes telles que *T.*

taurotragi, *T. mutans* et *T. velifera* qui produisent le plus souvent des infections mixtes. En outre les piroplasmes de *T. parva* peuvent aussi être confondus avec ceux des autres hématozoaires tels que ceux du genre *Babesia* spp. (Norval *et al.*, 1992) à cause de leur caractère polymorphique (variations de taille et de forme durant l'infection).

Parmi les tests sérologiques permettant la détection de l'infection à *T. parva*, le test IFAT (*Indirect Fluorescence Antibody Test*) est le plus fréquemment utilisé en Afrique (Burrige et Kimber, 1972 ; Goddeeris *et al.*, 1982). Une fiabilité élevée est attribuée à cette technique au vu de sa sensibilité et sa spécificité respectivement de 55 - 90% et 80 - 95% (Muraguri *et al.*, 1999 ; Billiouw *et al.*, 2005). Les schizontes et les piroplasmes peuvent être utilisés comme antigènes pour détecter les anticorps de *T. parva*, bien que l'antigène des schizontes soit préféré car il confère une réponse sérologique spécifique plus durable. L'inconvénient du test IFAT réside dans la possibilité de réactions sérologiques croisées avec d'autres *Theileria* spp tels que *T. taurotragi* et *T. annulata* (Norval *et al.*, 1992) ainsi que la subjectivité dans l'évaluation du degré de fluorescence. Billiouw *et al.* (2005) ont rapporté que comme tous les autres tests sérologiques, l'IFAT fonctionne bien lorsqu'il est utilisé pendant la période épidémique avec une intensité élevée de transmission de *T. parva*, mais après cette période, il perd sa sensibilité.

Le SELISA (*slide-ELISA*) adapté à *T. parva* ressemble fort à l'IFAT sur schizontes, mais la liaison anticorps-antigène est révélée par une réaction enzymatique plutôt que par l'examen sous lumière fluorescente. L'avantage principal du SELISA par rapport à l'IFAT est qu'il nécessite un matériel moins sophistiqué. Le test ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) semble être très sensible et spécifique (Katende *et al.*, 1998). L'antigène utilisé, dénommé « *Polymorphic Immunodominant Molecule* » (PIM), est produit par génie génétique. Le PIM est exprimé à la surface des sporozoïtes et des schizontes de toutes les souches de *T. parva* examinées jusqu'à présent (Toye *et al.*, 1991), mais le test ELISA n'est pas utilisé de manière routinière suite à la difficulté à produire un antigène pur. En outre, sa sensibilité n'a jamais été évaluée dans les différentes zones endémiques à *T. parva*.

La discrimination des infections par les souches de *T. parva* nécessite l'application d'une technique de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (Ogden *et al.*, 2003 ; Bazarusanga *et al.*, 2008). La PCR est utilisée aussi pour évaluer le taux d'infection des tiques par *Theileria* spp. (Watt *et al.*, 1997 ; Odongo *et al.*, 2009). Cependant, le coût très élevé impliqué dans le

protocole de PCR limite son utilisation dans des études sur la prévalence à *T. parva*. En outre, sa sensibilité n'a jamais été évaluée dans les différentes zones endémiques à l'ECF. Dans une étude expérimentale, Geysen (2000) a rapporté que la méthode de PCR ne peut détecter que la moitié des animaux infectés subcliniques par *T. parva*. Bazarusanga *et al.* (2008) ont rapporté aussi une sensibilité significativement très faible de la PCR dans la détection des infections naturelles par *T. parva* par rapport aux méthodes sérologiques. Cette faible sensibilité de PCR à détecter des densités parasitaires faibles chez les animaux infectés subcliniques est due au fait qu'une très faible proportion d'érythrocytes infectés par *T. parva* est présente dans le volume de sang utilisé dans des réactions de PCR.

2.5.3. Epidémiologie

2.5.3.1. Les différents états épidémiologiques de l'East Coast fever

Norval *et al.* (1992) ont décrit deux situations épidémiologiques de l'ECF, l'une instable (épizootie) et l'autre stable (stabilité enzootique). Ces états épidémiologiques sont déterminés sur base des quatre indicateurs suivants : la séroprévalence à *T. parva*, l'incidence de la maladie, le groupe d'âge de bovins affectés et le taux de mortalité. La stabilité enzootique est un état par lequel la majorité de bovins du troupeau sont infectés et immunisés à l'âge de six mois avec peu ou pas de cas cliniques et de mortalité (Moll *et al.*, 1986).

Cette classification a donné lieu à des controverses car n'importe quelle autre situation pourrait être qualifiée d'instable. En outre, l'équilibre entre le parasite, l'hôte et la tique avec une apparente absence de cas cliniques ne peut se produire qu'exceptionnellement quand la transmission de *T. parva* est continue dans la population de bovins. Cette situation ne peut être considérée comme instable dans des circonstances épidémiologiques différentes comme celles observées dans certaines régions endémiques comme l'Est de la Zambie (Marcotty, 2003). Dans cette zone, on observe une très forte prévalence de tiques (correspondant à l'état d'enzootie stable selon Norval et ses collaborateurs) et une faible incidence de l'ECF chez les bovins adultes mais une morbidité et une mortalité importantes chez les jeunes animaux (instabilité).

Les états épidémiologiques de l'ECF ont été alors évalués sur base de la prévalence de l'infection et de la catégorie d'âge de bovins au premier contact avec le parasite. La morbidité et la mortalité sont des critères distinctifs illustrant la nécessité de contrôler l'infection. Ainsi,

trois situations épidémiologiques ont été décrites : l'épizootie, l'enzootie et la stabilité enzootique (**Tableau 1.3**).

Tableau 1.3 : Caractéristiques des états épidémiologiques de l'ECF, d'après Marcotty (2003).

Critères (ou indicateurs)	Epizootie	Enzootie	Enzootie stable
Catégories d'âge de bovins affectés	Toutes catégories	Jeunes animaux	Jeunes animaux
Incidence des cas cliniques	En augmentation	Elevée	Faible
Prévalence des tiques infectées et séroprévalence à <i>T. parva</i>	Faibles	Elevées	Elevées
Taux de mortalité	Elevé	Elevé	Faible

L'épizootie se caractérise par une incidence élevée de la maladie dans une population de bovins de toute catégorie d'âge, dépourvue de défenses immunitaires. La morbidité est proche de 100% et la mortalité est supérieure à 80%. La faible séroprévalence à *T. parva* est due probablement à une faible abondance des tiques infectées. Les épizooties peuvent se développer lors d'introduction du parasite dans une région indemne (Uilenberg, 1999) comme lors des vaccinations à grande échelle utilisant la technique de l'infection et du traitement à base du vaccin « Muguga cocktail » (Geysen *et al.*, 1999). De Deken *et al.* (2007) ont rapporté une sévère épidémie de l'ECF qui a décimé la population bovine de 2003 à 2004 à la Grande Comore (la plus grande île de l'union des Comores) après une importation à partir de la Tanzanie de bovins vaccinés par le vaccin « Muguga Cocktail ».

Les épizooties deviennent enzooties dès lors que la morbidité et la mortalité se sont stabilisées. La différence entre épizootie et enzootie ne réside pas dans leurs prévalences respectives (qui peuvent être égales) mais dans la variation du nombre de cas cliniques : lors d'épizooties, on observe une augmentation du nombre de malades, alors que celui-ci est constant lors d'enzootie (Norval *et al.*, 1992). L'enzootie selon Norval *et al.* (1992) est un état par lequel une faible proportion (le plus souvent < 70%) de la population bovine est infectée et immunisée à l'âge de 6 mois. La morbidité et la mortalité sont élevées.

La stabilité enzootique, quant à elle, intègre l'immunité élevée qui réduit sensiblement la morbidité et la mortalité malgré une présence continue du parasite dans le troupeau. Seuls les jeunes et les animaux importés sont à risques au plan clinique (Gilioli *et al.*, 2009).

Basé sur les différents équilibres observés dans la dynamique de transmission de *T. parva* et la fréquence de la maladie, Billiouw (2005) a redéfini quatre états épidémiologiques de l'ECF incluant : (1) une épizootie, lorsque l'âge au premier contact avec l'infection est inférieur à 2 ans et le taux de mortalité (100%) diminue sensiblement tandis que la prévalence de l'infection augmente, (2) une enzootie stable de premier degré où l'âge au premier contact est inférieur à 2 ans, le taux de mortalité est d'environ 50% et la prévalence de l'infection est stable, (3) une enzootie stable de deuxième degré, lorsque l'âge au premier contact est inférieur à 2 ans et le taux de mortalité est plus proche de 25% alors que la prévalence de l'infection est constante et (4) un état final d'enzootie stable, lorsque l'âge au premier contact est inférieur à 6 mois, le taux de mortalité est proche de 0% et la prévalence de l'infection est stable.

Dans cette classification, l'état d'enzootie instable de l'ECF, précédemment défini par Norval *et al.* (1992) et Marcotty (2003) n'apparaît pas. En effet, l'auteur a rapporté que l'instabilité endémique est un état artificiel induit par la restriction des contacts entre vecteurs (tiques infectées) et bovins en utilisant des produits acaricides à une fréquence élevée. Ce qui a été confirmé dans d'autres études (Mugabi *et al.*, 2010 ; Phiri *et al.*, 2010). La situation peut se produire aussi lorsque les conditions environnementales sont défavorables pour la survie et l'abondance des tiques (Gachohi *et al.*, 2011) comme lors des prolongements inhabituels de la saison sèche. Elle est considérée comme instable puisqu'il existe un potentiel élevé de transmission de l'infection lors de la rupture du contrôle des tiques ou dès que les conditions climatiques et écologiques deviennent favorables à l'activité des tiques

2.5.3.2. Détermination des différents états épidémiologiques de l'East Coast fever

Les états épidémiologiques de l'ECF sont facilement déterminés par l'évaluation de trois critères : (i) la prévalence des tiques vectrices sur les animaux et leur pâtures, (ii) la séroprévalence et/ou séroconversion à *T. parva* et (iii) l'incidence des cas cliniques.

Dans de nombreuses régions d'Afrique, la détermination des états épidémiologiques de l'ECF est basée sur la combinaison des deux dernières données (Norval *et al.*, 1992 ; Perry, 1996).

Cependant, l'abondance des tiques infectées constitue également un indicateur important puisqu'elle fournit des précisions sur l'intensité de transmission de *T. parva* (Kariuki *et al.*, 1995, Perry, 1996 ; Watt *et al.*, 1997). Les tiques récoltées sur les animaux présentent

généralement un taux d'infection plus élevé que celles récoltées dans la pâture. Leitch et Young (1981) ont rapporté que dans les zones endémiques à l'ECF, 1 à 2% des tiques adultes récoltées sur la végétation sont infectées par *T. parva*. Cependant, le taux d'infection des tiques dans les pâtures peut varier de 0 à 25% (Gitau *et al.*, 2000). Des proportions de tiques infectées de l'ordre de 2,6% et 4,1% ont été rapporté respectivement en Tanzanie (Ogden *et al.*, 2003 ; Swai *et al.*, 2006) et en Zambie (Konnai *et al.*, 2006).

La parasitémie chez les bovins est le principal facteur qui influence l'infection des tiques par *T. parva* (Medly *et al.*, 1993). Young *et al.* (1996) ont rapporté que l'augmentation de 5 à 60% de la parasitémie conduit à une élévation de la prévalence de l'infection des tiques de 50 à 73% et une plus grande proportion d'acini salivaires infectés (de l'ordre de 30 à 109 acini infectés / tique). Le faible taux d'infection par *T. parva* au sein des tiques survient dans des régions endémiques où la plupart des tiques infectées acquièrent l'infection sur des bovins infectés sub-cliniques (Swai *et al.*, 2006).

Il est à noter que les différents systèmes d'élevage des animaux peuvent avoir un impact sur l'abondance de tiques et la séroprévalence à *T. parva* (Chenyambuga *et al.*, 2010 ; Gachohi *et al.*, 2011). Des études réalisées au Kenya (Deem *et al.*, 1993 ; Gitau *et al.*, 2000 ; Maloo *et al.*, 2001), en Ouganda (Rubaine-Akiiki *et al.*, 2004 ; Rubaire-Akiiki *et al.*, 2006) et au Rwanda (Nshimiyimana et Mutandwa, 2010) ont rapporté des infestations élevées à tiques et des taux élevés de séropositivité à *T. parva* chez les bovins nourris sur parcours libre et aux piquets par rapport aux bovins élevés sur des pâtures artificielles et en stabulation. Les modes de contrôle des tiques peuvent aussi influencer la séropositivité à *T. parva* chez les animaux.

Cependant, les données adéquates sur l'incidence des cas cliniques d'ECF sont difficiles à obtenir à cause de la saisonnalité de l'infection à *T. parva* (Norval *et al.*, 1992). En outre, les réactions cliniques de l'ECF sont les plus souvent de courte durée, ce qui nécessite un suivi des animaux pour enregistrer des données cliniques. Des études ont rapporté un manque de corrélation entre la séroprévalence à *T. parva* et l'incidence des cas cliniques d'ECF (Gitau *et al.*, 2000 ; Rubaire-Akiiki *et al.*, 2006). La séropositivité à *T. parva* n'est donc pas un indicateur suffisant dans la prédiction des cas cliniques et la détermination des états épidémiologiques de l'ECF.

Une bonne compréhension du degré de contact entre les tiques infectées et les bovins permettrait donc de définir les zones de stabilité ou d'instabilité endémique de l'infection à *T.*

parva. Les études transversales manquent en général de précision à cause de la durée très courte des réactions cliniques et de l'évolution saisonnière de l'incidence parasitaire. De plus, cette dernière ainsi que l'activité des tiques dépendent beaucoup des variations climatiques du milieu, modifiant largement le profil de l'incidence de la maladie. Les études longitudinales sont en général riches en information de qualité, mais s'avèrent laborieuses et très coûteuses.

2.5.4. Contrôle de l'East Coast fever

Le choix de la méthode de contrôle de l'ECF dépend du système de production animale, de la prévalence des maladies à tiques dans leur ensemble et de l'état épidémiologique de l'ECF dans la région concernée (Uilenberg, 1996 ; Billiouw, 2005). La forme clinique de l'ECF, comme dans d'autres maladies transmises par les tiques, peut être traitée par chimiothérapie. La prévention de la maladie se fait par le contrôle des tiques et par l'immunisation des bovins susceptibles.

2.5.4.1. Méthodes curatives

Parmi de nombreuses molécules à propriétés theiléricides, trois médicaments sont réputés efficaces contre l'ECF : Halofuginone (Terit®, Sténorol®), Parvaquone (Clexon®, Parvaxone®) et Buparvaquone (Butalex®) (Dolan, 1981 ; 1986). Leur effet curatif est meilleur lorsqu'ils sont administrés au début de la maladie. L'halofuginone, le premier médicament à être utilisé, est un schizonticide puissant contre *T. parva*, mais possède une activité réduite sur les piroplasmés (Uilenberg *et al.*, 1980). Il est administré par voie orale à la dose de 1-2 mg/kg de poids vif à 48 heures d'intervalle. Sa toxicité élevée (à partir de 3 à 4 mg/kg de poids vif) et la longue période d'attente pour la consommation du lait et de la viande ont limité son utilisation dans beaucoup de pays.

Plus récemment, les dérivés de la naphtoquinone (la Parvaquone et la Buparvaquone) ont été développés. Ces composés sont caractérisés par une faible toxicité et une efficacité élevée contre les schizontes et les sporozoïtes de *T. parva* (Mbwambo *et al.*, 2002 ; 2006 ; Muraguri *et al.*, 2006). La Parvaquone exige 2 injections à la dose de 10 mg/kg de poids vif en intramusculaire (IM) à 48 heures d'intervalle. La Buparvaquone est recommandée dans des cas avancés de la maladie à la dose unique de 2,5 mg/kg de poids vif en IM. Cependant, une seconde injection est exigée après 48 heures étant donné que la plupart de souches de *T. parva* ne sont pas contrôlées par l'usage d'une dose unique (McHardy et Wekesa, 1989). La

Buparvaquone est 80-90 fois plus efficace que la Parvaquone, mais elle est 5 fois plus chère (McHardy *et al.*, 1985).

La réussite dans le traitement des cas cliniques d'ECF dépend de la disponibilité des médicaments appropriés par l'éleveur. Dans les régions endémiques, des difficultés résident le plus souvent dans le coût élevé du traitement de la maladie (jusqu'à plus de \$US 10-20 /animal) pour la plupart des fermiers africains qui ne sont pas subsidiés (Mutugi *et al.*, 1988 ; Young *et al.*, 1988). En outre, l'insuffisance du diagnostic précoce de la maladie et l'insuffisance de l'administration plus rapide (au début de la maladie) des médicaments de bonne qualité à des doses suffisantes sont des contraintes qui expliquent des échecs dans le traitement des cas cliniques (Norval *et al.*, 1992).

Le service vétérinaire public ou privé doit alors être outillé par la mise en place de laboratoires de diagnostic spécifique et de programmes de formation des techniciens. Il est à souligner aussi que la chimiothérapie ne rompt pas le cycle de *T. parva* (Dolan, 1999). Elle augmente par contre le nombre de bovins porteurs sains qui peuvent infecter les vecteurs.

2.5.4.2. Contrôle du vecteur

Le contrôle des tiques inclut l'utilisation d'acaricides (Anon, 1984 ; Morel, 2000), de répulsifs (Mwangi *et al.*, 1995), de phéromones (Norval *et al.*, 1996), de prédateurs (Mwangi *et al.*, 1991) ou de vaccins anti-tiques (De La Fuente *et al.*, 2000). La méthode la plus efficace et la plus utilisée sur le terrain est l'emploi d'acaricides par aspersion ou balnéation (Perry et Randolph, 1999) (**Figure 1.9**). La technique d'aspersion est adaptée à des effectifs très réduits (moins de 50 têtes) (Morel, 2000). En outre, l'efficacité de cette technique dépend de l'opérateur et certaines régions anatomiques cachées comme la partie interne des oreilles et la région inguinale sont le plus souvent omises. Par contre, la technique de balnéation est très coûteuse par ses infrastructures (construction du bain, approvisionnement en grande quantité d'eau), mais elle est adaptée à des effectifs très élevés (plus de 1500 bovins).

Les acaricides modernes, en particulier les pyréthrinoïdes tels que la fluméthrine et la perméthrine, sont peu toxiques chez les animaux et peuvent donc être appliqués régulièrement. L'objectif étant d'empêcher la tique de se nourrir pendant plus de 3 jours, période nécessaire à la maturation des sporozoïtes de *T. parva*.



Figure 1.9 : Illustration des modes de contrôle des tiques par aspersion (A) ou baignation (B) (source : <http://dico-sciences-animales.cirad.fr/photos/patho/AspersionMaillard.jpg&imgrefurl>)

Cependant, le traitement des animaux par les acaricides est peu fiable et peu durable. La rupture dans le rythme de contrôle des tiques entraîne une grande sensibilité à la maladie et les mortalités peuvent survenir (Medley *et al*, 1993). La rareté et le coût élevé des produits acaricides de bonne qualité sur les marchés vétérinaires locaux, les manipulations régulières

par aspersion ou balnéation rendent aussi la méthode très coûteuse (De Castro, 1997). L'utilisation des boucles d'oreilles imprégnées d'insecticide ou de pour-on sont des alternatives qui semblent efficaces mais qui restent coûteuses (Young *et al.*, 1985).

Les lactones macrocycliques comme les avermectines (ivermectine et doramectine) et les milbémycines (moxidectine) peuvent être utilisés dans le contrôle des tiques et sont administrés par voie parentérale ou en sous-cutanée. Comparées aux applications externes très laborieuses, les lactones macrocycliques offrent l'avantage d'être moins pénibles pour l'opérateur et de ne nécessiter que très peu de main d'œuvre et de matériel. En outre, ces méthodes sont moins stressantes pour les animaux et moins toxiques pour l'opérateur (pas d'inhalation du produit). Cependant, ces acaricides injectables possèdent une efficacité très faible sur une tique à trois hôtes comme *R. appendiculatus* (Pegram et Lemche, 1985 ; Soll *et al.*, 1989 ; 1990). En effet, après l'injection chez les bovins, le produit est ingéré par les tiques lors de leur repas sanguin. Mais toutes les tiques qui se détachent du bovin traités ne meurent pas forcément, la plupart de produits interfèrent surtout sur la reproduction (diminution du taux de ponte et de l'éclosion, perturbation de la mue chez les larves). Les effets dépendent de l'état d'engorgement de la tique : une tique fortement gorgée est beaucoup plus exposée qu'une tique semi-gorgée car elle a prélevé une grande quantité du produit. Ces acaricides sont plutôt efficaces pour une tique à un hôte comme *R. microplus* (Morel, 2000). Gonzales *et al.* (1993) ont rapporté une efficacité très élevée de la Doramectine sur la tique *R. microplus*. Ces auteurs ont constaté une réduction progressive du nombre de tiques femelles gorgées de 51% un jour après le traitement, 96% trois jours après et 100% au bout de 8 jours.

Les formulations destinées à être appliquées sous forme « pour-on » offrent les mêmes avantages que les lactones macrocycliques par leur facilité d'application. Ils ont été intensivement utilisés surtout dans les zones endémiques en Glossines (Morel, 2000) et permettent donc de contrôler à la fois les tiques et les mouches.

En fonction de la fréquence d'application (1-2 fois par semaine), le coût annuel des produits acaricides est estimé à \$US 2 à 36 par animal (D'Haese *et al.*, 1999 ; Minjauw et McLeod, 2003). Les produits acaricides posent également des problèmes de résidus, aussi bien chez l'animal et ses produits dérivés que dans l'environnement et certaines tiques ont développé des résistances face à certains acaricides (Mbogo *et al.*, 1996 ; Yilma *et al.*, 2001).

La vaccination contre les tiques constituerait une contribution majeure puisqu'elle limiterait l'écotoxicité (De La Fuente et Kocan, 2006; Willadsen, 2006). En outre, comme lors de l'utilisation de produits sous forme injectable, le vaccin anti-tique ne nécessite pas des installations ou des appareillages coûteux et préserve l'opérateur. Néanmoins, leur activité se limite aux tiques à un hôte (De La Fuente *et al.*, 2000). La production de vaccins anti-tiques est basée sur la notion d'antigènes cachés c'est-à-dire des antigènes qui ne sont pas exposés au système immunitaire des bovins lors de la prise du repas sanguin. Il s'agit essentiellement d'antigènes cryptiques localisés au niveau de l'intestin de l'acarien. Mais les vaccins préparés à partir des organes de la tique comme les glandes salivaires et l'intestin constituent un risque de transmission d'agents pathogènes. Ils n'ont pas été suffisamment exploités (Morel, 2000).

Les vaccins anti-tiques disponibles sur le marché utilisent des protéines recombinantes. Les spécialités commerciales sont les vaccins Gavac et TickGARD contenant un recombinant antigénique de *R. microplus* dénommé Bm86 (Rodríguez *et al.* 1994; De la Fuente et Kocan 2003; De la Fuente *et al.* 2007). Ces vaccins contrôlent efficacement les infestations par *R. microplus*, *R. annulatus* et *R. decoloratus*. Ils réduisent le nombre de tiques femelles engorgées, leur poids et la capacité de reproduction. Des études ont rapporté que la vaccination contre les tiques réduit sensiblement l'utilisation intensive d'acaricides et diminue alors le coût global du contrôle des maladies comme la babésiose et l'anaplasmose, tout en préservant la contamination de l'environnement et la résistance des tiques contre les acaricides les plus utilisés (De la Fuente *et al.* 1998, 2007; De la Fuente et Kocan, 2003). En outre, la vaccination contre les tiques peut aussi prévenir ou réduire la transmission des pathogènes par une diminution des populations des tiques et de leur capacité vectorielle (De la Fuente *et al.* 1998, 2007). Cependant, les coûts de production de ce vaccin et de son utilisation doivent être bien évalués dans des études à impact socio-économique. Ces dernières contraintes expliquent sans doute le retrait du vaccin TickGARD malgré sa bonne activité.

Tous ces facteurs suggèrent que dans certaines régions, l'utilisation de produits dérivés des plantes comme méthode alternative pourrait constituer une option (Baert *et al.*, 1996 ; Byavu *et al.*, 2000). Cependant, des recherches expérimentales doivent encore être menées pour valider l'efficacité des approches phytothérapeutiques.

2.5.4.3. *Immunisation des animaux*

Les contraintes liées à la chimiothérapie et à l'utilisation intensive d'acaricides ont incité à rechercher une méthode plus efficace pour le contrôle de l'ECF (Pegram *et al.*, 1996). La « vaccination » des bovins par inoculation simultanée de sporozoïtes vivants de *T. parva* et d'oxytétracycline longue durée d'action est utilisée avec satisfaction dans de nombreux pays affectés par l'ECF (Mutugi *et al.*, 1988 ; Musisi *et al.*, 1989). La formulation la plus utilisée est le vaccin dénommé « Muguga Cocktail » qui a été développé par Radley et ses collaborateurs en 1975 (McKeever, 2007). Ce vaccin trivalent, composé des stocks de parasite : Muguga, Kiambu 5 et Serengeti-transformé (une souche dérivée de buffle) a été utilisé d'une manière intensive en Afrique orientale, centrale et du sud pour protéger les animaux contre l'ECF. Le principal problème épidémiologique dans l'immunisation contre *T. parva* utilisant le vaccin Cocktail réside dans l'existence de souches différentes contre lesquelles les souches qui sont incluses dans le vaccin ne donnent pas une immunité croisée (Radley *et al.*, 1975 ; Bishop *et al.*, 1994).

Cependant, des études sur la caractérisation moléculaire de ces parasites ont montré que les stocks Muguga et Serengeti-transformé sont fortement liés et sont très distincts du stock Kiambu 5 qui, persiste longtemps chez les animaux vaccinés et induit un état de portage asymptomatique (Bishop *et al.*, 2001 ; Oura *et al.*, 2004). Par ailleurs, des allèles de cette souche peuvent être incorporés dans le pool génétique des parasites locaux de la zone concernée (Oura *et al.*, 2004 ; 2007) et peuvent se transmettre par l'intermédiaire des tiques vectrices des animaux vaccinés aux animaux non vaccinés (McKeever, 2007). L'examen du sang prélevé sur des animaux vaccinés a révélé des infections patentes, avec un à trois génotypes distincts (Oura *et al.*, 2007). L'utilisation du vaccin Muguga Cocktail est donc limitée par sa complexité génotypique (Marcotty *et al.*, 2001) capable d'induire des infections aiguës multiples chez les animaux. Cependant, l'impact épidémiologique peut être considéré comme faible puisque la virulence des parasites inclus dans ce vaccin peut être atténuée lors de la recombinaison sexuelle avec les souches locales co-ingérées dans les tiques vectrices. Le passage du parasite des animaux aux tiques peut mener à des changements substantiels des populations de parasites dans les stablats qui en résulte (Katzner *et al.*, 2006 ; 2010). A ce sujet, des marqueurs satellites ont fourni des indications sur la relation génétique entre les populations de *T. parva* et leur dynamique ainsi que des sous-structurations des isolats rencontrés dans certaines zones endémiques (Oura *et al.*, 2005 ; Odongo *et al.*, 2006). Ils ont

été aussi utilisés pour élucider l'impact de la sélection immunitaire sur le parasite (Katzner *et al.*, 2007) et les risques associés à la méthode d'infection et traitement (Oura *et al.*, 2004 ; 2007).

Malgré ces contraintes, l'application de la méthode d'infection et traitement semble être durable et compatible avec le respect de l'environnement (Mukhebi *et al.*, 1995). Elle est profitable car elle permet une augmentation du rendement des animaux d'environ 56% (Mukhebi *et al.*, 1989), avec une réduction de 40-68% du coût du contrôle de l'ECF par la diminution jusqu'à 75% de la fréquence d'utilisation d'acaricides (Kivaria *et al.*, 2007). En fonction du pays et du programme mis en place dans le contrôle de l'ECF, le coût de l'immunisation est estimé à \$US 1,50 – 20,00 par bovin (Mukhebi *et al.* 1990) : \$US 0,01 – 0,90 étant le coût de production d'une dose du vaccin et le reste est alloué à sa livraison. C'est la maîtrise de la chaîne du froid combinée avec le suivi des animaux vaccinés qui augmentent le coût de la vaccination (Muraguri *et al.*, 1998 ; Marcotty *et al.*, 2001 ; 2003).

Afin d'améliorer la couverture vaccinale, l'immunisation contre l'ECF est réalisée par les techniciens vétérinaires privés dans certaines régions endémiques comme la Zambie (Marcotty *et al.*, 2008). Cela rend moins coûteux et plus flexible le système de distribution du vaccin. La disponibilité d'un nombre élevé de professionnels et leur compétition pour les prestations dans une région donnée incitent l'éleveur à opérer un choix en fonction du prix, de la confiance et de la réputation du technicien. Cette stratégie permettrait aussi de réattribuer un rôle des techniciens vétérinaires privés en tant que « *sentinelles sanitaires* » au niveau de la chaîne de surveillance des maladies. Mais, il est imprudent d'utiliser le vaccin Cocktail d'une manière aveugle dans les régions endémiques de l'ECF (Radley *et al.*, 1979) puisque les pratiques d'élevage des bovins changent dans la plupart des pays concernés vu la tendance actuelle à produire de plus en plus. La meilleure approche consisterait à évaluer l'immunité croisée entre les isolats locaux et le Cocktail (Geysen, 2008). Ceci empêcherait l'installation possible de l'une des composantes du Cocktail. L'usage massif de la tétracycline serait de nature à développer chez les animaux des résistances bactériennes. La méthode d'infection et traitement constitue aussi un risque accru d'inoculation chez les animaux d'autres agents pathogènes transmis par les tiques puisque les stabilats de sporozoïtes de *T. parva* sont produits à partir des extraits des tiques infectées. Cela impose un contrôle de qualité très strict au niveau des procédures. Des risques plus élevés de morbidité et de mortalité par l'anaplasmose ont été rapportés chez les bovins immunisés contre *T. parva* par la méthode d'infection et traitement par rapport aux animaux non immunisés (Kivaria *et al.* 2007).

Lors d'immunisation contre *T. parva* par infection et traitement, la tétracycline longue durée d'action (20 mg/kg poids vif), contrôle l'infection en ralentissant la schizogonie et ceci permet à l'organisme de développer une réaction immune spécifique. Cela confirme la nécessité du choix des stocks locaux de *T. parva* dans l'immunisation afin d'éviter l'introduction dans la région de nouvelles souches (Uilenberg, 1999). Il convient aussi de s'assurer que le stock utilisé protège les animaux immunisés contre toutes les souches rencontrées dans la région concernée. Geysen *et al.* (1999) ont rapporté la présence au Sud de la Zambie des *T. parva* ayant un génotype différent de celui des parasites locaux. Ces nouveaux parasites, responsables de plusieurs cas cliniques, ont été probablement introduits dans la région pendant les campagnes de vaccination contre l'ECF qui ont été conduites à grande échelle en Zambie, Tanzanie et en Ouganda utilisant des souches différentes des souches locales. La combinaison des stocks de *T. parva* peut avoir provoqué des variations antigéniques et des résultats épidémiologiques imprévisibles sur le terrain. Cependant à l'Est de la Zambie, la souche locale, le stock Katete est utilisé depuis 1987 pour l'immunisation des animaux, sans qu'aucun échec retentissant n'ait jamais été observé (Marcotty *et al.*, 2002).

Plusieurs études se sont focalisées sur l'analyse de la réaction immune à *T. parva* dans l'objectif de définir la nature et la spécificité antigénique des réponses qui confèrent la protection contre l'ECF afin d'identifier des antigènes potentiellement protecteurs. Ces informations ont montré que l'immunité contre *T. parva* peut s'opérer à deux niveaux : le blocage de l'infection par les anticorps spécifiques dirigés contre l'antigène de surface du sporozoïte (Musoke *et al.*, 1982 ; 1984) et la destruction des lymphocytes parasités par les cellules cytotoxiques T CD8⁺ en association avec le complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (MHC-I) (Goddeeris *et al.*, 1990 ; Graham *et al.*, 2008). En effet, les animaux des zones endémiques à l'ECF répondent normalement à l'infection à *T. parva* par une augmentation de la réponse humorale qui diminue après la disparition des signes cliniques. Le sérum de bovins immuns contient des anticorps contre tous les stades du parasite *T. parva* (Burrige et Kimber, 1972). La réponse la plus importante est celle dirigée contre les antigènes de surface du sporozoïte (Musoke *et al.*, 1982). Ces anticorps semblent reconnaître de nombreux isolats de *T. parva* et peuvent être mis en corrélation avec une certaine protection (Musoke *et al.*, 1984).

Des études *in vitro* ont montré que les protéines d'un poids moléculaire de 67-KDA (p67) et une molécule immunodominante polymorphe (*polymorphic immunodominant molecule*, PIM) étaient des antigènes majeurs neutralisant les sporozoïtes de *T. parva* (Toye *et al.*, 1991 ; Nene *et al.*, 1992). Lors d'un essai portant sur un nombre très réduit d'animaux, Musoke *et al.*

(1992) ont rapporté une protection de 70% suite à l'utilisation du vaccin p67 (un antigène recombinant à base de la protéine de 67-KDA produite dans *Escherichia coli*). Néanmoins, une étude ultérieure (Musoke *et al.*, 2005) portant sur un effectif nettement plus élevé a généré un niveau de protection plus faible (47 à 52 %). Ces dernières données indiquent donc que le vaccin p67 ne constitue pas une alternative à la méthode d'infection et traitement

Les données expérimentales indiquent que les mécanismes immunitaires de protection durable contre *T. parva* sont de nature cellulaire, orientés contre les lymphocytes infectés par les schizontes (McKeever *et al.*, 1994 ; 1999 ; 2001). Les animaux vaccinés par infection et traitement produisent peu ou pas d'anticorps contre les sporozoïtes (Musoke *et al.*, 2005). Par contre, les principaux effecteurs de l'immunité cellulaire mise en jeu sont les lymphocytes cytotoxiques (CTL) dirigés contre les lymphocytes infectés par les schizontes de *T. parva* (Morrison *et al.*, 1987 ; McKeever *et al.*, 1999 ; Morrison et McKeever, 2006). Les CTLs ont été observés dans le sang d'animaux infectés en voie de guérison (Eugui et Emery, 1981). En outre, le transfert des lymphocytes ou de cellules T CD8⁺ d'animaux immuns à d'autres animaux susceptibles rend ces derniers immuns (Emery, 1981 ; McKeever *et al.*, 1994). Cependant, cette immunité est étroitement concentrée sur quelques combinaisons d'épitopes peptidiques immunodominants du MHC (Morrison *et al.*, 1995 ; Graham *et al.*, 2006).

Une certaine hétérogénéité, très limitée toutefois, s'observe chez la plupart de souches de *T. parva* issues de régions différentes (Mutugi *et al.*, 1990a; 1990b). Des profils similaires observés entre les souches de *T. parva* Muguga de l'Ouganda et Mariakani du Kenya, suggèrent qu'elles pourraient être liées (Chen *et al.*, 1991). Il est également connu que certains stocks de *T. parva* comme la souche Marikebuni protège contre une large gamme de parasites homologues et hétérologues, incluant *T. parva* Muguga, alors que ce dernier ne protège pas toujours contre les parasites hétérologues (Irvin *et al.*, 1983). Il peut être envisagé que le stock qui confère une protection plus large contient une plus grande variété de génotypes. Cependant, cela semble contredire les données des essais d'immunité croisée dans lesquelles les stocks issus d'une zone à situation relativement homogène, précédemment définie par Bishop *et al.* (1994), ont donné une protection plus large que prévu malgré une complexité assez faible au niveau du génotype. L'immunité solide engendrée par les infections naturelles de *T. parva* dans les différents environnements épidémiologiques suggère la présence de très peu des souches différentes dans certaines zones.

Une compréhension plus claire de l'hétérogénéité de *T. parva* qui existe dans une région pourrait optimiser le programme local de vaccination contre l'ECF.

Introduction générale

Partie 3

Aperçu sur l'East Coast fever et ses méthodes de contrôle dans la Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo



Les conflits armés au Nord-Kivu entraînent des déplacements d'une zone à l'autre de la population humaine et des bovins avec comme conséquence la dissémination des tiques.

3.1. Contexte de l'étude

La Province du Nord-Kivu est confrontée à des conflits armés qui ont coûté des milliers de vies humaines, affaibli considérablement les administrations et détruit les infrastructures institutionnelles, sociales et économiques (Kabamba et Malumalu, 2010). Le secteur de l'élevage en particulier, a connu une forte régression par la diminution des effectifs des animaux suite à des pillages systématiques organisés par des groupes armés et à des mortalités élevées des animaux liées à l'émergence des maladies endémiques comme l'East Coast fever (ECF), l'anaplasmose et la trypanosomose.

L'importance de l'ECF en particulier, doit être considérée en fonction du changement dans le secteur agricole du Nord-Kivu, vu la tendance actuelle à produire de plus en plus. La demande de terre arable est devenue très élevée et des conflits dans l'acquisition des terres surgissent entre les fermiers et les paysans agriculteurs (Tawite *et al.*, 1993). Ainsi, la notion de rentabilité de l'élevage des bovins remplace progressivement la notion de « nombre élevé d'animaux » pour la plupart des éleveurs (Kasonia, 1998). Ce processus a comme conséquence un décalage de la pratique de l'élevage traditionnel et extensif au profit d'un système semi-intensif utilisant des animaux de génotype plus productifs, qui sont malheureusement très sensibles à l'ECF. L'amélioration des animaux se fait dans des troupeaux dénommés « *élevages pilotes* » par insémination artificielle des vaches indigènes (Ankole ou Zébu) avec la semence de bovins de races européennes. Les mâles issus des croisements sont utilisés dans les saillies des vaches dans la plupart de troupeaux de la région. Cependant, l'incidence de l'ECF au Nord-Kivu et les pertes économiques liées à la maladie chez les bovins croisés n'ont jamais été évaluées. La connaissance de la situation épidémiologique de l'ECF et la formulation de mesures de contrôle constituent donc des étapes primordiales pour la réussite du programme d'amélioration du bétail dans la région.

3.2. East Coast fever au Nord-Kivu

Il est pratiquement difficile de retracer l'historique de l'ECF à travers des siècles chez des bovins indigènes de la Province du Nord-Kivu. La première description de la forme endémique de l'ECF en Afrique centrale et orientale a été faite en Ouganda par Bruce *et al.* (1910). Ces auteurs ont décrit une maladie meurtrière chez des veaux, dénommée « KEBE »

ou « AMAKEBE », c'est-à-dire une maladie qui se caractérise par un gonflement des ganglions lymphatiques, en particulier ceux de la région de l'oreille et de l'épaule, ce qui a été reconnu en Ouganda depuis des générations (Mettam et Carmichael, 1936). La mortalité chez les veaux est estimée à 20-30%. Cependant, la maladie est plus grave durant la saison des pluies et la mortalité peut être supérieure à 75%. Des observations cliniques similaires ont été rapportées dans d'autres Pays de l'Afrique orientale comme le Rwanda, la Tanzanie, le Kenya (Mettam et Carmichael, 1936) et le Congo-Belge (De Greef, 1919 ; Van Saceghem, 1925).

La présence de l'infection à *T. parva* à l'Est de la RDC, dans l'ancienne région du Kivu et dans les régions du Ruanda-Urundi (actuelles Rwanda-Burundi) a été confirmée à l'époque coloniale vers les années 1925 par les vétérinaires belges et allemands (Van Saceghem, 1925). L'ECF était considéré depuis cette époque coloniale comme le principal fléau pour le développement de l'élevage bovin dans toute la région de l'Est de la RDC (Schoenaers, 1951). Des contacts entre les bovins locaux et ceux importés des pays voisins comme le Rwanda, l'Ouganda et la Tanzanie ont été incriminés comme source de l'infection à *T. parva* (Schwetz, 1935). Cependant, l'importation de grandes quantités de la plante fourragère, *Pennisetum clandestinum* communément appelée « Kikuyu Grass » à partir de la région de Kikuyu au Kenya (Mararo, 2001) peut avoir été aussi à l'origine de l'introduction de tiques infectées par *T. parva*.

A l'Est de la RDC et au Rwanda, la maladie est dénommée « IKIBAGARIRA » par le peuple pasteur Tutsi-Rwandais ou « A'MASENGA » par le peuple de la tribu des Banandes. Ces appellations font allusion au principal symptôme, le gonflement des ganglions parotidiens. La mise en pâture très précoce des veaux est incriminée comme facteur favorisant la maladie. Ainsi, une restriction de l'accès des veaux nouveau-nés à la pâture pendant plusieurs mois est une pratique strictement observée par la plupart d'éleveurs.

La présence et l'émergence de l'ECF dans la Province du Nord-Kivu est liée probablement à la combinaison de plusieurs facteurs, incluant :

(i) les caractéristiques physiques de la région dont les conditions climatiques (température et pluviométrie) et écologiques (végétation et faune sauvage) sont très favorables à l'activité élevée de la tique vectrice. Dans une étude sur la distribution des tiques, Lessard *et al.* (1990) ont rapporté la présence de *R. appendiculatus* à l'Est de la RDC.

(ii) les conditions socio-économiques déterminent le niveau très faible d'accessibilité aux produits acaricides de bonne qualité dans le contrôle des tiques et aux médicaments appropriés contre l'ECF pour la plupart des éleveurs. Une étude à caractère socio-économique a révélé que les éleveurs du Nord-Kivu non subsidiés sont incapables de se procurer des médicaments vétérinaires au prix réel sur le marché vétérinaire local (Mafikiri, 1998).

(iii) les systèmes d'élevage des bovins du Nord-Kivu indiquent un niveau très élevé d'exposition des animaux à l'infection à *T. parva* suite aux mouvements incontrôlés des animaux infestés par les tiques pendant la guerre ou pour des raisons de rotation des pâturages et de transfert des animaux à l'abattoir ou au marché pour bétail.

La description de ces différents facteurs est nécessaire pour une bonne présentation de l'ECF dans la Province du Nord-Kivu.

3.2.1. Caractéristiques physiques de la Province du Nord-Kivu

3.2.1.1. Localisation

D'une superficie de 59.631 km², soit 2,5% de l'étendue du territoire national, la Province du Nord-Kivu est située à l'Est de la République Démocratique du Congo (RDC) entre 0° 58' de latitude Nord et 2° 03' de latitude Sud et entre 27° 14' de longitude Ouest et 29° 58' de longitude Est (**Figure 1.10**). Elle est limitée à l'Est par l'Ouganda, au Sud-Est par le Rwanda, au Nord et à l'Ouest par la province Orientale, au Sud-Ouest par la Province du Maniema et au Sud par la province du Sud-Kivu. Elle est subdivisée en 6 territoires (Beni, Lubero, Rutshuru, Walikale, Masisi et Nyiragongo), 3 villes (BENI, BUTEMBO et GOMA), 17 collectivités, 97 groupements, 5 cités et environ 5.178 villages.

3.2.1.2. Différentes zones agro-écologiques

Le relief du Nord-Kivu est formé par des plaines, des plateaux et des chaînes de montagne. Sa topographie est subdivisée en trois zones agro-écologiques à climat équatorial (Kasay, 1988) : les zones de basse altitude (< 1000m) avec une température de 23-24°C, de moyenne altitude (1000-1850m) où on enregistre environ 17-19°C et de haute altitude (> 1850m), 11-15°C.

Certains sommets de montagnes sont plus élevés (> 3000 m) comme le mont Kyavirimu (3100 m) et le mont Ruwenzori (5109 m). Ce dernier domine le relief de l'Est de la RDC et se place au troisième rang parmi les plus hautes montagnes de l'Afrique, après le Kilimandjaro (6010 m) en Tanzanie et le mont Kenya (5200 m).

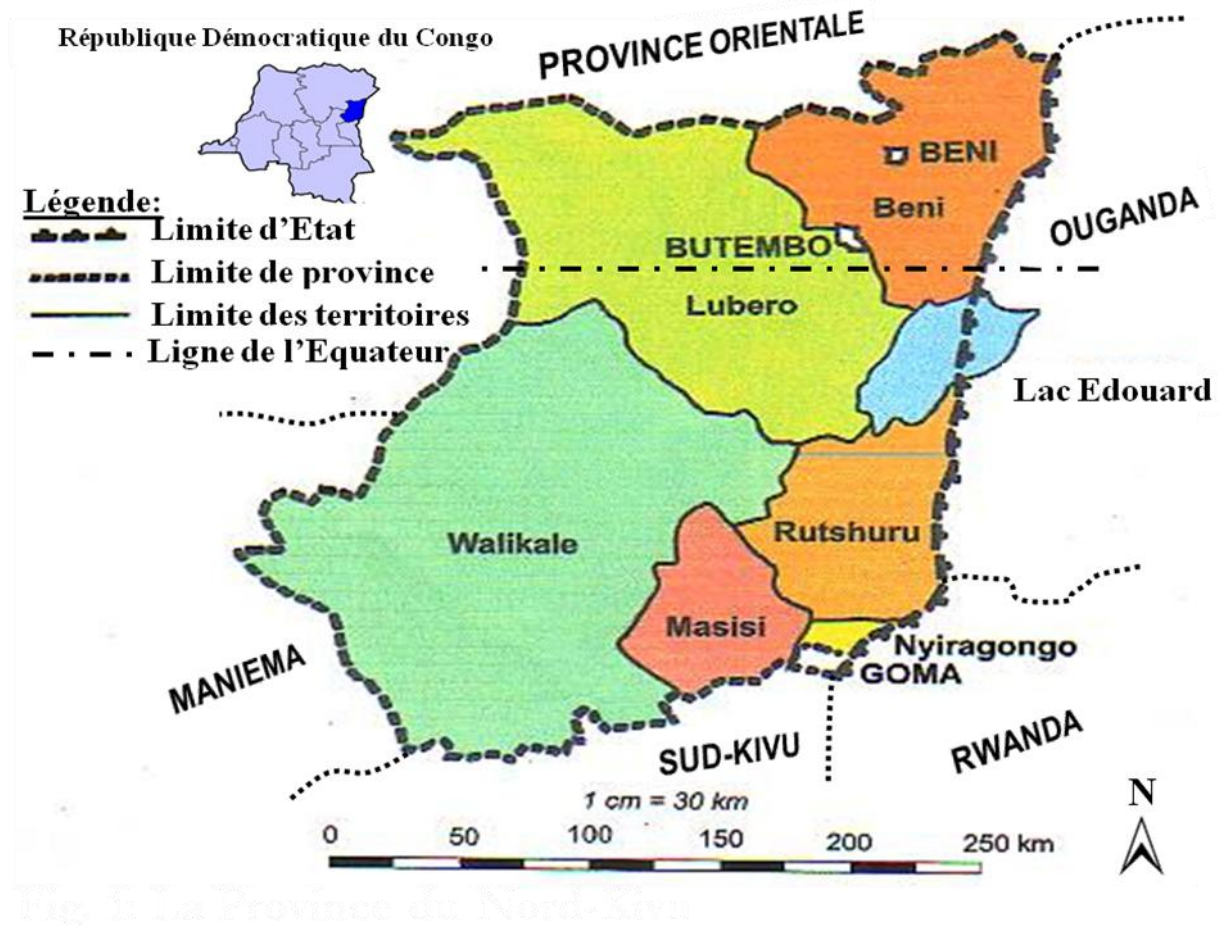


Figure 1.10 : Carte administrative du Nord-Kivu, montrant les limites de la Province, des territoires et des villes, adaptée de Kalombo (2005).

Le Nord-Kivu reçoit des pluies fréquentes et échelonnées sur toute l'année. On y observe principalement quatre saisons réparties de part et d'autre de la ligne de l'équateur en deux saisons sèches et deux saisons de pluies (**Tableau 1.4**). Cependant, on ne connaît pas en réalité une saison sèche caractérisée sur toute l'année. En 2010, la moyenne des températures mensuelles en territoire de Lubero était de 18,5°C avec des très faibles variations entre les saisons de pluies et sèches (**Figure 1.11**). Bien que les précipitations les plus faibles soient enregistrées sur une très courte période (en janvier et en juin), la moyenne des pluviométries

mensuelles était plus élevée dans des zones de latitude Nord (227,0 mm) que celles de latitude Sud (134,1 mm) (**Figure 1.12**). L'activité de la tique *R. appendiculatus* doit être considérée en fonction de cette différence de pluviométrie.

Tableau 1.4 : Les différentes saisons rencontrées dans la province du Nord-Kivu.

Saisons	Zone de latitude Nord	Zone de latitude Sud
Grande saison sèche	Janvier à mi-mars	Juillet à août
Petite saison de pluie	Mars à juillet	Septembre à décembre
Petite saison sèche	Août	Janvier
Grande saison de pluie	Septembre à décembre	Février à juin

Source : Ministère du Plan, Unité de pilotage du processus DSRP (Rapport, 2005).

3.2.1.3. Hydrologie et végétation

Dans les plaines du Nord-Kivu émerge un réseau hydrographique comprenant deux grands lacs (le lac Edouard et le lac Kivu) et de nombreuses rivières dont les principales sont : Semliki, Ishasha, Rutshuru, Rwindi, Biena, Osso et Lowa. Le lac Edouard possède une superficie de 2.150 Km² dont 520 km² sont situés du côté de l'Ouganda et 1.630 Km² du côté de la RDC. Ce lac est très poissonneux et constitue une source importante de revenus de la Province par la pêche. Les plaines alluviales de la Semliki et de la Rwindi–Rutshuru s'étendent du Nord au Sud du lac Edouard et contiennent plusieurs espèces de poissons d'eau douce. Par contre le lac Kivu est très peu poissonneux à cause de la présence des gaz carbonique et méthane. Il est le plus haut lac de l'Afrique centrale, situé à 1.460m d'altitude dans la fosse limitée par les chaînes des montagnes volcaniques de Virunga.

La végétation du Nord-Kivu est constituée principalement par la savane boisée du Graben localisée dans les plaines alluviales de la Semliki, les formations arbustives situées aux pieds du mont Nyiragongo sur les sols volcaniques et la grande forêt équatoriale qui s'étend des massifs de Ruwenzori jusqu'au parc national de Virunga sur les sols des roches anciennes (Kasay, 1988). Bien qu'une destruction importante résulte de la coupe intempestive du bois et le braconnage de certaines espèces animales rares, il existe des mammifères ongulés sauvages comme le buffle africain (*Syncerus caffer*), hôte réservoir de *R. appendiculatus*.

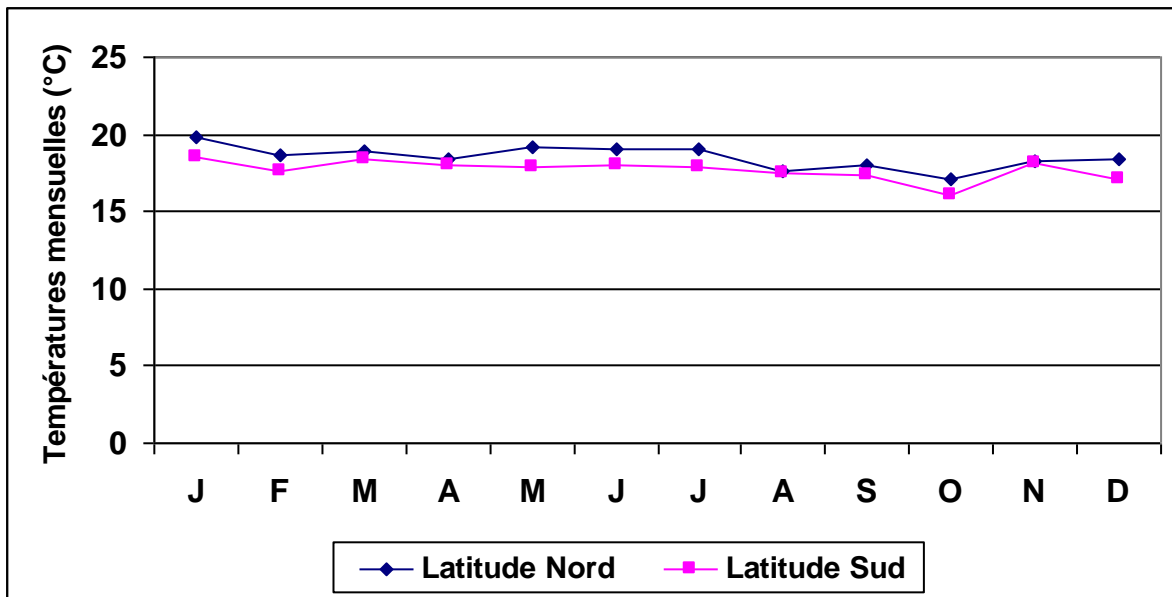


Figure 1.11 : Température moyenne mensuelle de l'année 2010 en territoire de Lubero. Source : stations météorologiques de l'Institut Technique Agricole et Vétérinaire (ITAV/Butembo, latitude Nord) et du Centre d'Adaptation et de Production des Semences Améliorées (CAPSA/Luotu, latitude Sud)

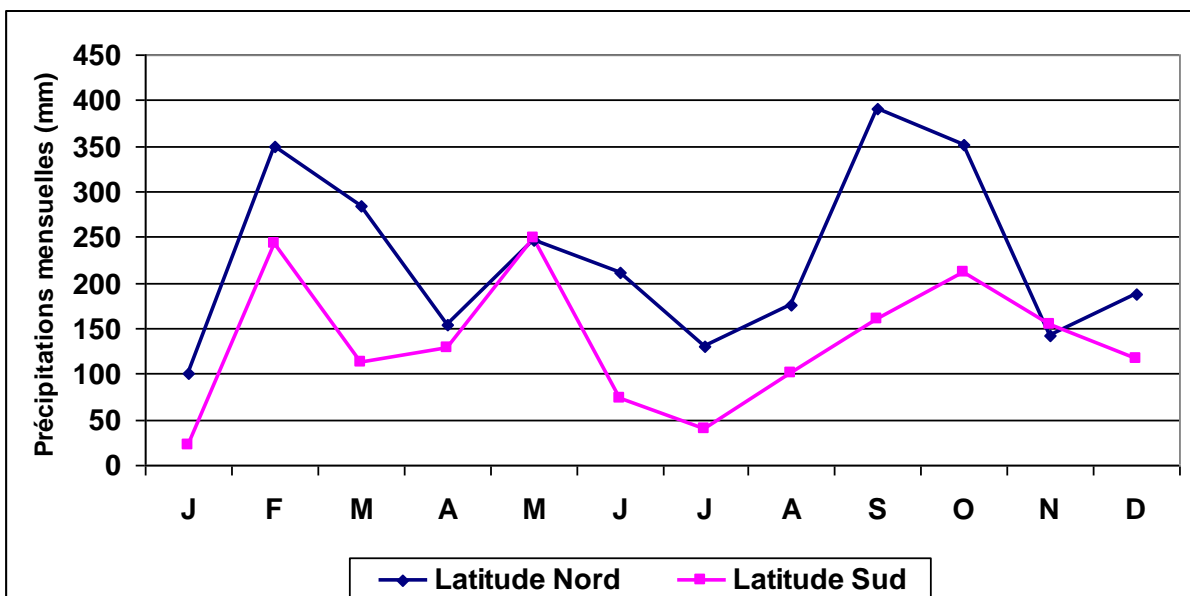


Figure 1.12 : Pluviométrie moyenne mensuelle au cours de l'année 2010 en territoire de Lubero. Source : stations météorologiques de l'Institut Technique Agricole et Vétérinaire (ITAV/Butembo, latitude Nord) et du Centre d'Adaptation et de Production des Semences Améliorées (CAPSA/Luotu, latitude Sud)

3.2.2. Conditions socio-économiques de la Province du Nord-Kivu

La Province du Nord-Kivu compte plus de 5,7 millions d'habitants (en 2009) avec une densité de plus de 80 habitants par km² et un taux de croissance d'environ 3,9% par an. Le profil général tracé par le Programme des Nations Unies pour le Développement (PNUD, 2010) en collaboration avec les autorités provinciales montre que le standard de vie et les indicateurs sociaux du Nord-Kivu sont en dessous du seuil de viabilité. On y rencontre un taux de malnutrition chronique de 45%, une accessibilité en eau potable de 17%, une couverture médicale d'un médecin pour 41.351 habitants (soit 4 fois inférieure à la norme proposée par l'OMS : 1 médecin par 10.000 habitants), un taux de prévalence du VIH/SIDA de 5,4% et un taux de scolarisation primaire de 34,1%. Le réseau routier est difficilement praticable et totalise environ 5.134 km, dont 829 km de routes nationales, 805 km de routes d'intérêt provincial et 3.500 km de routes de desserte agricole. Aucun réseau ferroviaire n'est présent, mais un aéroport international dont la longueur a été réduite par la coulée de boue volcanique est installé dans la ville de Goma (chef lieu de la Province).

L'insuffisance à l'accès aux services du secteur primaire est l'un des facteurs qui rendent plus critique la situation socio-économique du Nord-Kivu. Le climat et la végétation étant très favorables aux activités agro-pastorales, avec d'énormes réserves hydrologiques, forestières et minières, l'économie du Nord-Kivu devrait reposer sur le secteur primaire (agriculture, élevage, pêche, forêt et mines). Avant les différentes guerres (en 1996), ce secteur intervenait pour environ 49,7% dans le Produit Intérieur Brut (PIB) provincial, occupant plus de 80% de la population de la région (Mafikiri, 1998). Cependant, le déclenchement des conflits armés a occasionné une insécurité en milieu rural entraînant un ralentissement des activités agricoles. Le chômage a sensiblement augmenté jusqu'à un taux de plus de 6,1% (en 2005) chez la population rurale active avec un faible revenu moyen journalier par habitant (< 3,0 \$US) (OCHA, 2005). La population a de moins en moins accès aux biens essentiels et aux services de base comme l'eau potable, l'électricité, le transport et les soins médicaux.

Cependant, les prévisions du budget provincial de l'année 2012 ont fixé des objectifs stricts pour une croissance du PIB (**Tableau 1.5**), cela semble justifier que le Nord-Kivu qui, a souffert des conflits armés et de la crise financière mondiale, sortirait progressivement de cette situation difficile. Dans ces prévisions provinciales, on peut constater malheureusement que le secteur primaire restera toujours défavorisé avec des indices de production décroissants

et par conséquent, le cycle de la pauvreté ne sera pas rompu car le secteur primaire regroupe la majorité de la population provinciale active (plus de 80%). On notera par contre, une reprise progressive d'activités du secteur tertiaire qui assure plus de 50,0% du PIB provincial depuis 2009 avec une prévision d'environ 53,3% en 2012.

Tableau 1.5: La contribution des secteurs dans le PIB au Nord-Kivu

Parts sectoriels dans le PIB en %	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
SECTEUR PRIMAIRE	48,6	42,6	37,3	37,0	36,6	35,7	34,9
I. Agriculture, pêche et élevage	43,9	34,2	29,7	31,0	30,6	29,7	28,9
1. Agriculture	38,3	29,9	26,1	27,3	26,9	26,1	25,4
2. Pêche	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
3. Elevage	4,9	3,6	2,9	3,0	3,0	2,9	2,8
II. Foresterie	3,2	3,4	3,9	4,1	4,0	3,9	3,8
III. Mines	1,5	5,0	3,7	1,9	2,0	2,1	2,2
SECTEUR SECONDAIRE	6,4	5,9	11,1	11	11,6	10,4	10,1
I. Production manufacturière	5,6	4,8	9,9	9,8	9,5	9,3	9,0
II. Production d'électricité	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
III. Production d'eau potable	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1
IV. BTP / Infrastructures	0,3	0,5	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
SECTEUR TERTIAIRE	43,2	50,0	49,1	50,1	51	50,7	53,3
I. Services marchands	41,7	48,4	47,3	48,8	49,6	50,7	51,7
1. Commerce	25,1	31,6	32,8	33,7	34,5	35,7	36,7
2. Transport et communication	5,5	5,5	4,4	4,4	4,4	4,5	4,6
3. Tourisme, hôtels, restaurant	5,3	5,4	5,5	5,8	5,8	5,7	5,7
4. Autres services	5,8	5,9	4,6	4,9	4,9	4,8	4,8
II. Services non marchands	1,5	1,6	1,8	1,3	1,4	1,5	1,6
PIB AUX COUTS DES FACTURES	98,2	98,5	97,5	98,0	98,2	98,3	98,3
DROITS ET TAXES A L'IMPORTATION	1,8	1,5	2,5	2,0	1,8	1,7	1,7
PIB AUX PRIX DU MARCHE	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Source : Note de cadrage Sectoriel des Dépenses à Moyen Terme (CDMT), Banque mondiale en collaboration avec les autorités nationales et provinciales (PNUD, 2010).

3.2.3. Caractéristiques de l'élevage de bovins

3.2.3.1. Taille du cheptel

Avant le déclenchement des conflits armés au Nord-Kivu en 1996, le nombre de bovins était estimé à plus de 450.000 têtes (Mararo, 2001). La région était considérée, à cette période, comme la principale source d'approvisionnement en viande pour certaines Provinces de la RDC. A titre d'exemple : l'exportation en kilogrammes de viande de bœuf vers la ville de Kinshasa en 1981, 1983 et 1984 s'élevait respectivement à 580.638, 579.836 et 578.858 (Mararo, 2001). La commercialisation des bovins sur pieds vers les Provinces du Sud-Kivu et du Maniema était de plus de 7.864 et 6.627 têtes respectivement en 1983 et 1984. Les pillages par des groupes armés et l'insuffisance du contrôle des maladies endémiques comme l'ECF ont diminué sensiblement la taille du cheptel bovin jusqu'à 128.025 têtes en 2007 (**Tableau 1.6**). L'augmentation progressive du nombre de bovins à partir de l'année 2008 semble indiquer une relance timide de l'élevage et ce, notamment par des importations d'animaux à partir du Rwanda, de l'Ouganda et de la Province Orientale pour repeupler les troupeaux dévastés par la guerre. Il est à souligner que ces importations d'animaux constituent un risque élevé d'introduction dans la Province des tiques et des maladies transmises par les tiques.

Tableau 1.6 : Evolution du nombre de bovins au Nord-Kivu entre 2007 et 2009

Origines	Effectifs des bovins enregistrés		
	Année 2007	Année 2008	Année 2009
Territoire de Beni	18 307	16 727	17 640
Territoire de Lubero	36 152	87 609	92 650
Territoire de Rutshuru	4 624	4 321	4 633
Territoire de Nyiragongo	3 245	3 072	2 711
Territoire de Masisi	64 678	110 736	114 053
Territoire de Walikale	173	169	103
Ville de Beni	381	507	353
Ville de Butembo	406	597	615
Ville de Goma	59	72	341
Total	128 025	223 810	233 099

Source : Rapport du Ministère Provincial de l'Agriculture, pêche et élevage (AGRIPEL, 2010)

Les troupeaux de bovins du Nord-Kivu mais aussi de la majorité des bovins élevés en zones d'endémie de l'ECF de l'Afrique orientale comme le Rwanda, l'Ouganda, la Tanzanie, le Kenya et de l'Est de la RDC sont constitués par des races indigènes de type Sanga (animaux avec des petites bosses, communément appelés « Ankoles ») et Zébu de race locale pure (bovins à grandes bosses). Ces animaux sont généralement très résistants à l'ECF (Young *et al.*, 1981 ; Baldwin *et al.*, 1986). Cependant, une tendance à l'augmentation du nombre d'animaux croisés est observée dans la plupart de troupeaux du Nord-Kivu. Le croisement se fait par insémination artificielle de bovins indigènes avec la semence de sujets issus des races exotiques comme la Brune suisse et la Frisonne, mais la sensibilité des animaux croisés vis-à-vis de l'infection à *T. parva* et les pertes économiques dues à l'ECF n'ont jamais été déterminées.

3.2.3.2. Les systèmes d'élevage de bovins

Deux systèmes d'élevage des bovins sont pratiqués au Nord-Kivu : l'élevage extensif et l'élevage traditionnel (**Figure 1.13**). Cependant, l'importance de l'ECF n'a jamais été évaluée en fonction de ces systèmes d'élevage du Nord-Kivu.

3.2.3.2.1.. Système d'élevage extensif

L'élevage extensif des bovins est largement répandu dans la Province du Nord-Kivu et il est caractérisé par des effectifs de plus ou moins 30 à 50 têtes par troupeau (Mararo, 2001). Les animaux sont nourris sur des pâtures artificielles de grande étendue (plus de 20 ha / troupeau) découpées en parcelles. Les grandes exploitations d'élevage (plus ou moins 300 bovins) sont actuellement peu nombreuses. Elles appartiennent aux grands fermiers, notamment les commerçants et les chefs coutumiers, détenteurs de vastes parcelles de terres acquises par achat ou par héritage. C'est pour cette raison que ce type d'élevage au Nord-Kivu est qualifié de « *mangeur de terre* » (Kabu Zex-Kongo, 1999).

Les pâtures sont composées principalement de *Pennisetum clandestinum* ou de *Brachiaria* spp. associé au *Desmodium* spp. et au *Trifolium* spp. Ce mode d'élevage a été hérité des colons-Belges qui installaient du pâturage sur des grandes étendues pour protéger leurs concessions. L'association de l'élevage des bovins à celui des ovins et des caprins est fréquente et elle permet de récupérer dans un bref délai les dépenses engagées lors de l'installation des pâtures puisque les petits ruminants possèdent un cycle de reproduction de courte durée par rapport aux bovins. Dans certaines zones agropastorales, l'élevage est

associé à l'agriculture, mais la culture sur de vastes étendues de certaines plantes comme le café et le quinquina a réduit sensiblement les espaces pâturables (Lambot, 1958 ; Landais et Lhoste, 1990).

Les animaux élevés en mode extensif ne bénéficient d'aucun apport d'aliment supplémentaire. Seule l'herbe à faucher telle que *Trypsacum laxum* est distribuée aux vaches allaitantes dans certains troupeaux. Le sel gemme est l'unique supplément minéral, mais certains fermiers distribuent un bloc à lécher importé ou fabriqué localement. Le contrôle des tiques et le traitement contre les maladies transmises par les tiques sont fréquents dans la plupart de troupeaux.

3.2.3.2.2. Système d'élevage traditionnel

Le système d'élevage traditionnel est plus fréquent au Sud de la Province du Nord-Kivu dans les territoires de Masisi et de Rusthuru chez le peuple Banyamulenge (Tutsi) et Hutu-Rwandais (Kasonia, 1998). Chaque éleveur possède un effectif très réduit de bovins (moins de 15 têtes) (Mararo, 2001) et les animaux sont nourris sur un parcours libre combiné de gardiennage ou au piquet dans des jachères, sous les bois et broussailles.

Ce mode d'élevage est fréquent pour les peuples nilotiques du Rwanda, de l'Ouganda et du Kenya. Il était réglementé dans la Province du Nord-Kivu à l'époque coloniale dans le cadre d'une intégration de l'agriculture à l'élevage appelé «*paysannat - indigène*» où le nombre d'animaux par éleveur était limité en fonction des portions des terres mises en jachère à chaque fin de la saison culturale (Lambot, 1958). Ce système a pris une croissance importante à partir du moment où le pyrèthre a perdu sa valeur marchande sur le marché mondial suite à la substitution du pyrèthre naturel par des insecticides synthétiques. L'offre en pyrèthre naturel qui provenait essentiellement du Kenya et du Congo-Belge s'avérait trop insuffisante en 1948 et 1949 face à une demande de plus en plus élevée (Dormal, 1950). Ainsi, dans certaines zones agricoles, les champs de culture du pyrèthre furent transformés en pâtures communes. La plupart des troupeaux élevés dans ce système traditionnel ne bénéficient d'aucun supplément alimentaire ni de mesure de contrôle des tiques et des maladies à tiques.



Figure 1.13 : Les systèmes d'élevage de bovins du Nord-Kivu : élevage extensif (A) et élevage traditionnel au piquet et sur parcours libre (B).

3.3. Méthodes de contrôle de l'East Coast fever au Nord-Kivu

Les programmes de contrôle de l'ECF au Nord-Kivu ont été initiés par des colons belges et consistaient principalement en une lutte contre les tiques basée sur la rotation des pâturages et à l'application d'acaricides. Ainsi, des bains acaricides utilisant des Arsenic (anhydride arsénieux) ont été installés dans certaines zones considérées comme infestées par les tiques. Ces bains étaient utilisés d'une manière collective selon un calendrier établi par groupe d'éleveur en fonction des villages ou groupements pastoraux. Cette méthode a donné des résultats relativement satisfaisants chez les bovins de race locale, tandis que les bovins importés restaient sensibles à l'ECF (Schwetz, 1935 ; Mortelmans et Kageruka, 1986).

La stratégie actuelle de contrôle de l'ECF et des autres maladies transmises par les tiques au Nord-Kivu vise aussi à réduire les populations des tiques par l'application hebdomadaire de produits acaricides par aspersion ou baignation. Cette méthode comporte des désavantages liés à son coût élevé et au développement éventuel d'une résistance des tiques contre les acaricides les plus souvent utilisés (Mbogo *et al.*, 1996). En outre, la disponibilité des produits acaricides de bonne qualité semble être très insuffisante sur le marché vétérinaire local. Cependant, l'estimation du coût du contrôle des infestations par les tiques et de l'efficacité des produits acaricides contre les tiques locales n'a jamais été réalisée.

La vaccination des animaux contre l'ECF n'a jamais été appliquée et le traitement des cas cliniques est difficile à réaliser puisque les médicaments appropriés comme la Parvaquone (Clexon®, Parvaxone®) et la Buparvaquone (Butalex®) coûtent chers dans le contexte socio-économique local et beaucoup d'éleveurs n'acceptent pas leur utilisation.

Dans le but de bénéficier des subventions occasionnelles auprès des organismes nationaux et internationaux et de solliciter un encadrement des élevages au meilleur prix auprès du service vétérinaire, les éleveurs se regroupent en associations. C'est ainsi que plusieurs associations d'éleveurs comme l'Association Coopérative des Groupements d'Éleveurs du Nord-Kivu (ACOGENOKI) et l'Union Coopérative d'Éleveurs et Agriculteurs du Nord-Kivu (UCOOPANOKI) ont été créés. Ces associations ont bénéficié jusqu'à l'année 1994, d'une prise en charge des coûts liés aux médicaments vétérinaires et aux infrastructures d'élevage par l'agence de coopération canadienne et la FAO (Mafikiri, 1998) via les services publics, le Projet d'Élevage du Nord-Kivu (PENK) et le Ministère de l'Agriculture, Pêche et Élevage

(AGRIPEL). Le déclenchement des conflits armés a cependant occasionné la suspension des subventions de différents organismes non gouvernementaux. C'est ainsi qu'au prix réel des médicaments et compte tenu du faible pouvoir d'achat de la population, les éleveurs sont incapables actuellement de se procurer les médicaments vétérinaires. Cette contrainte a incité les éleveurs à utiliser d'une manière empirique certaines plantes naturelles dans le contrôle des tiques et autres ectoparasites chez les animaux (**Tableau 1.7**).

Tableau 1.7 : Quelques plantes insecticides et/ou acaricides utilisées au Nord-Kivu

Nom scientifique	Famille	Nom commun (Français ou anglais)	Nom vernaculaire (Kinande, Kinyarwanda)	Organes utilisés
<i>Capsicum frutescens</i>	Solanaceae	Piment enragé	Urusende	Feuilles
<i>Carica papaya</i>	Caricaceae	Papayer	Papai	Feuilles
<i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>	Asteraceae	Pyrèthre	Kilatere	Feuilles
<i>Colocasia antiquorum</i>	Araceae	Colocase, Taro	Matekere, Madekere	Feuilles
<i>Datura stramonium</i>	Solanaceae	Pomme épineuse ou Trompette du diable	Ndughunda	Feuilles
<i>Derris elliptica</i>	Fabaceae	Fish Poison Bean	Mayani ya kuloba	Feuilles
<i>Erythrococca welwitschiana</i>	Euphorbiaceae	Bush lime	Umutsinyi	Feuilles
<i>Lantana camara</i>	Verbenaceae	Thé de Gambie ou Trailing lantana	Makereshe	Feuilles
<i>Lonchocarpus nicou</i>	Fabaceae	Fish Poison Bean	Mayani ya kuloba	Feuilles
<i>Nicotiana tabacum</i>	Solanaceae	Tabac	Thava, Tumbako	Feuilles
<i>Phytolacca dodecandra</i>	Phytolaccaceae	Raisin d'Amérique	Muhokolo	Feuilles
<i>Ricinus communis</i>	Euphorbiaceae	Ricin	Mbono	Feuilles
<i>Solanum aculeastrum</i>	Solanaceae	Sodaapple nightshade	Umurembe	Feuilles
<i>Syzygium cordatum</i>	Myrtaceae	Water berry	Muowe, Mugorhe	Feuilles
<i>Tephrosia vogelii</i>	Fabaceae	Fish Poison Bean	Maseghese	Feuilles
<i>Tetradenia riparia</i>	Lamiaceae	Faux patchouli	Mutuvya, Umuravumba	Feuilles
<i>Tithonia diversifolia</i>	Asteraceae	Tournesol mexicain, Fleur fête des mères	Mauwa buchungu	Feuilles
<i>Turraeanthus africanus</i>	Meliaceae	Avodiré	Kibabula	Feuilles
<i>Vernonia amygdalina</i>	Asteraceae	Bitter leaf	Muviriri	Feuilles

Source : Banque de données PRELUDE des régions des grand-Lacs Africain (Kasonia et Yamalo, 1994 ; Baert *et al.*, 1996)

Chapitre 2

Objectifs de la thèse et structure des études

Objectif général

Les maladies transmises par les tiques constituent des contraintes parmi les plus importantes dans le secteur de l'élevage des bovins dans la Province du Nord-Kivu. Au début de ce travail, trois hypothèses ont été préalablement formulées de la manière suivante :

- (i) L'East Coast fever (ECF) serait la maladie à tiques la plus fréquente au Nord-Kivu ;
- (ii) Les indicateurs de l'ECF comme la prévalence de la tique *Rhipicephalus appendiculatus*, l'incidence clinique et la séroprévalence à *Theileria parva* seraient très différents en fonction des zones agro-écologiques et des systèmes d'élevage des bovins du Nord-Kivu ;
- (iii) L'usage de la phytothérapie représenterait une stratégie alternative de contrôle des tiques à la fois durable et économiquement abordable dans le cadre du contrôle intégré des maladies transmises par les tiques, l'ECF en particulier.

Les travaux de recherche présentés dans ce travail ont été volontairement orientés vers la vérification de ces hypothèses, l'objectif final étant de déterminer les états épidémiologiques de l'ECF dans la Province du Nord-Kivu et leurs implications en termes de stratégie de contrôle de la maladie adaptée aux conditions socio-économiques locales.

Objectifs spécifiques

Pour atteindre l'objectif général de cette thèse, quatre études ont été réalisées sur des périodes différentes avec des objectifs spécifiques résumés dans la **Figure 2.1**.

Premièrement, en raison de l'absence d'informations disponibles sur les maladies transmises par les tiques au Nord-Kivu, une enquête rétrospective a été conduite auprès des vétérinaires cliniciens (**Etude 1**). Cette enquête préliminaire portait sur des données épidémiologiques enregistrées par les vétérinaires de 2005 à 2007 et avait comme objectifs de décrire la répartition spatio-temporelle de trois principales maladies à tiques, à savoir l'East Coast fever (ECF), l'anaplasmose et la babésiose bovine, d'évaluer la capacité de détection clinique de ces maladies par les vétérinaires (signes d'appel) et d'évaluer la nécessité pour les vétérinaires

de pouvoir disposer des outils appropriés pour le diagnostic, la prévention et le traitement de ces maladies.

Deuxièmement, parce que les résultats de l'enquête rétrospective sont estimatifs et peuvent dépendre d'une perception subjective variable d'un vétérinaire à l'autre, une étude transversale (**Etude 2**) a été conduite dans des zones considérées comme à risque des maladies transmises par les tiques, l'ECF en particulier. Les objectifs spécifiques de cette étude ponctuelle consistaient essentiellement : (i) à identifier les tiques présentes sur les animaux et dans leurs pâtures, et à déterminer leur distribution dans des zones agro-écologiques identifiées sur base des facteurs comme l'altitude, la latitude et les conditions climatiques, (ii) à déterminer la séroprévalence de l'infection à *T. parva* et (iii) à évaluer l'efficacité des modes de contrôle des infestations par les tiques utilisés localement.

Ensuite, comme l'estimation de la dynamique de transmission de l'infection à *T. parva* via une étude transversale est souvent limitée à cause de la durée très courte des réactions cliniques et de la saisonnalité de l'infection à *T. parva*, une étude longitudinale (**Etude 3**) a été conduite dans deux troupeaux de bovins recrutés en fonction de certains critères comme la pratique de systèmes d'élevage différents et l'effectif de plus de 20 bovins des deux sexes et de toute catégorie d'âge, avec en outre, la possibilité d'obtenir des naissances durant la période d'étude. Cette étude visait principalement à déterminer l'état épidémiologique de l'ECF dans chacune des deux cohortes, par estimation des indicateurs de la maladie tels que l'abondance de *R. appendiculatus*, l'incidence clinique de l'ECF, l'âge au premier contact avec l'infection chez les veaux et le taux de survie des animaux contre l'ECF. Le taux d'infection des tiques par *T. parva* a été aussi évalué par l'application d'une technique de type PCR.

Finalement, dans le cadre du contrôle des infestations par les tiques adapté aux conditions socio-économiques du Nord-Kivu, l'utilisation de plantes médicinales locales est estimée être une méthode alternative. La plante *Tephrosia vogelii* Hook, reconnue comme la plus utilisée dans la région contre les ectoparasites des animaux, a été retenue pour une étude expérimentale (**Etude 4**). L'objectif de l'étude était de déterminer la teneur en composés roténoïdes (la roténone et la degueline) des feuilles de cette plante et d'évaluer *in vitro* les propriétés acaricides des extraits obtenus sur la tique *R. appendiculatus*, principal vecteur de l'ECF.

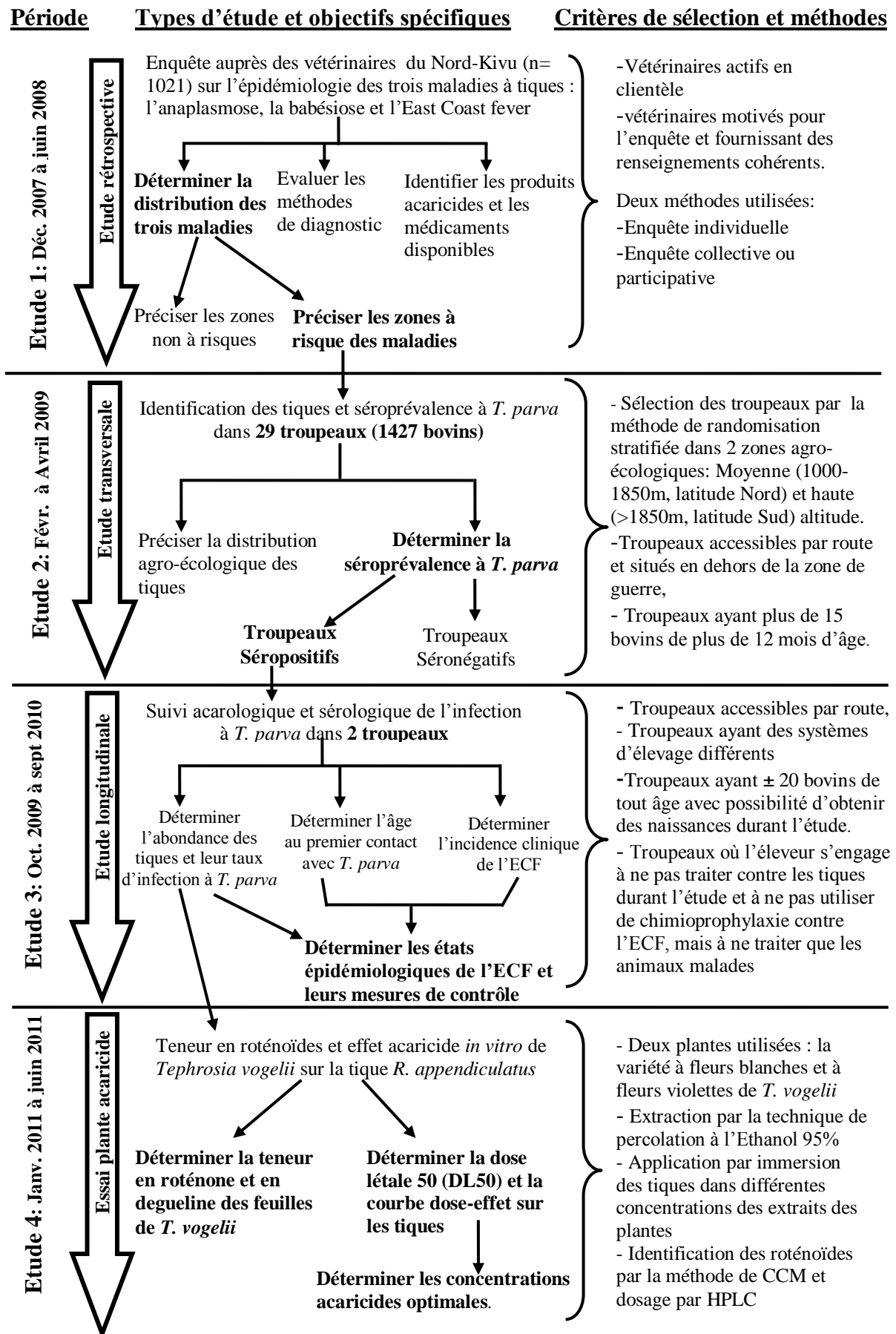


Figure 2.1 : Structure chronologique des études effectuées dans le cadre de la thèse

Chapitre 3

Enquête épidémiologique auprès des vétérinaires sur les principales maladies transmises par les tiques au Nord-Kivu, République Démocratique du Congo



Enquête collective auprès des vétérinaires du Nord-Kivu

Préambule et présentation synoptique

L'East Coast fever (ECF), l'anaplasmose, la babésiose et la cowdriose ont été reconnues comme des principales maladies transmises par les tiques en Afrique centrale et orientale en raison de leur impact économique très élevé sur l'élevage des bovins. La présence de ces maladies en zones d'endémie est liée à certains facteurs incluant (i) la présence et l'activité des tiques, (ii) la race et les catégories d'animaux affectés, (iii) la disponibilité et l'efficacité des moyens de diagnostic, de prévention et du traitement des animaux malades.

Ces indicateurs permettent de déterminer les zones à risque des maladies. Cependant, des informations sur des tels facteurs sont très peu disponibles dans la province du Nord-Kivu, à l'Est de la République Démocratique du Congo.

L'objectif de la présente enquête rétrospective a été de recueillir des données auprès des vétérinaires cliniciens sur la situation épidémiologique antérieure (de 2005 à 2007) de l'East Coast fever (ECF), l'anaplasmose et la babésiose bovine au Nord-Kivu. Un questionnaire a été distribué aux vétérinaires selon deux techniques : une enquête individuelle et une enquête collective. Au total, 1021 vétérinaires ont été interrogés et 124 (12%) vétérinaires ont répondu. Les résultats ont montré que 49% des vétérinaires ont déjà été confrontés à l'ECF, 36% à l'anaplasmose et 15% à la piroplasmose bovine. Les animaux importés et les croisés ont été cités comme les plus affectés par les trois maladies par rapport aux animaux type local. De 2005 à 2007, les animaux de plus de 12 mois d'âge ont été plus affectés par l'anaplasmose, ceux de plus de 24 mois contractaient davantage la babésiose mais l'ECF affectait toute catégorie d'âge des animaux. Ces maladies ont été observées toute l'année par les vétérinaires. Les troupeaux situés dans des zones boisées et à proximité des parcs nationaux ont été cités comme ayant un risque plus élevé de contracter les trois maladies. Le nombre moyen de tiques observé chez un animal malade a été de 10 à 50 tiques. On pouvait observer une infestation inférieure à 10 tiques surtout dans le cas de l'ECF, mais rarement l'infestation était supérieure à 50 tiques. Concernant le contrôle des maladies, les vétérinaires ont signalé une capacité très faible de la plupart d'éleveurs de pouvoir disposer des produits acaricides de bonne qualité et des médicaments appropriés pour le traitement des cas cliniques. Ces contraintes ont incitées certains éleveurs à utiliser d'une manière empirique les plantes médicinales locales dans le contrôle des tiques. Parmi les plantes insecticides et/ ou acaricides disponibles dans l'environnement au Nord-Kivu, *Tephrosia vogelii* a été citée comme la plus utilisée.

Présentation détaillée

Enquête épidémiologique auprès des vétérinaires concernant trois maladies vectorielles des bovins élevés dans la Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo *

Kalume M.K.¹, Losson B.², Vyambwera C.G.¹, Mbegumbaya L.¹, Makumyaviri A.M.³, Saegerman C.⁴

- 1: Faculté de Médecine vétérinaire, Université catholique du Graben, B.P. 29 Butembo, Nord-Kivu, République Démocratique du Congo
- 2 : Service de parasitologie et pathologie des maladies parasitaires, Département des maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster, 20, B43, B-4000 Liège, Belgique
- 3 : Faculté de médecine vétérinaire, Université catholique du Graben et Université de Lubumbashi, B.P. 1825, République Démocratique du Congo
- 4 : Unité de recherche en épidémiologie et analyse de risques appliquées aux sciences vétérinaires (UREAR), Département des maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster, 20, B42, B-4000 Liège, Belgique

Epidémiologie et santé animale, 2009, 56, 197-216

* Texte de la communication écrite présentée au cours des Journées scientifiques AEEMA-AESA, 4-5 juin 2009

Résumé

Une enquête épidémiologique réalisée auprès des vétérinaires cliniciens du Nord-Kivu (n = 1021) a révélé que l'East Coast fever (ECF) est plus fréquente (49% ; 95%IC= 43-55) par rapport à l'anaplasmose (36% ; 95%IC= 30-42) et à la babésiose (15% ; 95%IC= 11-20). Des cas cliniques étaient signalés toute l'année dans trente groupements agropastoraux répartis dans les territoires de Lubero (n = 10), Masisi (n = 9), Beni (n = 8), Nyiragongo (n = 2) et Rutshuru (n = 1). La situation épidémiologique était plus critique chez les troupeaux situés à proximité de la forêt équatoriale, de la savane boisée du Graben et des parcs nationaux de Virunga et Maïko. Le taux moyen d'infestation par les tiques n'était pas significativement différent pour ces trois maladies vectorielles ($P > 0,05$), avec entre 10 et 50 tiques dénombrées par animal malade. Cependant, une infestation moyenne très faible (< 10 tiques / bovin) est observée sur des animaux suspects d'une atteinte d'ECF. Cette enquête a aussi indiqué que la disponibilité des produits acaricides de bonne qualité et des médicaments appropriés contre les maladies concernées doit être améliorée. *Tephrosia vogelii* Hook a été citée comme plante médicinale utilisée contre les tiques en l'absence des produits acaricides, mais son effet sur les tiques et la dose à utiliser sur le terrain restent à déterminer.

Mots-clés : Enquête épidémiologique, vétérinaires, bovins, anaplasmose, babésiose, theilériose, Nord-Kivu.

Summary

An epidemiological survey carried out among veterinary surgeons in North-Kivu (n = 1021) showed that East Coast fever (ECF) is more commonly encountered (49%; CI95%= 43-55) than anaplasmosis (36%; CI95%= 30-42) and babesiosis (15%; IC95%= 11-20). Clinical diseases were reported over the year in thirty agropastoral locations distributed over the territories of Lubero (10), Masisi (9), Beni (8), Nyiragongo (2) and Rutshuru (1). The most critical situation was reported in herds located in the vicinity of the equatorial forest, in the savannah woodlands of the Graben and in the national parks of Virunga and Maïko. The mean rate of tick infestation was not significantly different between these three vector diseases ($P > 0.05$), with 10 to 50 ticks per sick animal. However, a very low infestation by ticks (< 10 ticks / animal) was reported on animals suspected of ECF. This study indicated also that the availability of acaricides and efficacious drugs against those vectorial diseases must be improved. *Tephrosia vogelli* Hook was cited as a medicinal plant used against ticks when chemical acaricides are not available but its effect on ticks and the proper concentration to be used remain to be determined.

Keywords: Epidemiological survey, veterinarians, cattle, anaplasmosis, babesiosis, theileriosis, North-Kivu

Introduction

L'épidémiologie de l'anaplasmose, la babésiose et la theilériose bovine à *Theileria parva* (ou East Coast fever, ECF) dépend des systèmes de production animale, de la dynamique de population des tiques vectrices et des mesures prises pour leur contrôle ainsi que du traitement des cas cliniques (Ashford *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2008). Ces maladies représentent un obstacle réel au développement de l'élevage des bovins en Afrique centrale et orientale (Mukhebi, 1996 ; Maloo *et al.*, 2001). Les formes cliniques sont responsables de pertes économiques importantes à cause de mortalités des animaux ou de la baisse de production (avortement, diminution du poids et de la production en lait et viande) qui peut être prolongée même après la guérison des animaux (Gitau *et al.*, 1999 ; Magona *et al.*, 2008). En effet, si le taux de morbidité n'est que de 15 à 25% et le taux de mortalité de 5 à 10% chez les bovins indigènes, il n'en est pas de même pour le bétail exotique, introduit en zone d'enzootie. Chez ces animaux, le taux de morbidité est plus élevé (30 à 95%) et le taux de létalité peut atteindre 100% en situation enzootique instable (Deem *et al.*, 1993 ; Okello-Onen *et al.*, 1994 ; Kambarage, 1995 ; Perry et Young, 1995). A cela, il faut ajouter : le coût élevé pour le contrôle des tiques (maintien des bains acaricides ou manipulation régulière par aspersion) et le traitement onéreux des animaux malades (Mukhebi, 1996 ; D'Haese *et al.*, 1999) ainsi que les effets secondaires de ces infections comme l'anémie et la diminution de la résistance contre les autres infections (Okello-Onen *et al.*, 1998 ; Okello-Onen *et al.*, 2003).

Des études menées en Afrique centrale et orientale ont montré que la distribution de l'anaplasmose, la babésiose et l'ECF correspond à la répartition des tiques vectrices (Lessard *et al.*, 1990 ; Morel, 2000). La présence de ces maladies a été signalée au Kenya (Kariuki *et al.*, 1995 ; Gitau *et al.*, 2000 ; Dioli *et al.*, 2001), en Ouganda (Ssenyonga *et al.*, 1992 ; Oura *et al.*, 2004 ; Rubaire-Akiiki *et al.*, 2004), au Rwanda (Bazarusanga *et al.*, 2007a ; Bazarusanga *et al.*, 2007b ; Bazarusanga *et al.*, 2008), au Burundi (Kaiser *et al.*, 1988) et en Tanzanie (Musisi *et al.*, 1994 ; Kambarage, 1995 ; Ogden *et al.*, 2003).

En République Démocratique du Congo (RDC), plusieurs secteurs de l'élevage de bovins sont affectés par l'anaplasmose, la babésiose et l'ECF (Lessard *et al.*, 1990 ; Norval *et al.*, 1992) et l'essentiel des recherches sur ces maladies s'est fait à l'Est du Pays (Makumyaviri et Habimana, 1993 ; Makumyaviri et Mwilambwe, 1998 ; Makumyaviri et Walemba, 2000 ; Makumyaviri et Lenge, 2007). Malheureusement, depuis plus de 40 ans, l'Etat Congolais

connaît un relâchement de l'épidémiosurveillance des grandes enzooties si bien que les informations concernant la prévalence de ces maladies ainsi que leur importance économique sont rares. Leur situation épidémiologique semble plus critique dans la Province du Nord-Kivu en particulier à cause de la diminution de la capacité de prise en charge des animaux par les éleveurs suite à la persistance des conflits armés (Soheranda et Ndungo, 2002 ; Katamuliko et Mulumemuvi., 2004).

Une enquête épidémiologique rétrospective, portant sur les années 2005-2007, a été menée dans la Province du Nord-Kivu auprès des vétérinaires cliniciens. Cette enquête avait pour objectifs de déterminer la dispersion spatio-temporelle de l'anaplasmose, la babésiose et l'ECF, d'évaluer la capacité diagnostique de ces maladies par les vétérinaires et d'identifier les outils thérapeutiques utilisés, efficaces et disponibles sur le marché vétérinaire local.

Matériel et méthodes

Milieu d'étude

La Province du Nord-kivu est située à l'Est de la RDC, à 29° 58' de longitude Est, entre 0° 58' de latitude Nord et 2° 03' de latitude Sud et entre 27° 14' de longitude Ouest et 29° 58' de longitude Est. Elle est limitée à l'Est par l'Ouganda, au Sud-Est par le Rwanda, au Nord et à l'Ouest par la Province Orientale, au Sud-Ouest par la Province du Maniema et au Sud par la Province du Sud-Kivu (**Figure 3.1**). Elle est subdivisée en six territoires (Beni, Lubero, Rutshuru, Walikale, Masisi et Nyiragongo) et trois villes (Beni, Butembo et Goma) (Kalombo, 2005). Une corrélation étroite entre l'altitude et la température moyenne mensuelle est observée en fonction des différentes zones agro-écologiques. En dessous de 1000 m d'altitude, la température est voisine de 23° C ; à 1000 - 1850 m on enregistre environ 19° C et à plus de 1850 m, 15° C (Kasay, 1988). La pluviométrie annuelle varie entre 1000 mm et plus de 2500 mm et les précipitations moyennes mensuelles les plus faibles sont enregistrées sur une très courte période, en janvier et en juin. Cette uniformité des conditions climatiques sur toute l'année favorise le développement biologique d'une diversité d'arthropodes piqueurs et hématophages parmi lesquels figurent les tiques dures (*Ixodidae*), vecteurs d'*Anaplasma spp*, *Babesia spp*. et *Theileria spp*. (Ashford *et al.*, 2001).

2.2. Formulaire d'enquête

Un questionnaire (**en annexe**) a été distribué à 1021 vétérinaires du Nord-Kivu de décembre 2007 à juin 2008. Deux techniques d'enquête utilisant le même formulaire ont été effectuées conjointement selon les méthodes d'enquêtes épidémiologiques et socio-économiques proposées par Bénet *et al.* (1993) et Chrysostome (1997). Il s'agit de l'enquête individuelle et de l'enquête participative.

2.2.1. Enquête individuelle

Elle a été réalisée de porte à porte au domicile ou au lieu de travail des vétérinaires sur rendez-vous verbal ou téléphonique. Elle offre l'avantage de s'enquérir des conditions de travail des vétérinaires lors de la visite. Le désavantage de la méthode est qu'en cette période de guerre certains vétérinaires n'ont pas accepté de participer à l'enquête puisqu'ils pensaient à une sorte d'espionnage.

2.2.2. Enquête participative (ou collective)

Cette technique d'enquête consistait en des réunions sur invitation des vétérinaires. Les séances plénières se déroulaient sous forme d'échanges et discussions sur l'importance et les objectifs de l'enquête concernée. A cette occasion, les vétérinaires devaient prendre connaissance du questionnaire d'enquête et répondre individuellement pendant la réunion ou le lendemain (pour ceux qui n'étaient pas munis de leur carnet de travail). A la fin de la séance, les enquêtés étaient tenus d'aller distribuer les formulaires à d'autres vétérinaires et ce, notamment, dans les lieux où la guerre sévissait. Les participants (ou invités) étaient pour la plupart des inspecteurs vétérinaires, des présidents d'associations de vétérinaires, des responsables d'institutions vétérinaires, des tenanciers de pharmacies vétérinaires et des vétérinaires privés réputés influents. L'avantage de cette méthode est qu'elle permettait d'atteindre un plus grand nombre de vétérinaires dans un bref délai. Une difficulté est que certains vétérinaires ont exigé le remboursement du transport pour la distribution des formulaires, ce qui n'était pas prévu.

Les réponses des vétérinaires étaient centralisées à la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université Catholique du Graben (B.P. 29 Butembo, Nord-Kivu). Le formulaire écrit en français contenait essentiellement des questions fermées, réparties en six rubriques suivantes :

- Identité complète et lieu d'activité du vétérinaire;

- Informations concernant l'épidémiologie de l'anaplasmose, la babésiose et l'ECF de 2005 à 2007 ;
- Principaux signes cliniques observés durant ces maladies ;
- Informations sur le traitement de ces maladies et les produits utilisés contre les tiques ;
- Informations en rapport avec les sources d'information utilisées pour la documentation sur ces maladies ;
- et avis du vétérinaire sur l'évolution de ces maladies au Nord-Kivu.

Les données ont été encodées dans une base de données Access® et traitées à l'aide du logiciel Excel®. Le test de Chi carré a été utilisé pour déterminer la relation entre deux variables qualitatives (Toma *et al.*, 2001).

Résultats

Taux de participation et lieux d'activité des vétérinaires

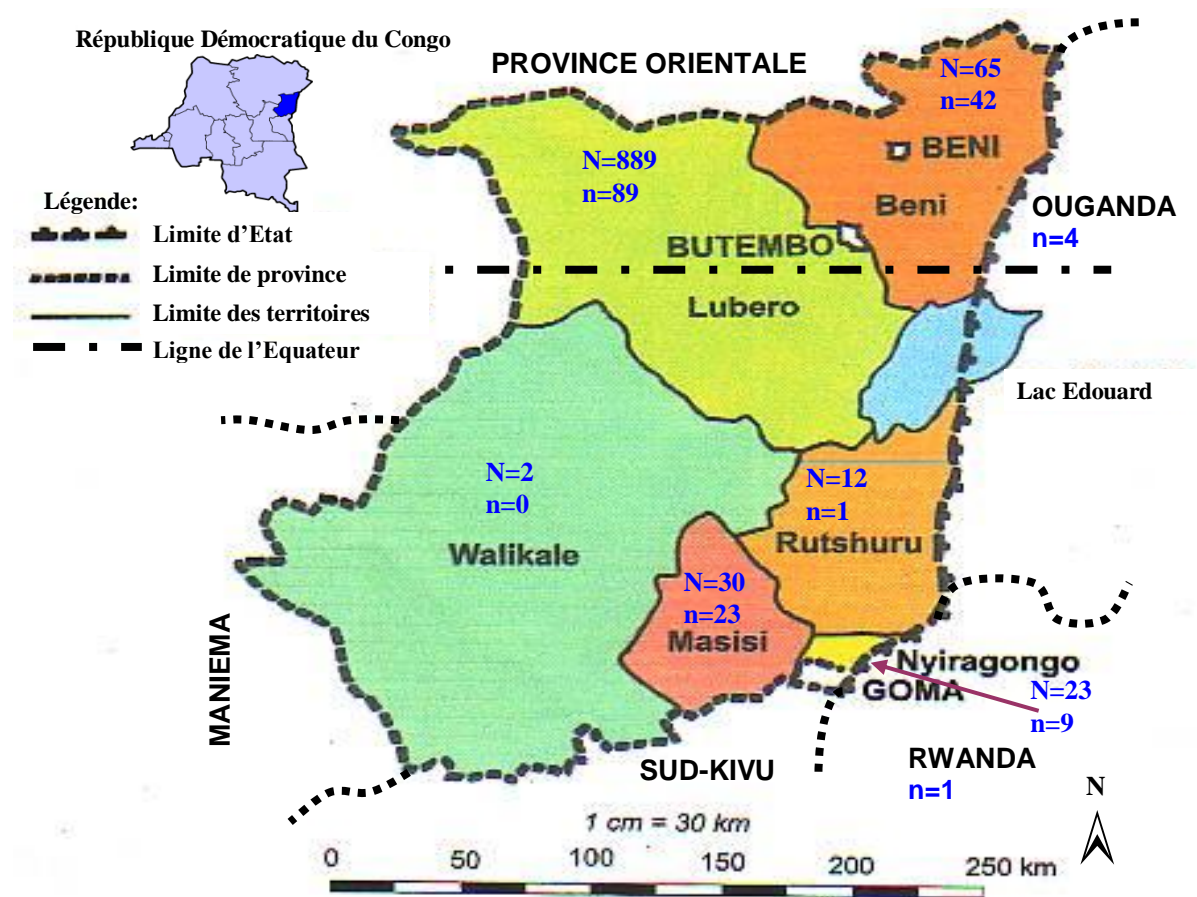
Sur un total de 1021 vétérinaires interrogés, 124 (12% ; IC95%= 10-14%) ont répondu (**Tableau 3.1**) dont 30 Médecins vétérinaires, 13 techniciens d'élevage A₁ (vétérinaires ayant 3 ans de formation en classes supérieures : VTs A₁) et 81 techniciens d'élevage A₂ (infirmiers vétérinaires de niveau du secondaire : VTs A₂). La participation à l'enquête des Médecins vétérinaires a été significativement plus élevée par rapport aux VTs A₁ et VTs A₂ ($\chi^2 = 21,075$; ddl=2 ; $P < 0,001$)

La plupart des vétérinaires interrogés exerçaient leur activité dans les territoires de Lubero (n = 89) et Beni (n = 42) (**Figure 3.1**) ; les autres territoires (Masisi, Rutshuru, Nyiragongo, Walikale et le Sud de Lubero) étaient entièrement ou en partie en état de guerre.

Cependant, le pourcentage des réponses positives des vétérinaires actifs en clientèle dans la Province était plus élevé pour le territoire de Masisi (77% ; 95%IC=58-88) suivi du territoire de Beni (65% ; 95%IC= 52-75), Nyiragongo (39% ; 95%IC= 22-60), Lubero (10% ; 95%IC= 8-12) et Rutshuru (8% ; 95%IC= 1-41) et aucune réponse n'a été signalée dans le territoire de Walikale (n=0 ; 95%IC= 0-8). Par ailleurs, certains vétérinaires avaient des clientèles dans des pays limitrophes : au Rwanda (n = 4) et en Ouganda (n = 1).

Tableau 3.1 : Nombre des vétérinaires ayant participé à l'enquête en fonction de leur niveau d'étude.

Niveau d'étude	Nombre total des vétérinaires sollicités	Nombre des réponses	Pourcentage (%)	IC 95%
Médecin vétérinaire	110	30	27	20 - 36
VTs A ₁	78	13	17	10 - 27
VTs A ₂	833	81	10	8 - 12
Total	1021	124	12	10 - 14



N = nombre total des vétérinaires interrogés dans le territoire; **n** = nombre de vétérinaires ayant des clientèles dans le territoire.

Figure 3.1 : Répartition des vétérinaires interrogés en fonction de leur lieu d'activité

Classement des trois maladies selon la perception par les vétérinaires

Les résultats ont montré que les vétérinaires sont plus confrontés à l'ECF (49% ; IC95%= 43-55) suivie par l'anaplasmose (36% ; IC95%= 30-42) et par la babésiose (15% ; IC95%= 11-20) (**Tableau 3.2**). Ce classement n'était pas significativement différent entre les catégories de vétérinaires interrogés ($\chi^2 = 2,493$; ddl=4 ; $P > 0,05$).

Tableau 3.2 : Classement des trois maladies selon leur apparition en élevage de bovins du Nord-Kivu, d'après les vétérinaires interrogés.

Niveau d'étude	Nombre total des réponses positives	East Coast fever		Anaplasmose		Babésiose	
		n	% (95%IC)	n	% (95%IC)	n	% (95%IC)
Médecin vétérinaire	56	26	46 (34-59)	23	41 (29-54)	7	13 (6-24)
VTs A ₁	27	11	41 (24-60)	10	37 (21-56)	6	22 (10-41)
VTs A ₂	149	77	52 (44-60)	50	33 (26-41)	22	15 (10-21)
Fréquences	232	114	49 (43-55)	83	36 (30-42)	35	15 (11-20)

Types et classe d'âge de bovins affectés

De 2005 à 2007, la fréquence observée pour les trois maladies était significativement très différente en fonction du type d'animaux de l'exploitation ($\chi^2 = 10,318$; ddl = 4 ; $P < 0,05$). Les animaux importés et les croisés ont été cités comme les plus affectés par ces maladies (**Figure 3.2**). Cependant, en fonction des maladies, aucune différence significative entre les types d'animaux n'a été observée pour l'anaplasmose ($\chi^2=0,666$; ddl=2 ; $P>0,05$) ; mais des différences significatives ont été observées entre les types d'animaux en ce qui concerne l'East Coast fever ($\chi^2=6,062$; ddl=2 $P<0,05$) et la babésiose ($\chi^2=8,46$; ddl=2 ; $P<0,05$).

La comparaison des fréquences des maladies en fonction de la catégorie d'âge de bovins affectés a donné une différence statistiquement très significative ($\chi^2= 42,213$; ddl=6 ; $P < 0,001$). Les bovins âgés de plus de 12 mois étaient plus sensibles à l'anaplasmose et ceux de plus de 24 mois contractaient davantage la babésiose bovine. Par contre, l'East Coast fever s'observait chez les bovins de toute catégorie d'âge (**Figure 3.3**).

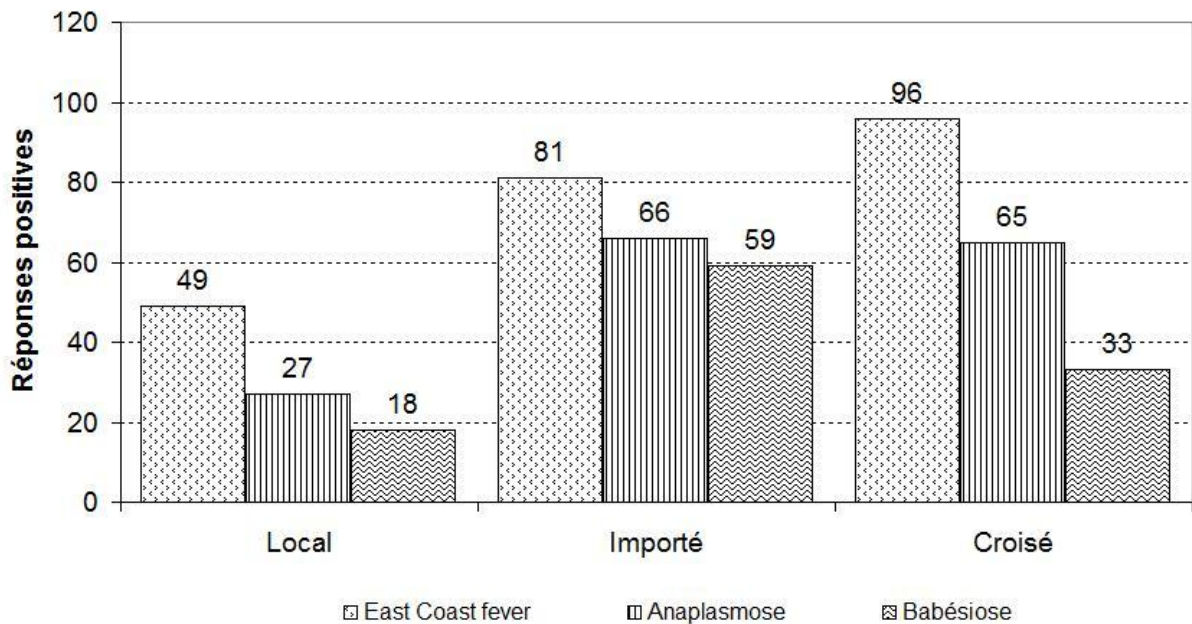


Figure 3.2 : Type de bovins atteints par l'East Coast fever, l'anaplasmosis et la babésiose dans les élevages du Nord-Kivu, d'après les vétérinaires interrogés.

Taux de morbidité et mortalité des maladies

Le taux de morbidité était le plus souvent de 2 à 10% quelle que soit la maladie et le taux de mortalité était d'environ 1% en cas d'anaplasmosis et de babésiose. Par contre, le taux de mortalité était le plus important en cas d'East Coast fever (**Figure 3.4**).

Evolution annuelle des maladies et répartition au Nord-Kivu

Les cas cliniques étaient observés toute l'année (**Figure 3.5**). Trente groupements agropastoraux repartis dans les territoires de Lubero (10), Masisi (9), Beni (8), Nyiragongo (2) et Rutshuru (1) étaient cités comme affectés (**Tableau 3.3**). Quatre groupements étaient plus affectés dans le territoire de Lubero (Mwenye, Ngulo, Buhimba et Musindi), quatre dans le territoire de Beni (Malio, Isale Kasongwere, Masiki Vahyana et Kalonge) et trois dans le territoire de Masisi (Osso, Bashali et Biteete). Ces groupements sont situés à proximité de la forêt équatoriale, de la savane boisée du Graben ou des parcs nationaux de Virunga et de Maïko. Ces réserves zoologiques sont le plus souvent localisées dans des zones de basse altitude hébergeant des buffles, des hippopotames et d'autres animaux sauvages.

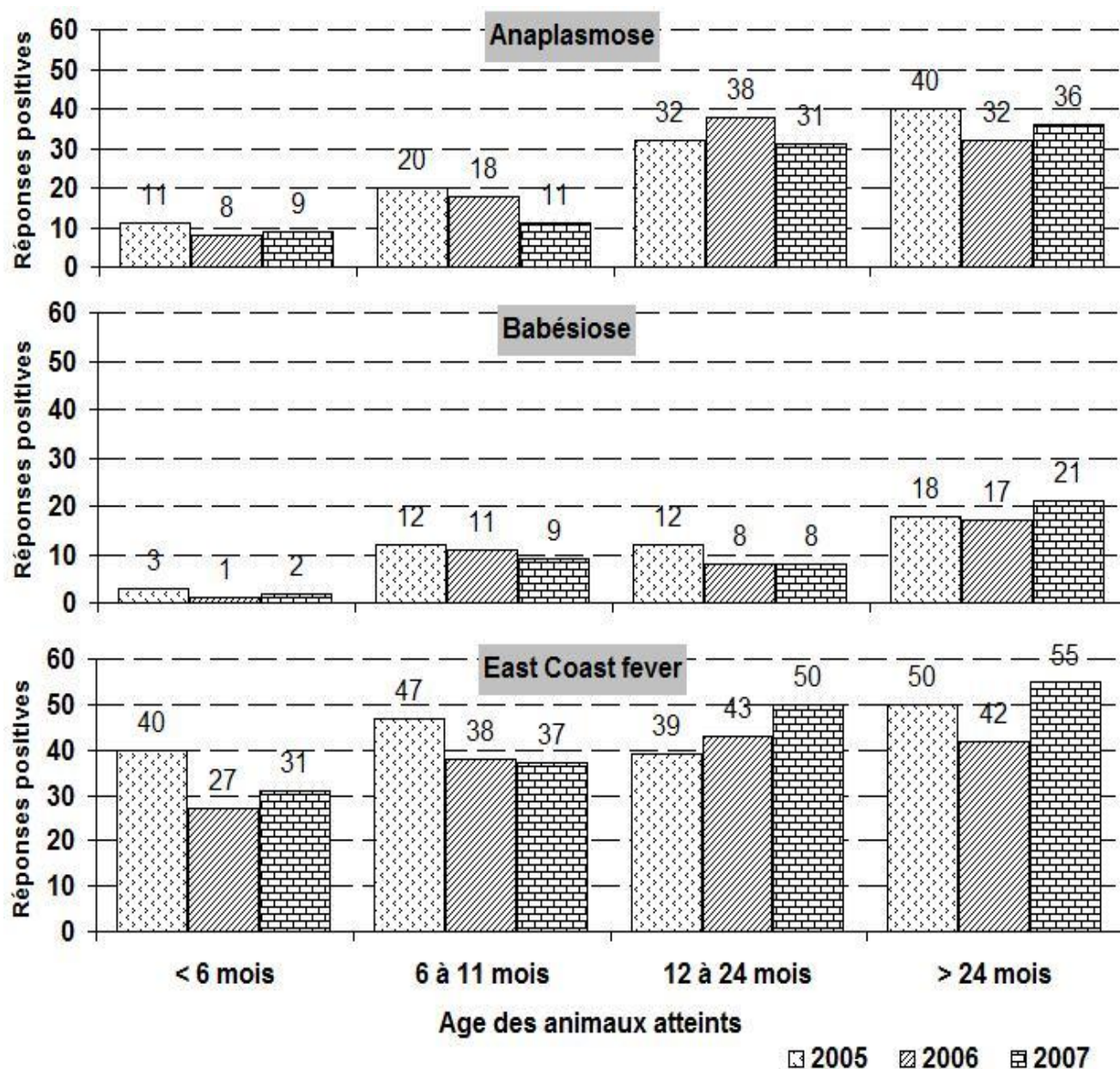


Figure 3.3 : Classe d'âge de bovins atteints par l'anaplasmosis, la babésiose et l'East Coast fever au Nord-Kivu de l'année 2005 à 2007, d'après les vétérinaires interrogés.

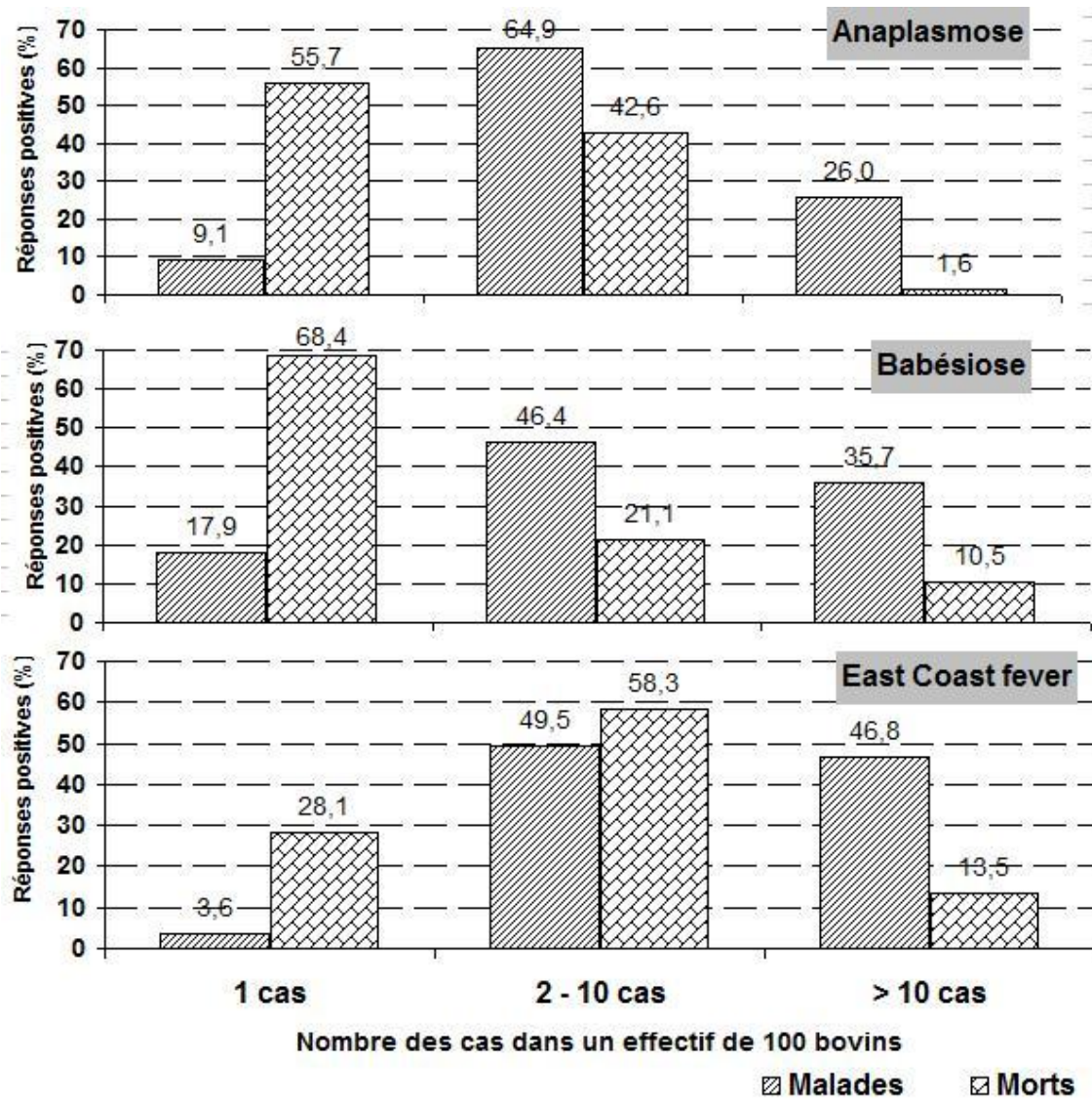


Figure 3.4 : Taux moyen annuel de morbidité et de mortalité dans un effectif de 100 bovins en cas d'anaplasmosis, de babésiose et de l'East Coast fever, d'après les vétérinaires interrogés.

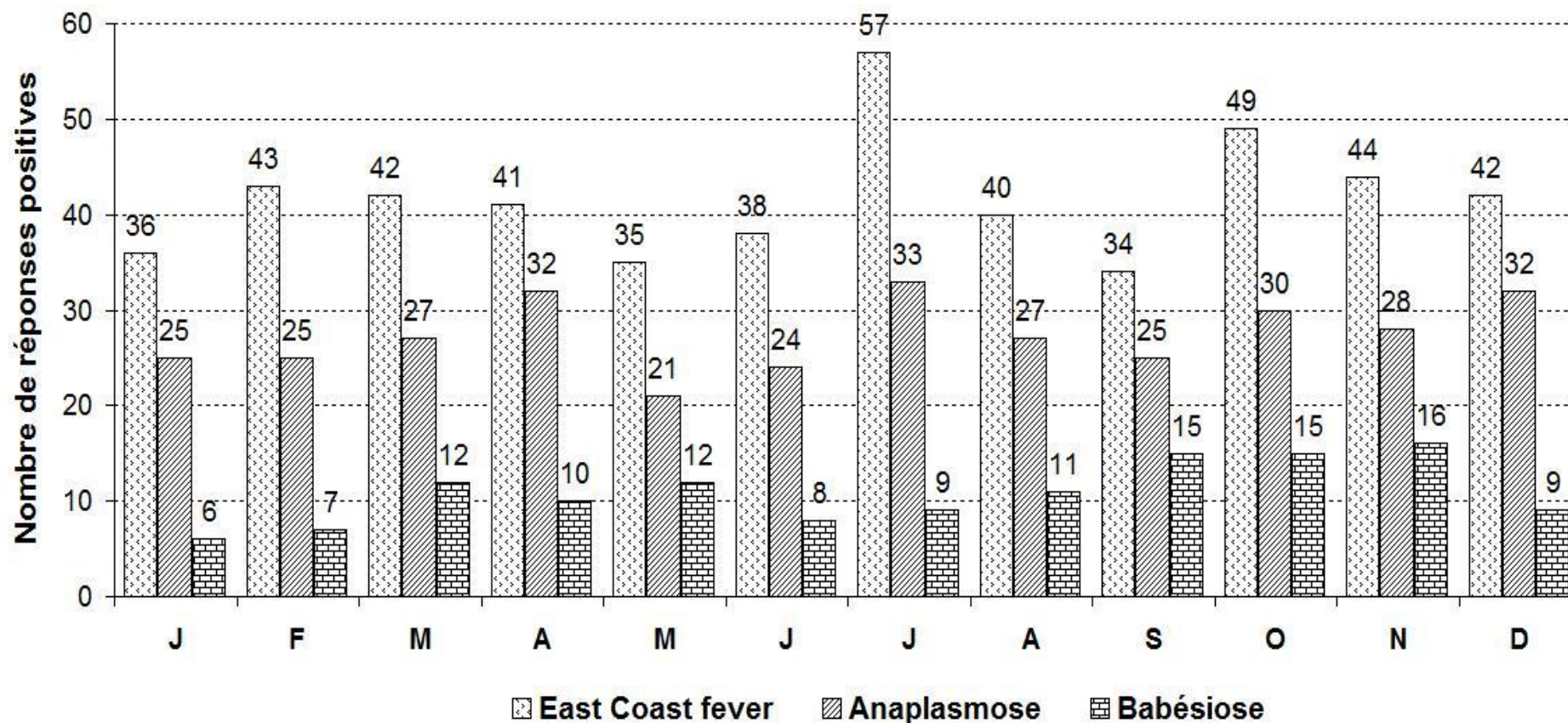


Figure 3.5 : Répartition mensuelle des cas cliniques de l'East Coast fever, d'anaplasmosis et de babésiose chez les bovins élevés au Nord-Kivu, d'après les vétérinaires interrogés

Tableau 3.3 : Groupements agropastoraux affectés par l'East Coast fever, l'anaplasmose et la babésiose au sein du cheptel bovin du Nord-Kivu durant la période 2005 à 2007, d'après les vétérinaires interrogés

Territoires	Groupements	East Coast fever	Anaplasmose	Babésiose	Total
LUBERO	Mwenye	31	23	10	64
	Ngulo	22	18	9	49
	Buhimba	17	12	5	34
	Musindi	15	14	4	33
	Hutwe	9	6	4	19
	Muhola	8	7	0	15
	Luongo	8	4	5	17
	Bukenye	5	5	1	11
	Bulengya	4	5	2	11
	Buyora	3	3	1	7
BENI	Malio	27	20	6	53
	Isale Kasongwere	7	6	2	15
	Masiki Vahyana	4	5	1	10
	Kalonge	4	3	2	9
	Madiwe	1	1	0	2
	Manzya	1	0	0	1
	Bashu	1	1	0	2
	Tinamene	1	0	0	1
MASISI	Osso	18	10	4	32
	Bashali	5	3	2	10
	Biteete	3	2	1	6
	Bugiri	2	0	1	3
	Kyachinge	2	1	1	4
	Karuba	2	0	0	2
	Malehe	2	0	0	2
	Kisuma	2	2	1	5
	Kitehanga	1	1	0	2
NYIRAGONGO	Katoyi	3	2	1	6
	Karisimbi	3	1	1	5
RUTSHURU	Jamba	1	0	0	1
Total		212	155	64	431

Taux d'infestation par les tiques

Les groupements agropastoraux boisés étaient cités comme significativement plus infestés par les tiques ($\chi^2 = 24,384$; ddl= 1 ; $P < 0,001$) (**Tableau 3.4**). Les vétérinaires ont rapporté que les animaux infestés par les tiques avaient plus de risque de contracter l'East Coast fever ($\chi^2 = 18,134$; ddl= 1 ; $P < 0,001$) et l'anaplasmose ($\chi^2 = 13,827$; ddl=1 ; $P < 0,001$) et très peu de risque pour la babésiose clinique ($\chi^2 = 1,389$; ddl= 1 ; $P > 0,05$).

Tableau 3.4 : Relation entre l'observation des tiques sur les bovins et le boisement des groupements agropastoraux et l'apparition clinique de l'East Coast fever, l'anaplasmose et la babésiose, d'après les vétérinaires interrogés

		Zones boisés		East Coast fever		Anaplasmose		Babésiose	
		Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non
Infestation par les tiques	Oui	67	39	102	4	77	29	32	74
	Non	0	18	12	6	5	13	3	15
	Total	67	57	114	10	82	42	35	89

Le taux moyen d'infestation des bovins par les tiques n'était pas été significativement différent pour les trois maladies ($\chi^2 = 0,611$; ddl= 4 ; $P > 0,05$) et il était de 10 à 50 tiques par bovin malade. On pouvait observer une infestation inférieure à 10 tiques surtout dans le cas de l'East Coast fever, mais rarement le taux d'infestation était supérieur à 50 tiques (**Figure 3.6**). Les régions anatomiques selon leur ordre d'infestation par les tiques ont été citées de la manière suivante : oreilles (10,97%), région inguinale (10,59%), fanon (9,06%), queue (8,8%), mamelle (8,67%), périnée (7,27%), région anale (6,89%), chignon (6,38%), encolure (6,25%), membres (5,74%), pli de l'aine (5,74%), face (4,72%), abdomen (3,95%), flanc (2,93%) et dos (2,04%) (**Figure 3.7**).

Signes cliniques observés en cas des maladies

Le diagnostic symptomatique constitue jusqu'à présent l'unique méthode pour identifier l'ECF, l'anaplasmose et la babésiose au Nord-Kivu. Dans l'énumération des signes cliniques observés, les vétérinaires interrogés citaient en général huit ou neuf symptômes pour chacune de ces maladies. Les six premiers signes cliniques étaient considérés comme des « *signes d'appel* » c'est-à-dire qui motivent le diagnostic de la maladie ou les signes cliniques les plus précoces qui alertent les vétérinaires en cas de maladie (**Figure 3.8**). Même si les trois maladies ont en commun des symptômes tels que l'hyperthermie, l'anorexie, l'anémie et la chute de production laitière, le tableau clinique observé par les vétérinaires permettait de distinguer l'East Coast fever (le gonflement des ganglions parotidiens et préscapulaires, le larmolement et les troubles respiratoires) de la babésiose (ictère et émission d'urines rouges). Cependant, une confusion dans le diagnostic de l'anaplasmose et de la babésiose ne peut être exclue.

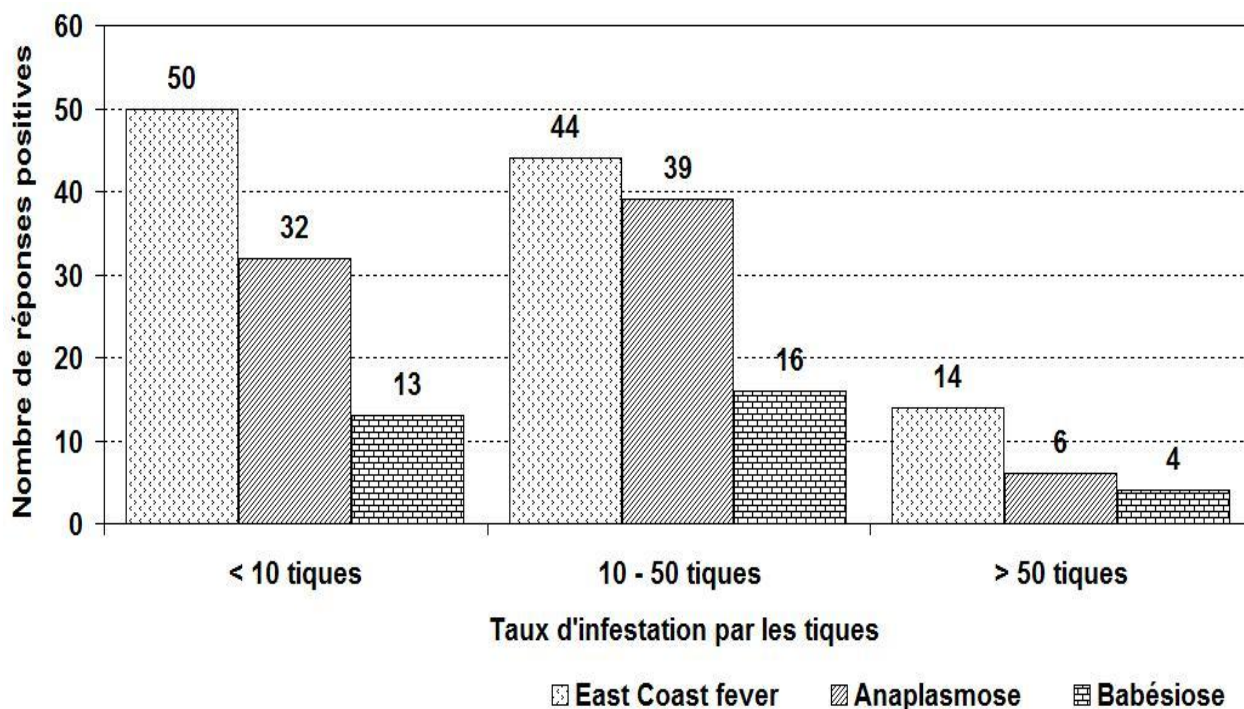
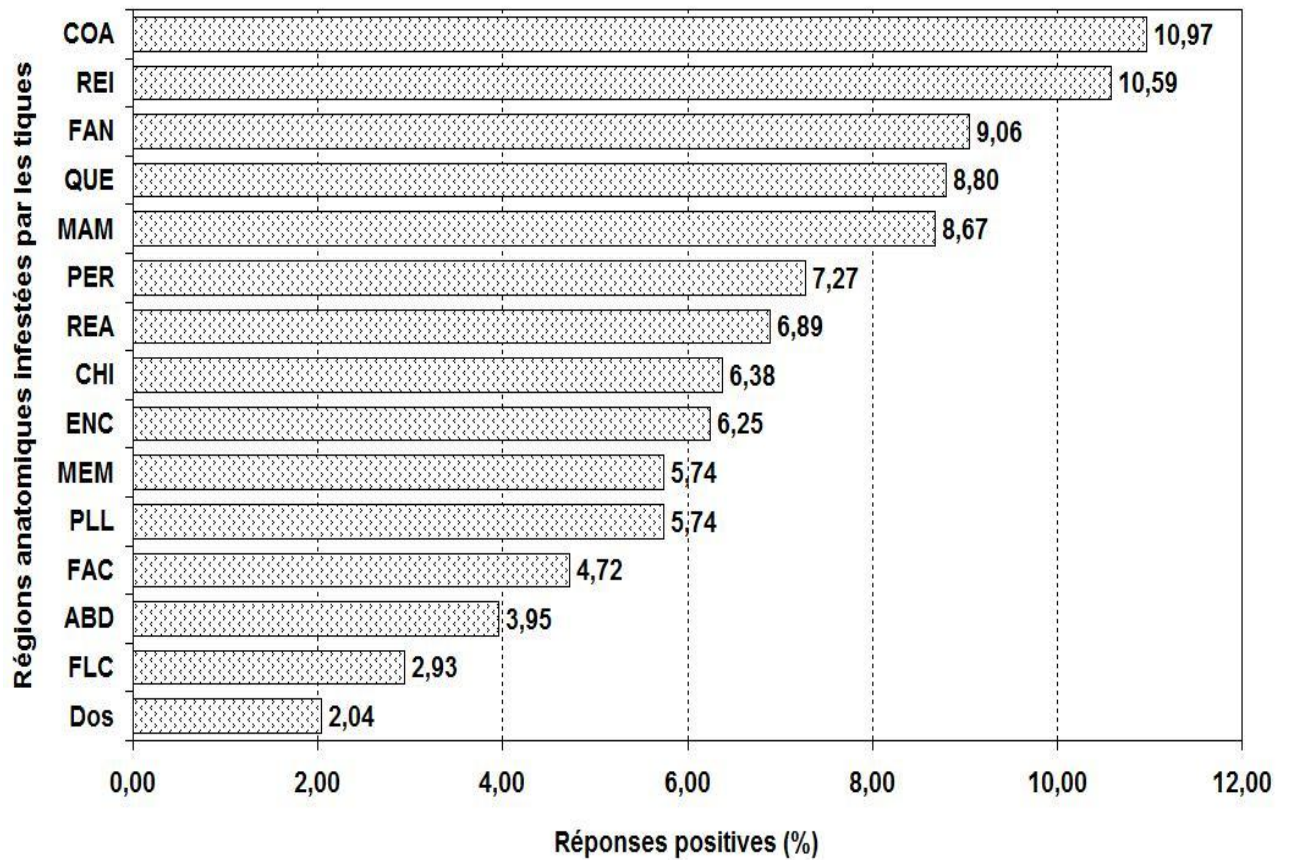
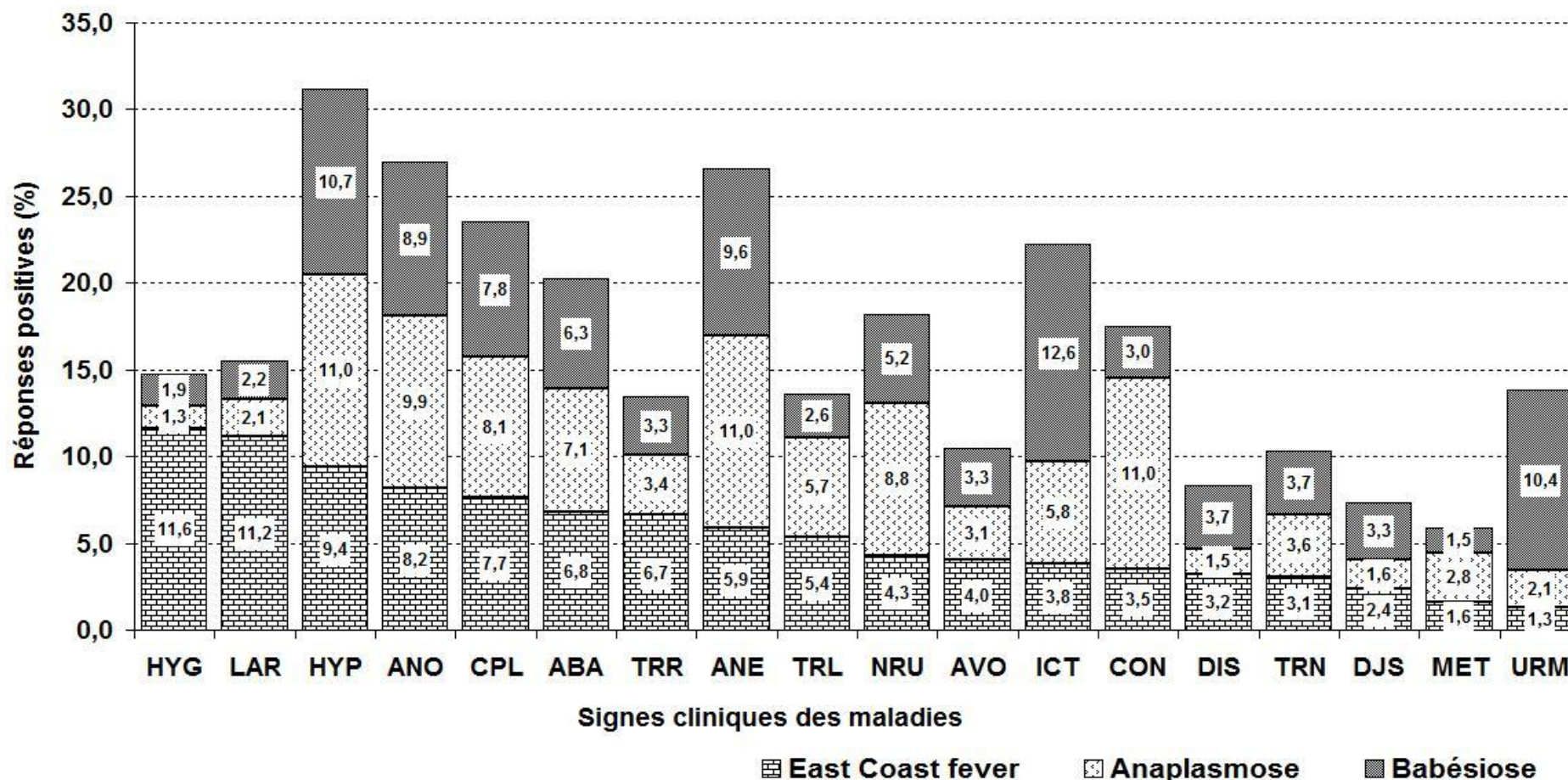


Figure 3.6 : Taux d'infestation par les tiques observé chez les bovins en cas de l'East Coast fever, anaplasmose et babésiose, d'après les vétérinaires enquêtés.



Légende : COA= Conque auriculaire (oreilles), REI= Région inguinale, FAN= Fanon, MAM= Mamelle, QUE= Queue, PER= Périnée, REA= Région anale, CHI= Chignon, ENC= Encolure, MEM= Membres, PLL= Pli de l'aine, FAC= Face, ABD= Abdomen, FLC= Flanc.

Figure 3.7 : Sites de fixation des tiques sur les bovins élevés au Nord-Kivu, d'après les vétérinaires interrogés

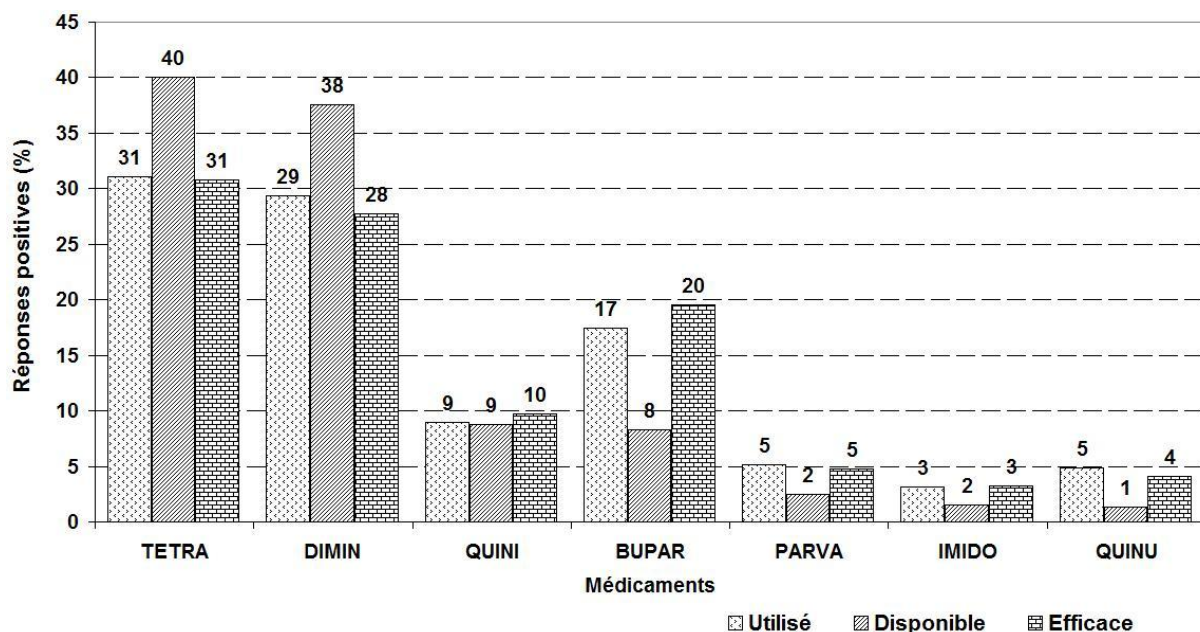


Légende : HYG= Hypertrophie ganglionnaire, LAR= Larmoiement, HYP= Hyperthermie, ANO= Anorexie, CPL= Chute de production laitière, ABA= Abattement, TRR= Troubles respiratoires, ANE= Anémie, TRL= Troubles locomoteurs, NRU= Non rumination, AVO= Avortement, ICT= Ictère, CON= Constipation, DIS= Diarrhée sanguinolente, TRN= Troubles nerveux, DJS= Diarrhée à jet avec anus serré, MET= Météorisation, URM= Urines rouges et mousseuses.

Figure 3.8 : Signes cliniques observés en cas de l'East Coast fever , anaplasmosis et babésiose, d'après les vétérinaires interrogés

Traitement des maladies et méthode de contrôle des tiques

La plupart des vétérinaires interrogés ont rapporté que des méthodes classiques de contrôle des tiques et des maladies transmises par les tiques sont utilisées dans la plupart des troupeaux du Nord-Kivu et tous les frais de traitement sont à charge de l'éleveur. Parmi les médicaments utilisés dans le traitement des maladies à tiques, les tétracyclines (Terramycine®, Auréomycine®) et le diminazène (Bérénil®, Ganasag®, Trypasen®, Veriben®) ont été signalés comme « *médicaments essentiels* » c'est-à-dire les plus utilisés et disponibles sur le marché local, à un prix abordable. Ils ont été jugés relativement efficaces contre les maladies concernées par l'enquête (**Figure 3.9**). Les vétérinaires qui ont déjà utilisé la Buparvaquone (Butalex®) et la Parvaquone (Clexon®) ont confirmé que ces médicaments sont plus efficaces contre l'ECF, mais ils ne sont pas disponibles sur le marché vétérinaire local et les éleveurs n'acceptent pas souvent leur utilisation à cause de leur prix très élevé. Les mêmes observations ont été signalées pour l'Imidocarbe (Carbesia®, Imizol®) et le Quinuronium (Acaprine®, Zothélone®) contre les babésioses et l'anaplasmose.



Légende : TETRA = Tétracyclines (Terramycine®, Auréomycine®), DIMIN= Diminazène (Bérénil®, Ganasag®, Trypasen®, Veriben®), QUINI= Quinine (Quinan®), BUPAR= Buparvaquone (Butalex®), PARVA= Parvaquone (Clexon®), IMIDO= Imidocarbe (Carbesia® ; Imizol®), QUINU= Quinuronium (Acaprine®, Zothélone®)

Figure 3.9 : Les médicaments utilisés contre les trois maladies vectorielle: leur disponibilité au Nord-Kivu et efficacité, d'après les vétérinaires interrogés.

En ce qui concerne le contrôle des tiques, sur les 124 réponses des vétérinaires, 116 (93,5%) ont confirmé que l'application d'acaricides est régulière dans leurs clientèles et 8 (6,5%) ont répondu que le traitement contre les tiques est irrégulier et ne s'effectue que quand l'éleveur possède des moyens d'acheter l'acaricide. Le traitement des animaux contre les tiques se fait le plus souvent par aspersion, mais dans certains villages (ou groupements agropastoraux) les éleveurs réunissent plus de 1000 bovins pour l'utilisation d'un bain acaricide.

Quatre produits acaricides à savoir l'amitraz (Tactic®), l'ivermectine (Ivomec®), la deltaméthrine (Butox®) et la fluméthrine (Bayticol®) sont considérés comme « *acaricides essentiels* » en raison de leur utilisation élevée (**Tableau 3.5**). Leur efficacité a été perçue comme satisfaisante, à l'exception de l'amitraz (Tactic®) qui semble inefficace contre les tiques locales par rapport aux autres acaricides utilisés. Mais les origines et par conséquent la qualité de ces produits ne sont pas contrôlées. Ceci pourrait être responsable de variations dans l'activité acaricide.

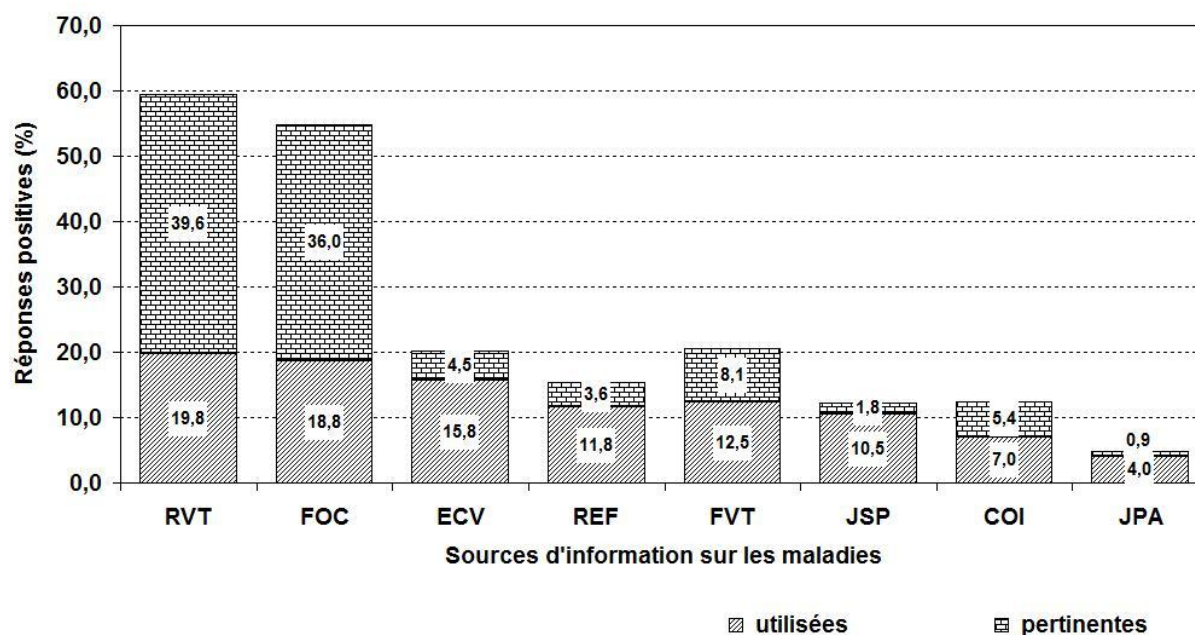
Tableau 3.5: Les produits acaricides utilisés contre les tiques dans la Province du Nord-Kivu, d'après les vétérinaires ayant répondu au questionnaire d'enquête.

Familles	Produits	Nom déposés	Utilisation	Disponible	Non disponible	Efficace	Non efficace
Organochlorés	Hexachlorohexane	Lindane®	6	0	6	3	3
	Toxaphène	Coopertox®	4	4	0	3	1
Organophosphorés	Chlorphenvinphos	Supona®	16	14	2	15	1
		Supadip®	6	6	0	6	0
		Steladone®	2	1	1	2	0
	Dimpygal	Diazinon®	16	11	4	13	2
	Coumaphos	Asuntol®	15	6	8	13	1
Carbamates	Carbaryl	Baygon®	5	1	4	2	2
Pyréthroïdes	Deltaméthrine	Butox®	45	27	13	37	2
		Vectocid®	9	8	1	7	1
	Fluméthrine	Bayticol®	37	22	15	33	3
	Alphacyperméthrine	Renegade®	7	4	3	7	0
	Perméthrine	Stomoxine®	1	1	0	1	0
Formamidine	Amitraz	Tactic®	57	38	16	43	11
Lactones macrocycliques	Ivermectine	Ivomec®	55	34	19	52	0
Total			281	177	92	237	27

Cependant, le prix de ces acaricides sur le marché vétérinaire au Nord-Kivu n'est pas abordable pour la plupart des éleveurs, ce qui incite certains éleveurs à utiliser des plantes médicinales locales dans le contrôle des tiques. Les vétérinaires interrogés ont cité notamment la plante *Tephrosia vogelii* Hook de la famille des *Fabaceae* connue dans la région sous le nom « *Umurukuruku* » à Kinyarwanda ou « *A'maseghese* » à Kinande, « *Kibaazi ou Mtupa* » à Swahili ou « *Vogel's Tephrosia ou Fish-poison bean* » en Anglais. Ces appellations font allusion à l'empoisonnement des poissons par cette plante.

Sources d'information sur les maladies et avis des vétérinaires

Parmi les différentes sources d'information utilisées pour se documenter sur les trois maladies vectorielles, les rencontres des vétérinaires et la formation continue (séminaires, études) ont été citées comme les sources les plus utilisées et constituent des sources les plus pertinentes (**Figure 3.10**). En fonction de leur expérience de terrain, les vétérinaires estiment qu'une stabilité des foyers d'enzootie de ces maladies est présente (**Figure 3.11**).



Légende : RVT= Rencontres avec d'autres vétérinaires, FOC= Formation continue (séminaires, et études), ECV= Ecole vétérinaire, REF= Représentants firmes, FVT= Faculté vétérinaire, JSP= Journaux scientifiques sous format papier, COI= Consultation internet, JPA= Journaux et périodiques.

Figure 3.10 : Sources de documentation utilisées et pertinentes sur l'East Coast fever, anaplasmose et babésiose au Nord-Kivu, d'après les vétérinaires enquêtés

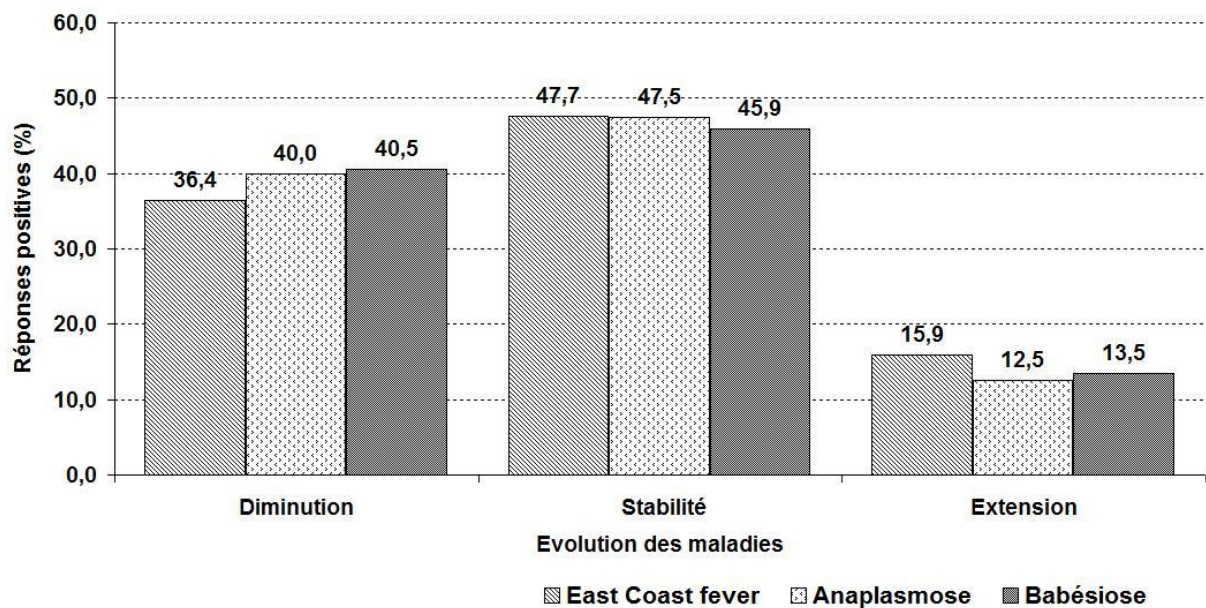


Figure 3.11 : Avis des vétérinaires enquêtés sur l'évolution de l'East Coast fever (n= 107), anaplasmosis (n= 80) et babésiose (n= 37) de 2005 à 2007 en fonction de leur expérience de terrain

Discussion et conclusions

L'objectif de cette enquête était de recueillir des informations auprès des vétérinaires cliniciens sur la situation épidémiologique antérieure des trois principales maladies transmises par les tiques : l'East Coast fever (ECF), l'anaplasmosis et la babésiose bovines au Nord-Kivu. Le taux de réponses positives à l'enquête était de 12%. Ce taux est conforme à ce qui est attendu pour ce type d'enquête (Dufour, 1994). Toutefois, la répartition des vétérinaires interrogés n'était pas homogène et ce biais de sélection était attribuable à la méfiance des vétérinaires sollicités en période de guerre. Aucune réponse n'a été signalée dans le territoire de Walikale pour la simple raison que l'élevage n'y est pas développé à cause de la guerre qui a décimé le peu de cheptel bovin qui y existait. En outre, l'enclavement de ce territoire entraîne l'inaccessibilité des éleveurs aux vétérinaires et rend difficile le contrôle des maladies transmises par les tiques et de la trypanosomose (Bureau de Coordination des Affaires Humanitaires des Nations Unies, OCHA, 2005).

Parmi les nombreuses contraintes rencontrées dans l'élevage des bovins du Nord-Kivu, les trois maladies à tiques ont été reconnues comme les plus importantes car causant des

mortalités élevées et induisant un coût très élevé lié au contrôle des tiques et au traitement des cas cliniques, ce qui est en accord avec des enquêtes conduites dans d'autres pays d'Afrique orientale (Swai *et al.*, 2005 ; Ohaga *et al.*, 2007 ; Chenyambuga *et al.*, 2008).

Dans la présente étude, l'ECF est classée comme la plus fréquente (49%) par rapport à l'anaplasmose (36%) et à la babésiose (15%). Des observations similaires ont été rapportées à l'Est de la République Démocratique du Congo (Makumyaviri et Mwilambwe, 1998 ; Makumyaviri et Walemba, 2000), en Ouganda (Mugisha *et al.*, 2005), en Tanzanie (Swai *et al.*, 2007 ; 2009) et au Kenya (Okuthe et Buyu, 2006).

L'état d'endémie de l'ECF et des autres maladies transmises par les tiques dans la Province du Nord-Kivu est expliqué par quatre facteurs :

□ Le premier facteur est liée l'infestation très élevée des animaux par les tiques qui a eu pour conséquence l'observation des maladies concernées sur toute l'année. Cette situation est bien expliquée par l'uniformité des conditions climatiques (température et humidité) dans la région qui est très favorable à l'activité élevée des tiques avec une charge de 10 à 50 tiques / bovin. Cette charge est suffisante pour entretenir l'endémicité des maladies suite à la transmission chez les tiques vectrices d'une manière transovarienne pour les pathogènes comme *Anaplasma* spp. et *Babesia* spp. et transstadiale pour *Theileria* spp. (Ashford *et al.*, 2001 ; Taylor *et al.*, 2008). Par contre, l'altitude a été citée comme facteur limitant l'existence des maladies à tiques et peu de cas cliniques sont observés dans des zones les plus élevées (> 1850 m d'altitude) ;

□ Le deuxième facteur est le risque plus élevé de contracter des maladies dans les troupeaux situés dans des zones boisées ou à proximité des réserves naturelles comme la forêt équatoriale, la savane boisée du Graben et les parcs nationaux de Virunga et de Maïko. Cette observation des vétérinaires est expliquée par le fait que ces milieux hébergent des animaux sauvages, hôtes réservoirs des tiques vectrices d'agents pathogènes concernés par cette étude (Ashford *et al.*, 2001 ; Sonenshine *et al.*, 2002) et plus particulièrement la tique *R. appendiculatus*, vectrice de *T. parva*. En effet, l'intrusion des buffles (*Syncerus caffer*) a été observée dans certains troupeaux de bovins localisés à la limite du parc national de Virunga dans la plaine bordée par la savane boisée du Graben en moyenne altitude.

□ Le troisième facteur est représenté par une susceptibilité élevée des maladies chez les animaux importés au sein des troupeaux et chez les animaux croisés. Ces derniers animaux sont reconnus comme très sensibles aux maladies transmises par les tiques (Ashford *et al.*, 2001 ; Ndungu *et al.*, 2005 ; Oura *et al.*, 2005). Bien que les animaux importés soient considérés par les vétérinaires comme les plus susceptibles de contracter les trois maladies vectorielles, l'importation ne constitue un facteur de risque majeur que si les animaux proviennent des zones indemnes vers les zones contaminées. Cependant, les animaux importés peuvent être des sources d'introduction des tiques et/ou d'agents pathogènes dans un troupeau (Okello-Onen *et al.*, 1994 ; Olwoch *et al.*, 2008). Cette situation est bien expliquée au Nord-Kivu par le système d'élevage, caractérisé par des mouvements d'animaux sans aucune mesure de contrôle des tiques pendant la guerre (Soheranda et Ndungu, 2002) ou pour des raisons de rotation des pâturages, de transfert des animaux aux abattoirs ou d'emprunt des mâles reproducteurs (Byavu *et al.*, 2000).

□ Le quatrième facteur épidémiologique rapporté par les vétérinaires interrogés est l'âge des animaux atteints par les maladies. La sensibilité très élevée des veaux à l'ECF a été rapporté dans plusieurs études (Norval *et al.*, 1992 ; Okello-Onen *et al.*, 1998 ; Gitau *et al.*, 2000) et il est établi que l'immunité humorale n'est pas protectrice contre l'ECF (Morzaria *et al.*, 2000). L'animal ne peut acquérir une protection solide et durable que lorsqu'il a survécu à une infection primaire (Medley *et al.*, 1993). L'ECF se caractérise aussi par une morbidité et une mortalité très élevées à l'âge de la primo-infection chez les veaux (Perry et Young, 1995 ; Morel, 2000). Par contre, la résistance très élevée des jeunes bovins (jusqu'à 12 mois d'âge) contre les formes cliniques d'anaplasmose et de babésiose bovines est attribuée, notamment, à l'activité élevée des anticorps d'origine colostrale (Morel, 2000). La faible mortalité en cas d'anaplasmose et de babésiose chez les animaux adultes est sans doute liée à l'intervention thérapeutique rapide lors de suspicion de ces maladies comme c'est le cas en Angola (Gomes *et al.*, 1991).

Au cours de cette enquête, les vétérinaires interrogés ont signalé que l'infestation des animaux par les tiques était plus élevée au niveau des oreilles qu'au niveau des autres régions anatomiques, ce qui semble confirmer la prévalence élevée de l'ECF. Il s'agit sans doute de la tique *Rhipicephalus appendiculatus*, principal vecteur de *Theileria parva* dans la région et ailleurs (Ashford *et al.*, 2001 ; Walker *et al.*, 2003 ; Taylor *et al.*, 2008). Sa présence a été rapportée dans une étude à l'Est de la République Démocratique du Congo sur les plateaux

d'Itombwe au Sud-Kivu avec un taux de 57,2% (n=339 tiques identifiées) (Makumyaviri et Habimana, 1993).

Cependant, il est à noter que le seul diagnostic clinique utilisé par les vétérinaires ne permet pas de différencier l'anaplasmose de la babésiose bovine. Ces deux maladies présentent généralement les mêmes symptômes dans leur forme aiguë, alors que la reconnaissance de l'ECF est facilitée par le gonflement des ganglions parotidiens et préscapulaires. Le recours au laboratoire (sérologie, frottis sanguin) constitue donc l'unique méthode pour poser un diagnostic différentiel fiable et précoce permettant de déterminer les prévalences exactes de ces maladies au Nord-Kivu, en particulier l'anaplasmose et la babésiose.

Au niveau curatif, le traitement des maladies par le diminazène (Bérénil®, Ganasag®, Trypasen®, Veriben®) et des tétracyclines (oxytétracycline, chlortétracycline) est liée à leur disponibilité suffisante et leur prix abordable sur le marché vétérinaire local (Katamuliko et Mulumemuvi, 2004). Leur efficacité est cependant relative car ils nécessitent un traitement de longue durée (4 à 6 jours) à des doses élevées (5 et 15 à 20 mg/kg en IM). Plusieurs auteurs ont recommandé plutôt la Buparvaquone (Butalex®) contre l'ECF et l'imidocarbe (Carbesia®, Imizol®) contre l'anaplasmose et la babésiose en raison de leur activité à la fois curative et préventive à de faibles doses (1 à 4 mg/kg en IM ou SC) en une seule injection et de leur relativement faible toxicité (index thérapeutique : 2 à 5 fois la dose normale) (Todorovic *et al.*, 1973; Kuttler *et al.*, 1975; Kuttler, 1981). Néanmoins, leur disponibilité au Nord-Kivu doit être améliorée et leur coût nécessite aussi d'être évalué dans des études à caractère zootechnique et économique.

Parmi les produits acaricides « essentiels » au Nord-Kivu, l'application des pyréthriinoïdes tels que la fluméthrine 1% (Bayticol®) et la deltaméthrine (Butox®) est effectivement recommandée à la suite de leur effet de coup de poing (« knock-down »), leur faible toxicité chez les animaux, leur écotoxicité faible et leur effet acaricide élevé. De plus, ces produits sont faciles à utiliser en application cutanée (pour-on) (Morel, 2000 ; Euzeby *et al.*, 2005). Les produits utilisés en aspersion ou en balnéation tels que le Diazinon et le Chlorfenvinphos présentent aussi une efficacité élevée contre les tiques alors que l'activité des produits injectables comme l'ivermectine (Ivomec®) ne porte que sur les tiques à un hôte comme *Rhipicephalus (Boophilus) spp.* (Euzeby *et al.*, 2005).

L'utilisation des extraits des plantes comme *Tephrosia vogelii* dans le contrôle des tiques au Nord-Kivu constitue évidemment une méthode alternative dans le contexte socio-économique

local (Kasonia et Yamalo, 1994 ; Byavu *et al.*, 2000). En outre, les produits acaricides de bonne qualité ne sont pas disponibles, leurs origines ne sont pas contrôlées et leur prix est très élevé sur le marché vétérinaire local. Cependant, l'effet acaricide de *T. vogelii* et son mode d'emploi doivent être précisés.

Les rencontres entre vétérinaires et la formation continue sont des sources d'information qui doivent être exploitées pour améliorer les connaissances sur les maladies transmises par les tiques. Par contre, l'évolution stable des maladies évoquée par les vétérinaires semble être liée à la guerre qui a décimé plus de la moitié du cheptel bovin au Nord-Kivu, les cas cliniques ont alors diminué. Avant la guerre (1996), l'effectif de bovins du Nord-Kivu était estimé à plus de 450.000 têtes (Mararo, 2001). Au début de cette enquête (décembre 2007), la population estimée de bovins était de 128.025 (Source : Ministère Provincial de l'Agriculture, pêche et élevage, AGRIPPEL, 2010). Une étude sur l'impact zootechnique et socio-économique des maladies concernées par cette enquête déterminera la capacité de prise en charge des animaux malades par les éleveurs et précisera les conditions d'amélioration de l'usage des moyens thérapeutiques. Les études acarologiques et sérologiques permettront de déterminer le statut épidémiologique réel des maladies.

Remerciements :

Les auteurs de ce document présentent toute leur gratitude à la Coopération Technique Belge (CTB) pour sa contribution matérielle. Ils remercient vivement les vétérinaires ayant participé à l'enquête et les inspecteurs vétérinaires de la Province du Nord-Kivu, les Présidents des associations des vétérinaires ainsi que les tenanciers des pharmacies vétérinaires. Ces derniers ont facilité les contacts avec les vétérinaires praticiens au cours de l'enquête.

Chapitre 4

Identification des tiques (Acari : *Ixodidae*) et séroprévalence vis-à-vis de *Theileria* *parva* chez les bovins élevés au Nord-Kivu, République Démocratique du Congo.



Récoltes des tiques sur les animaux (A & B), dans l'environnement (C) et collecte des échantillons sanguins pour sérologie (D)

Préambule et présentation synoptique

Les résultats de l'enquête auprès des vétérinaires du Nord-Kivu (**Chapitre 3**) ont permis d'identifier les zones à risques des trois principales maladies transmises par les tiques : l'East Coast fever (ECF), l'anaplasmose et à la babésiose bovine. Dans le classement de ces maladies, l'ECF a été perçue comme la plus fréquente chez les troupeaux de bovins de la province. La présence de l'ECF et des autres maladies est influencée par des facteurs comme (i) l'activité élevée des tiques vectrices, (ii) l'insuffisance dans le diagnostic précoce des maladies et (iii) l'insuffisance dans le contrôle des tiques et le traitement des cas cliniques. Ainsi, la connaissance de la distribution agro-écologique de la tique *Rhipicephalus appendiculatus* en particulier et de l'infection à *T. parva* est une étape fondamentale dans l'évaluation de l'impact de l'ECF dans la région et permettrait une meilleure planification du contrôle de cette maladie.

Cette étude présente une vue ponctuelle au cours de la petite saison des pluies (de février à avril 2009) sur la distribution agro-écologique des tiques et la séroprévalence de l'infection à *T. parva* chez les animaux élevés au Nord-Kivu. Les modes de contrôle des tiques ont été aussi évalués. L'étude a été conduite dans deux zones agro-écologiques identifiées sur base de certains critères comme l'altitude et la latitude : les zones de moyenne (1000 à 1850 m ; 0°7' à 0°8' latitude Nord) et de haute (> 1850m ; 0°9' à 0°40' latitude Sud) altitude. La présence de conditions climatiques (température et pluviométrie) particulières dans chacune des zones agro-écologiques influencent l'abondance des tiques et par conséquent, le niveau d'exposition des animaux aux infections transmises par ces vecteurs. Nos travaux ont fourni, pour la première fois, des informations sur la présence et la distribution des tiques dans la région concernée. La relation entre la présence de la tique *R. appendiculatus* sur les animaux et la séropositivité à *T. parva* dans les troupeaux y a été déterminée. De même, l'influence des méthodes de contrôle des tiques sur la prévalence des tiques et la séropositivité à *T. parva* a été précisée.

Parmi les tiques rencontrées, *R. appendiculatus* (64,26%) était l'espèce la plus fréquente suivie par *R. decoloratus* (35,49%). Cette dernière espèce est responsable de la transmission de l'anaplasmose et de la babésiose bovines. *Amblyomma variegatum*, la tique vectrice de la cowdriose bovine en Afrique centrale et orientale était peu représentée (0,25%). La

prévalence très élevée de la tique *R. appendiculatus* confirme que l'ECF est la maladie la plus fréquente dans la région d'étude et corrobore les résultats de l'enquête auprès des vétérinaires. La séropositivité à *T. parva* a été significativement plus élevée chez les troupeaux traités par aspersion par rapport aux troupeaux traités à la même fréquence par balnéation, ce qui suggère que le mode de contrôle des tiques influence la prévalence de *R. appendiculatus* sur les animaux et par conséquent, le taux de l'infection à *T. parva*.

La séropositivité globale vis-à-vis de *T. parva* était de 43% (IC 95%: 38-47) et aucune différence significative ($P > 0,05$) de séropositivité des animaux n'a été observée entre les zones de moyenne (48,4% ; IC95%= 38-49%) et de haute (41,9% ; IC95% = 35-49%) altitudes. Cette séropositivité assez faible (< 70%) suggère qu'il existe un état d'instabilité endémique de l'ECF dans la région d'étude. Cependant, la séroprévalence à *T. parva* n'est pas le seul critère permettant de déterminer l'état épidémiologique de l'ECF dans une région. Des indicateurs tels que l'abondance saisonnière de *R. appendiculatus*, l'incidence clinique de l'ECF, la dynamique de transmission de l'infection à *T. parva* et l'âge au premier contact avec l'infection fourniraient des informations beaucoup plus précises sur le statut épidémiologique de l'ECF dans la région d'étude. Ces considérations ont suggéré la nécessité de réaliser une étude longitudinale pour caractériser l'état épidémiologique réel vis-à-vis de l'ECF. La détermination des taux de portage par *T. parva* chez les tiques *R. appendiculatus* permettrait d'évaluer le niveau exact de transmission de l'infection chez les animaux.

Présentation détaillée

Identification of hard ticks (Acari: *Ixodidae*) and seroprevalence to *Theileria parva* in cattle raised under an extensive farming system in North-Kivu Province, Democratic Republic of Congo.

Moïse K. Kalume . Claude Saegerman . Daniel K. Mbahikyavolo . Alexis M. Makumyaviri .
Tanguy Marcotty . Maxime Madder . Yannick Caron . Laetitia Lempereur . Bertrand Losson *

M.K. Kalume . D.K. Mbahikyavolo . A.M. Makumyaviri
Faculty of Veterinary Medicine, Catholic University of Graben, B.P. 29 Butembo, North-Kivu
Province, Democratic Republic of Congo

C. Saegerman
Research Unit in Epidemiology and Risk Analysis applied to the Veterinary Sciences (UREAR),
Department of infectious and Parasitic Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of
Liège, Boulevard de Colonster, 20, B42 Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium

T. Marcotty . M. Madder
Animal Health, Institute of Tropical Medicine, Nationalestraat 155, B-2000 Antwerp, Belgium
and Department of Veterinary Tropical Diseases, Faculty of Veterinary Science, University of
Pretoria, Private Bage X04, Onderstepoort 0110, South Africa

Y. Caron . L. Lempereur . B. Losson
Laboratory of Parasitology and Parasitic Diseases, Department of Infectious and Parasitic
Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Boulevard de Colonster, 20, B43
Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium

* **Corresponding author** Bertrand Losson

Laboratory of Parasitology and Parasitic Diseases, Department of Infectious and Parasitic
Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Boulevard de Colonster, 20, B43
Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium

Tel.: + 32 (0)4 366 40 90 ; Fax. : + 32 (0)4 366 40 97 ; E-mail address: blosson@ulg.ac.be

Submitted to Parasitology Research

Abstract

This study aimed to identify the tick species and to determine their relationship with the *Theileria parva* seroprevalence in cattle raised under an extensive farming system in North-Kivu Province, Democratic Republic of Congo in two agro-ecological zones namely medium (1000-1850m) and high (> 1850m) altitude. Among the 3215 ticks collected on 482 animals, from February to April 2009, *Rhipicephalus appendiculatus* (64.26%), the main vector of *Theileria parva*, was the most abundant species followed by *Rhipicephalus decoloratus* (35.49%) and *Amblyomma variegatum* (0.25%). The mean burden of *Rhipicephalus appendiculatus* tick per infested animal appeared significantly higher at medium (6.5 ± 0.22 ticks) than at high (0.07 ± 0.3 ticks) altitude ($P < 0.05$). However, an indirect fluorescent antibody test carried out on 450 blood samples revealed a global *Theileria parva* seroprevalence of 43% (95% CI 38-47) which was not significantly ($P > 0.05$) differ between medium (48.4%; 95% CI 38-49) and high (41.9%; 95% CI 35-49) altitude. These relatively low seroprevalences suggest that there is a state of endemicity to *Theileria parva* infection in the study area. The results suggest the need for a longitudinal study to investigate the seasonal dynamics of tick species and *Theileria parva* infection. The rate of tick infection should also be evaluated in order to determine the intensity of *Theileria parva* transmission to cattle.

Keywords: hard ticks, *Rhipicephalus appendiculatus*, bovine, *Theileria parva*, North-Kivu.

Introduction

In veterinary medicine, hard ticks are major vectors of many important cattle diseases (Sonenshine et al. 2002; Ashford et al. 2001). Studies provided information on the presence of tick in cattle livestock of the Democratic Republic of Congo (DRC) (Lessard et al. 1990 ; Makumyaviri and Habimana 1993), ticks belonging to the genus *Rhipicephalus* being the most abundant (Makumyaviri and Mwilambwe 1998). Indeed, climatic (high mean temperature and rainfall) and ecological conditions (extensive breeding, presence of wild animals, luxuriant vegetation all year round) prevailing in DRC are optimal for *Rhipicephalus appendiculatus*, *R. duttoni* and *R. decoloratus* (Norval et al. 1992).

A preliminary survey on three tick-borne diseases in North-Kivu carried out among veterinarians working in large animal practices revealed that the perceived prevalence of East Coast fever (ECF) (49%) was higher than those for anaplasmosis (36%) and babesiosis (15%) (Kalume et al. 2009). This survey indicated also that the tick burden was fluctuating between 10 and 50 ticks per animal. However a relatively low tick burden (<10 ticks /animal) was recorded in animals with a suspicion of ECF. Buparvaquone (Butalex®) and Parvaquone (Clexon®, Parvaxone®) were used to treat ECF cases (Dolan 1986; Mbwambo et al. 2002; Mbwambo et al. 2006). However these drugs were expensive and not readily available in North-Kivu. Thus, control of tick-borne diseases is difficult to achieve in this province.

The present study aimed to: (i) identify ticks present on cattle and their pastures in North-Kivu, (ii) study their distribution in two different agro-ecological zones (medium and high altitude) and (iii) estimate the *T. parva* seroprevalence. These information are crucial in order to set up appropriate strategies for tick control and consequently of tick-borne diseases, ECF in particular.

Materials and methods

Study area

The study was carried out during the short rainy season (February-April 2009). The different cattle herds located in the Lubero and Beni territories, North-Kivu province (longitude 29°12' to 29°17' East and latitude 0°8' N to 0°40'S) (**Figure 4.1**) were visited once.

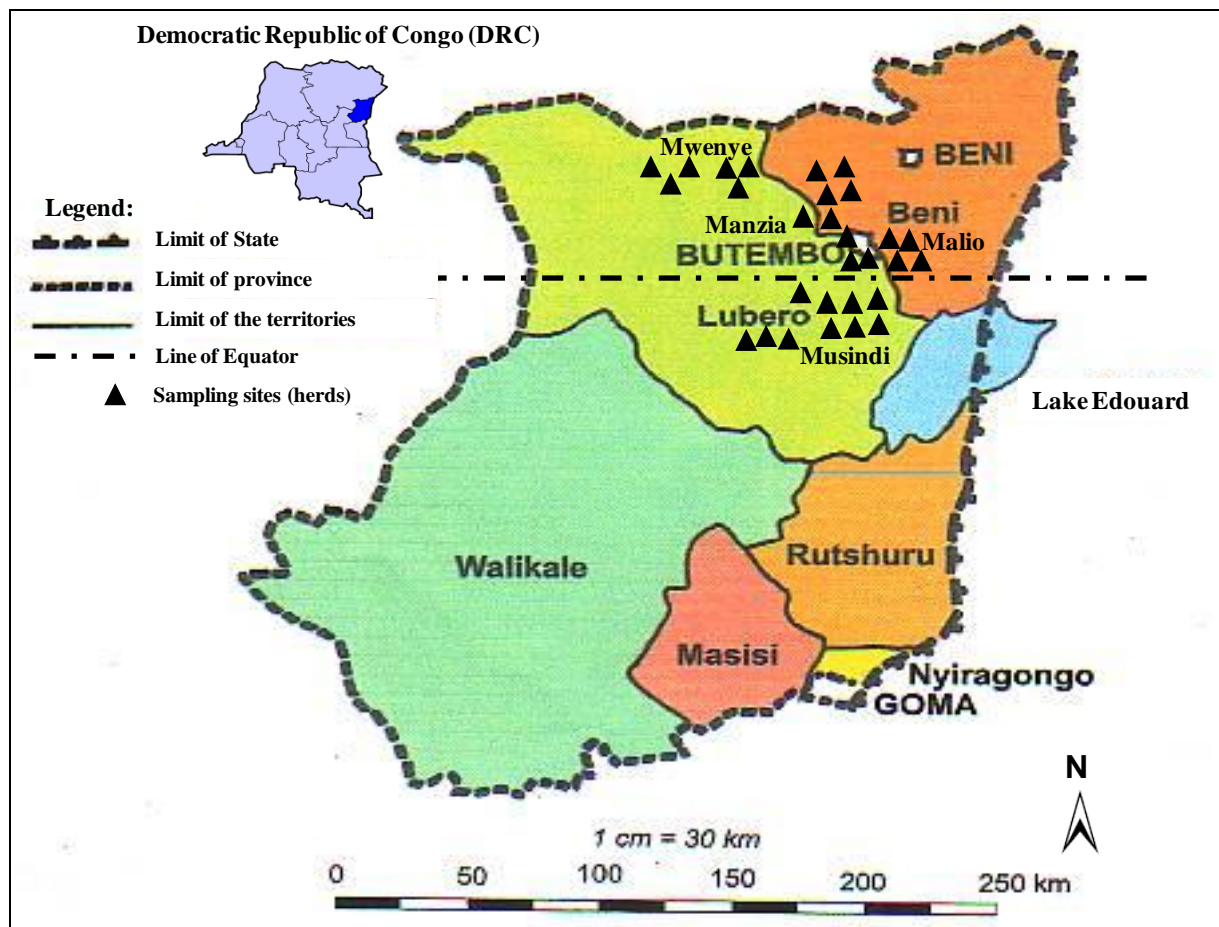


Figure 4.1: Map of North-Kivu Province showing territories limits, villages visited and sampling sites (n = 29 herds)

At the time of the study, an estimated cattle population in the two territories was of 104,336 in 3478 herds. These territories were selected because they were relatively secure and easy to reach by road. They include two different agro-ecological zones (AEZ) separated by the equator line : a zone at medium altitude (1000 -1850 m above sea level - latitude 0°7' to 0°8' North) and a zone at high altitude (> 1850 m above sea level - latitude 0°19' to 0°40' South). Meteorological data recorded from the nearest meteorological station between January and April 2009 were as follows: mean temperatures at medium and high altitudes reached 19.4 and 17.4 °C respectively whereas mean monthly rainfalls at medium altitude (256.5 mm) were higher than at high altitude (144 mm) (**Table 4.1**).

Table 4.1. Weather data recorded at the stations of the Technical Agro-Veterinary Institute (ITAV / Butembo, Northern latitude) and of the Centre for Improved Seeds Production (CAPSA / Luoto, Southern latitude).

Month	Medium altitude (1000-1850m; Northern latitude)				High altitude (> 1850m; Southern latitude)			
	Temperature (°C)		Rainfall (mm)	Relative Humidity (%)	Temperature (°C)		Rainfall (mm)	Relative Humidity (%)
	Min.	Max.			Min.	Max.		
Jan- 09	12.8	27.0	238.6	90.7	12.6	22.8	153	84.2
Feb- 09	12.2	27.3	308.6	89.2	12.5	21.8	208.2	82.7
Mar- 09	13.0	24.5	175.4	88.4	12.8	22.6	138.4	81.4
Apr- 09	13.5	24.4	303.2	85.2	12.5	21.9	76.2	81.1
Average	12.9	25.8	256.5	88.4	12.6	22.3	144.0	82.4

Cattle herds and management

The sample size was determined according to the method described by Martin et al. (1987) : $n = [1,96^2 \times p(1-p)]/L^2$, where 1.96 is the z value for the desired confidence level (95%), p was an estimated expected prevalence of infection and L was the tolerable error. As the antibody prevalence to *T. parva* in the study area was not known *a priori*, a 50% prevalence was assumed and a 5% tolerable error used. A previous study on breeding practices and land management reported an average herd size between 15 and 20 heads (Mararo, 2001). Consequently, 26 herds (totalizing at least 390 cattle heads) were considered as the minimal sample size. The herds were enrolled through a stratified randomization method and the final sample size resulted from the number of eligible animals available in each herd.

The data pertaining to animal numbers and herds localization were obtained from the offices of veterinarian surgeons responsible for Agriculture, Livestock and Fisheries (AGRIPEL) in Lubero and Beni territories. Three main criteria were retained for the selection of enrolled herds: (i) the accessibility of the herds (insecure areas being excluded) and the occurrence of ECF in cattle (Kalume et al. 2009), (ii) a minimal herd size of 15 cattle of both sexes and of at least 12 months to eliminate the confounding effect of colostral antibodies (Gitau et al. 1999), and (iii) the availability of a crushpen to restrain and sample the animals.

Twenty nine herds totalizing 482 cattle heads participated to the study: 19 (315 heads) and 10 (167 heads) herds were located at medium and high altitude respectively. In a first step all

villages (defined as agropastoral groups) meeting the first selection criteria were classified as follows: Malio, Musindi, Mwenye and Manzia villages and Butembo town. Next, 2 to 4 herds were selected randomly from each village in order to have at least 10 herds in each agroecological zone (medium versus high altitude). In a final step about 50% of the animals belonging to each selected herd was examined and sampled. Tick collection and blood sampling were performed once in each herd during the study period. In two herds located at medium altitude the animals could not be restrained properly and ticks only were collected from animals, during milking. Consequently, in this agroecological zone, blood was collected from 17 herds (283 cattle heads) instead of 19. All animals were of cross-breed (Ankole or Zebu crossed with European breeds). In many herds a control scheme against ticks and tick-borne diseases was applied. Under such circumstances acaricides are usually applied on a weekly basis by spraying or dipping. The availability and the cost of the different products are the main selection criterias.

Tick collection and identification

In each participating herd, at least 15 cattle were examined and all attached ticks (3215 ticks) were collected by manual extraction and grouped according to the anatomical site of collection (ears, head, neck and dewlap, upper and lower-perineum, belly and legs, tail). Ticks were stored in 70% alcohol. The age, breed and sex were also recorded as well as any additional useful information such as intercurrent disease, recent acaricide treatment and treatment against ECF. The identification of ticks was carried out at the Catholic University of Graben, Butembo, DRC according to Walker et al. (2003). A sample of 100 ticks underwent a second identification procedure for quality assurance at the Institute of Tropical Medicine (IMT) Antwerp, Belgium by Dr Maxime Madder, who confirmed the results with 100% agreement.

Additionally, 4353 ticks were collected from the pastures used by the selected herds by flagging according to a standardized technique described by Short and Norval (1981a). The flag had a surface of 0.86 m² and was drawn over a distance of 200 m. Ticks were collected, preserved and identified as described above.

Blood sampling and serological examination

A total of 450 blood samples were collected from the tail vein of cattle from the 27 herds with could be restrained. At least 15 animals were sampled in each herd. Blood spots were

made on 22 mm diameter Whatmann n°4 filter papers. After drying at room temperature, the papers were stored at -70°C in air-tight bags containing silicagel. The indirect Fluorescence antibody test (IFAT) was performed according to Burrige and Kimber (1972). The *T. parva* schizont antigen was produced as described by Goddeeris and Morrison (1988). A titre > 1/160 was considered as positive.

Statistical analysis

The relationship between qualitative variables was analyzed using the Fisher exact test and the comparison between the means was carried out using the test of Welch (Dagnelie, 1998). *Theileria parva* seroprevalence was calculated as percentages of seropositive animals. A herd was considered positive if at least one animal was found positive in IFAT (Dohoo et al. 2003). Similarly a herd was considered infected by *R. appendiculatus* if at least one tick was collected on the animals. The density of ticks par square metre in the pastures was calculated by multiplying the number of ticks collected and the surface of the flag (0.86 m²) and divided by a predefined distance (200 m).

Results

Allocation of animals

The allocation of the 482 cattle heads within the different agropastoral groups is presented in **Table 2**. A majority (92.9%) of the animals were over 24 months of age. Most of them were females (97.1%). Two third and one third of the herds were located at medium (1000-1850m) and high (>1850 m) altitude respectively.

Tick species and abundance

On animals

In total, 3215 ticks were collected from the animals (**Table 4.3**). *Rhipicephalus appendiculatus* was by far the most abundant species on cattle (64.26%) followed by

Rhipicephalus decoloratus (35.49%) and *Amblyomma variegatum* (0.25%). These tick species were not equally distributed in the two agro-ecological zones (AEZ) ($P < 0.001$). A higher proportion of ticks was collected at medium altitude when compared to high altitude (78.1% versus 21.9%). *Rhipicephalus appendiculatus* was the most abundant species at medium altitude (99.4%) whereas *R. decoloratus* predominated at higher altitude (60.7%).

The mean tick burden reached 7 ± 0.17 ticks per infected animal. Mean tick burden per infested animals appeared significantly higher at medium (8 ± 0.22 ticks) than at high (4.2 ± 0.3 ticks) altitude ($P < 0.001$). Furthermore at medium altitude, cattle sprayed at weekly intervals with acaricide had a significantly higher tick burden (9.8 ± 0.23) than cattle immersed in dipping tanks (2.6 ± 0.26) ($P < 0.05$).

Table 4.2: Distribution of the major characteristics of the 482 selected cattle in Lubero and Beni territories, North-Kivu province, Democratic Republic of Congo.

Variables	Levels	Frequency	Percentage
Age group (Months)	12 to 24	34	7.1
	> 24	448	92.9
Sex	Males	14	2.9
	Females	468	97.1
Agro-ecological zone	Medium altitude	315	65.4
	High altitude	167	34.6
Village (agropastoral group)	Malio	171	35.48
	Musindi	167	34.65
	Mwenye	86	17.84
	Butembo town	43	8.92
	Manzia	15	3.11
Tick control methods by acaricides	Spraying	270	56.0
	Dipping	212	44.0

Table 4.3: Identification and distribution of 3215 ticks collected from cattle raised in the territories of Lubero and Beni, North-Kivu province (DRC) in relation with the agro-ecological zones and tick control methods

Tick species	Variables	Levels	Number of examined animals	Number of ticks collected (%)	Ticks burden per infected animal $\pm 95\%$ CI
	Infested	Herds (n=29)	482	3215	7 \pm 0.17
<i>R. appendiculatus</i>	AEZ	MA	315	2054 (99.4)	6.5 ^a \pm 0.22
		HA	167	12 (0.6)	0.07 ^b \pm 0.30
<i>R. decoloratus</i>	AEZ	MA	315	448 (39.3)	1.42 ^a \pm 0.22
		HA	167	693 (60.7)	4.15 ^b \pm 0.30
<i>A. variegatum</i>	AEZ	MA	315	8 (100)	0.02 ^a \pm 0.22
		HA	167	0	0 ^b
	TCM	Spraying	270	2655 (82.6)	9.8 ^a \pm 0.23
		Dipping *	212	560 (17.4)	2.6 ^b \pm 0.26

AEZ= agro-ecological zones, TCM= Tick control methods by acaricide, MA= Medium altitude, HA= High altitude, * At high altitude dipping is not performed. The values with ^a and ^b differ significantly at a threshold of 5% for levels of each variable along the column.

At high altitude most animals were sprayed and consequently it was not possible to make any comparison. The anatomical site of collection had a significant effect on tick species composition regardless of the stage (adult/nymph) ($P < 0.0001$) (**Table 4.4**). The adult *R. appendiculatus* ticks were particularly abundant on the ears (91.2%) whereas the nymphs were found on the ears (41.3%) and the head (40.2%). No larvae of this species were found. In contrast, the adults of *R. decoloratus* were mostly found on the belly and the legs (73.5%). Nymphs of this species were located mainly on the neck and dewlap (68%) and larvae were found on abdomen-legs (50%) and neck-dewlap (36%) whereas a majority of the adult *A. variegatum* ticks were attached to the belly and legs (75%).

In the environment

In the pastures grazed by the studied herds, only the immature stages of *R. appendiculatus* (larvae and nymphs) and *R. decoloratus* (larvae) were collected by flagging (**Table 4.5**). A significantly higher proportion of pastures were successfully flagged at medium altitude when compared to high altitude ($P = 0.02$). Additionally the numbers of ticks collected from successfully flagged pastures were higher at medium altitude ($P < 0.001$). At high altitude only larvae of *R. decoloratus* were collected by flagging. Tick densities were higher alongside streams of water (13.8 ticks /m²) than near hedges used for fencing (4.9 ticks /m²).

Table 4.4: Tick distribution according to the different anatomical sites (n=3215)

Tick species	Stage	Total Tick number	Ears (%)	Face (%)	Neck-Dewlap(%)	Abdomen-legs (%)	Ano-génital (%)
<i>R. appendiculatus</i>	Adults	1974	1801 (91.2)	161 (8.2)	10 (0.5)	2 (0.1)	0
	Nymphs	92	38 (41.3)	37 (40.2)	17 (18.5)	0	0
<i>R. decoloratus</i>	Adults	1102	0	3 (0.3)	150 (13.6)	810 (73.5)	139 (12.6)
	Nymphs	25	0	0	17 (68.0)	6 (24.0)	2 (8.0)
	Larvae	14	0	1 (7.0)	5 (36.0)	7 (50.0)	1 (7.0)
<i>A. variegatum</i>	Adults	8	0	0	0	6 (75.0)	2 (25.0)
	Total (%)	3215	1839 (57.2)	202 (6.3)	199 (6.2)	831 (25.8)	144 (4.5)

Seroprevalence to *Theileria parva*

Results are presented in **Table 4.6**. A total of 450 blood samples were examined for specific antibodies to *T. parva*. A global seroprevalence of 43% (95% CI 38-47) was recorded. *Theileria parva* seroprevalence varied significantly across the different villages ($P < 0.05$). However, these seroprevalences did not differ between the AEZ ($P > 0.05$) with 43.5% (38-49) and 41.9% (35-49) at medium and high altitude respectively. At medium altitude, the sprayed herds had a significantly higher seroprevalence to *T. parva* (53.1%; 95% CI 44-61)

than the herds treated by dipping (35.3%; 95% CI 28-43) ($P < 0.05$). Dipping is not performed at high altitude and it was not possible to make any comparison.

Table 4.5: Number and density of ticks collected by flagging over a distance of 200 m in pastures grazed by cattle at medium (grass length > 12 cm) and high (grass length < 10 cm) altitudes in the territories of Lubero and Beni, Province of Nord-Kivu (flag surface = 0.86 m²)

Tick species	Stage	Variables	Levels	Total numbers of ticks	Density (ticks /m ²) ± 95% CI
		Pastures		4353	18.7 ± 0.06
<i>R. appendiculatus</i>	Larvae	AEZ	MA	1980	8.5 ^a ± 0,09
			HA	0	0 ^b
	Nymphs	AEZ	MA	1753	7.5 ^a ± 0.09
			HA	0	0 ^b
<i>R. decoloratus</i>	Larvae	AEZ	MA	413	1.8 ^a ± 0.19
			HA	207	0.9 ^b ± 0.27
		PNS	MA	3006	12.9 ^a ± 0.07
			HA	207	0.9 ^b ± 0.27
		PNH	MA	1140	4.9 ^a ± 0.11
			HA	0	0 ^b

AEZ= Agro-écological zones, PNS= plots near a stream, PNH= Plots near a hedge, MA= Medium altitude, HA= High altitude. The values with ^a and ^b differ significantly at a threshold of 5% for levels of each variable along the column.

Table 4.6: Seroprevalence to *Theileria parva* in relation with the different variables recorded in participating cattle herds in the territories of Lubero and Beni, North-Kivu Province.

Variables	Levels	Numbers of examined animals	Numbers of seropositive animals	Seroprevalence (%) [95% CI]
Presence of antibodies against <i>T. parva</i>	Herds (n=27)	450	193	42.9 [38-47]
Villages or agro-pastoral groups	Malio	168	78	46.4 ^a [39-54]
	Musindi	167	70	41.9 ^a [35-49]
	Mwenye	68	24	35.3 ^b [25-47]
	Town of Butembo	32	16	50.0 ^a [33-67]
	Manzia	15	5	33.3 ^b [15-59]
Agro-ecological zones	Medium altitude	283	123	43.5 ^a [38-49]
	High altitude	167	70	41.9 ^a [35-49]
TCM at medium altitude	Spraying	130	69	53.1 ^a [44-61]
	Dipping *	153	54	35.3 ^b [28-43]

TCM= Tick control method by acaricides ; * At high altitude dipping is not performed. The values with ^a and ^b are significantly ($P < 0.05$) different for levels of each variable along the column.

Discussion

The present study provides preliminary results on ticks and *T. parva* seroprevalence in North-Kivu an Eastern province of the DRC. Although cross sectional studies are not powerful at showing cause-effect relationships (Dohoo et al. 2003), this study provides nevertheless useful information on the distribution of different tick species feeding on cattle in the study area and the seropositivity to *T. parva*.

The 482 animals were enrolled in 29 herds distributed into two main AEZ (medium versus high altitudes) and most of them were females (97.1%). This is due to the fact that males are usually slaughtered before 12 months of age. Moreover, one third of the herds were enrolled at high altitude because most of farmers who were contacted for participate to the study did not accept visits due to insecurity in this zone.

The fact that *R. appendiculatus* was the most abundant tick species (64.26%) is in agreement with previous works carried out in Eastern DRC in the Province of South-Kivu (57.2%) (Makumyaviri and Habimana 1993), in Rwanda (96%) (Nshimiyimana and Mutandwa 2010) and in Uganda (50.47%) (Rubaire-Akiiki et al. 2004). However, a marked difference between the tick distributions was found in the AEZ. Indeed at medium altitude, *R. appendiculatus* is by far the most abundant tick (99.4%) whereas at higher altitudes *R. decoloratus* predominates (60.7%). *Amblyomma variegatum* thrives in savannahs of semi-arid or humid tropical areas (Yeoman and Walker 1967). A few individuals of this species were observed in a single herd of cattle at medium altitude. The species was not found at higher altitude which confirms previous studies carried out in Rwanda at altitudes comprised between 1000 and 1550m (Bazarusanga et al. 2007a) and in Uganda between 1100 and 1350m (Rubaire-Akiiki et al. 2004).

It is well known that tick distribution and abundance are largely determined by different bioclimatic factors (Estrada-Peña 2003; Moorling et al. 2004) including the availability of appropriate hosts (Cummins 2002; Olwoch et al. 2003). During the present work rainfalls were low at high altitude. This could explain the low numbers of tick collected in this sector of breeding (Goddard, 2003). In areas close to the equator like in the present work the temperature and the photoperiod are optimal throughout the year (Short and Norval 1981a ; 1981b; Mwangi et al. 1991), rainfalls play a key role and this is particularly true as far as *R. appendiculatus* is concerned (Morel 2000). Under such conditions, *R. appendiculatus* does not undergo a diapause (Madder et al. 1999; 2002; Speybroeck et al. 2003) and it exhibits a preference for areas where altitude varies between 1000 and 2000 m (Burkot and Graves 2000). *Rhipicephalus decoloratus*, the second most abundant tick species in the present work is widely distributed with a preference for fairly high altitudes (Walker et al. 2003). Matthyse and Colbo (1987) reported the presence of this tick at altitudes between 600 and 2300 m in Uganda.

Other factors such as cattle movements and tick control methods may influence the distribution and the abundance of ticks in the study area. It is generally known that cattle movement facilitates tick and associated pathogen dissemination (Bazarusanga et al. 2007a; Madder et al. 2007; 2011) and has a relatively high impact on their distribution (Pearson and Dawson 2003). Unprotected cattle movement by acaricide is the rule in North-Kivu an Eastern province of the DRC which is regularly under a state of war (Kabamba and Malumalu 2010). Breeding bulls and animals to be slaughtered are also moved over long distances (Byavu et al. 2000) and this could also enhance the spreading of ticks and associated

pathogens. Furthermore, the abundance of ticks depends on the method used in their control (Morel 2000). In the present study, cattle treated against ticks at weekly intervals by spraying had higher parasite burdens than the animals treated by dipping at the same interval ($P < 0.001$). This can be explained by the fact that spraying is a time consuming technique and its use is justified in small herds only (< 50 heads) (Morel 2000). Additionally the efficacy of this technique relies essentially on the manipulator and some anatomical sites (internal parts of the ears, inguinal regions) are easily missed. A high proportion of *R. appendiculatus* ticks were found on the ears (57.2%), a typical predilection site for this species (Ashford et al. 2001; Taylor et al. 2008). These factors explain probably the difference abundance of ticks recorded between cattle treated by spraying and dipping at medium altitude. At high altitude the insecurity has led to the abandonment of dipping tanks. In this AEZ it is very difficult to muster large groups of animals (> 1500 heads) which justify the use of dipping as described by Morel (2000). Thus, it was not possible to make any comparison regarding tick control methods.

At the pasture level a difference was observed between the two AEZ, tick yield being 17 times lower at higher altitude. This difference could be due to the much lower rainfall at high altitude. It is noteworthy that only larvae and nymphs of *R. appendiculatus* and larvae of *R. decoloratus* were collected on pastures. The latter species is a one-host tick; consequently the larval stage is the only one to be found in the environment (Morel 2000). In contrast, *R. appendiculatus* is a three-host tick, consequently both stages (larvae, nymphs and adults) of this tick can be found in the pastures (Swai et al. 2006). Tick densities were higher alongside streams of water than near hedges used for fencing. The hedges used for fencing or against erosion represent an ideal shelter for small mammals, the hosts for immature ticks (Walker et al. 2003). However, the presence of water nearby is highly favourable to the ticks.

The global *T. parva* seroprevalence was 43% (95% CI 38-47) and there was no significant difference between the two AEZ. This relatively low seroprevalence suggests that a state of endemicity to *T. parva* infection exists in the province as it has been described by Norval et al. (1992). However, overall seroprevalence is not the only indicator that determines the *T. parva* epidemiology in a region.

Other factors such as morbidity and mortality of animals, age of calves at first contact to *T. parva*, tick control methods and grazing system will bring different levels to assess the state of ECF epidemiology. These indicators have been reported to play a significant role in the *T. parva* infection in the Eastern African region (Maloo et al. 2001; Rubaire-Akiiki et al. 2006). In the present work the situation is probably due to the low *R. appendiculatus* tick burden (4.3

± 0.17 ticks/animal) recorded in the enrolled herds. Low tick abundance and a low rate of infection in the tick population for a given pathogen are related to low seroprevalences to *T. parva* (Gilioli et al. 2009; Odongo et al. 2009). However data about the seasonal abundance and the rate of infected ticks by *T. parva* are not available in the study area.

It is known that the presence of *R. appendiculatus* is a good indicator of seropositivity to *T. parva* (Deem et al. 1993; Swai et al. 2009; Gachohi et al. 2011). Under these conditions the herds located at medium altitude (where the tick vector was more abundant) would present a higher *T. parva* seroprevalence when compared to herds grazing at higher altitude. However this was not the case. This would suggest that tick abundant is not the only factor that determines the level of *T. parva* transmission. Tick infection proportions are also considered helpful (Perry 1996). The situation can be well explained by the variable levels of vector competence to *T. parva* transmission amongst tick from different AEZ as it was reported by Ochanda et al. (1998). Thus, the rate of tick infection should be evaluated in order to determine the intensity of *T. parva* transmission to cattle in the study area. Bazarusanga et al. (2007b) reported a similar situation in Rwanda in which a higher *T. parva* seroprevalence was observed in cattle from a region with low tick numbers compared to regions with higher tick abundant.

The global seropositivity to *T. parva* recorded during the present study was much higher than the values obtained in the province of South-Kivu on the plateaus of Itombwe and Bijombo (29.4%; n= 160) (Makumyaviri et Habimana, 1993). However in the latter study the prevalence of *T. parva* was estimated through the examination of stained blood smears, a technique which has a fairly lower sensitivity and which does not allow to differentiate *T. parva* from non pathogenic species such as *T. taurotragi*, *T. mutans* and *T. velifera* (Burrige et Kimber, 1972). Furthermore, *T. parva* piroplasms can be confused with those of *Babesia* spp. based on their variable morphology (Goddeeris et al., 1982). Cross reactions are possible between *T. parva* and other *Theileria* spp. when IFAT is used (Norval et al., 1992) but this technique is considered as very reliable (Perry, 1996) in view of its sensitivity and specificity (55 – 90% and 80 – 95% respectively) (Muraguri et al., 1999 ; Billiouw et al., 2005).

In the present study, herds treated by spraying at weekly have a high seropositivity to *T. parva* when compared to dipping. This confirms that the technique used for tick control can have a marked effect on tick abundance and consequently on *T. parva* seroprevalence. However, lack

of association between tick control practices and *T. parva* seroprevalence was reported in several endemic areas of ECF (Rubaire-Akiiki et al. 2006; Swai et al. 2009). In North-Kivu, cattle breeders tend to apply tick control measures depending on occurrence, perceived incidence and severity of the clinical disease experiences and economic impacts of the disease at the farm level. Consequently, acaricides are used very regularly at weekly intervals and this represents a potential risk factor if control measures are discontinued for a reason or another (Mugabi et al. 2010; Phiri et al. 2010).

However, the presence of seropositive animals to *T. parva* indicates a failure of tick control by acaricides. Thus, the control of *T. parva* infection would base on a good knowledge of the population dynamics of the vector tick through longitudinal studies and effective treatment of clinical cases and immunisation against ECF. In several African countries, control of ECF relies on the so-called infection and treatment technique. In this approach animals are actively infected with *T. parva* sporozoites and treated at the same time with long acting oxytetracycline (Marcotty et al. 2001; Kivaria et al. 2007). At the present time this approach seems difficult to implement in North-Kivu province and more generally in DRC.

These findings also suggest that : (i) an epidemiological study on the economical losses dues to tick infestations and *T. parva* infection must be carried out in order to justify the implementation of a coordinated action for an integrated control, (ii) tick control by spraying should target preferential anatomical sites such as the ears, the abdomen and legs, the head, the neck and the dewlap, (iii) the movements of unprotected cattle should be restricted and (iv) dipping tanks should be restored at high altitude in the study area. These measures are unrealistic as long as the political stability of the region is not guaranteed. Acaricides are not always readily available and often fairly expensive (Kalume et al. 2009) and their extensive use can lead to tick resistance. In this context the use of pesticides plants is an alternative option (Kasonia and Yamalo 1994). This approach requires additional *in vitro* and *in vivo* studies.

Acknowledgements

The authors thank the Belgian Technical Cooperation (BTC) for its financial and logistical support and all cattle breeders from the territories of Lubero and Beni who participated to this study.

Chapitre 5

Etats épidémiologiques de l'East Coast fever dans la Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo.



A & B = Système d'élevage extensif à la ferme de l'Université Catholique du Graben (UCG / Butembo)

C & D = Système d'élevage traditionnel au sein du troupeau des bovins de Misebere, à Butembo

Préambule et présentation synoptique

Les résultats de l'étude transversale (**Chapitre 4**) ont révélé que la tique *Rhipicephalus appendiculatus*, principal vecteur de l'East Coast fever (ECF) était l'espèce la plus fréquente dans les troupeaux de bovins du Nord-Kivu par rapport aux tiques *R. decoloratus* et *Amblyomma variegatum*. Le taux de séropositivité vis-à-vis de l'infection à *T. parva* a été relativement faible (< 70%), ce qui a suggéré l'existence d'un état d'enzootie instable dans les différents troupeaux visités. Cependant, des indicateurs de l'ECF comme la phénologie de *R. appendiculatus*, l'incidence des cas cliniques, et l'intensité de transmission de l'infection à *T. parva* ne pouvaient pas être évalués par une seule observation des animaux en vue de déterminer la situation épidémiologique réelle de la maladie. Ce qui a nécessité un suivi des animaux.

L'objectif de la présente étude était de caractériser les différentes situations épidémiologiques de l'ECF rencontrées dans la province du Nord-Kivu et de déterminer les stratégies de contrôle. Ainsi, deux troupeaux de bovins, différant par le type d'élevage et par l'origine des animaux, ont été suivis mensuellement pendant une année (d'octobre 2009 à septembre 2010). La première cohorte était de type extensif (pâturage artificielle, semée et clôturée) avec des bovins croisés. La seconde cohorte était constituée par des bovins indigènes élevés en mode traditionnel (sur parcours libre combiné au gardiennage ou au piquet dans des jachères, sous les bois et broussailles). Au cours de l'étude, la moyenne des séropositivités mensuelles à *Theileria parva* a été très élevée (> 70%) dans les deux cohortes. Cependant, des différences entre les cohortes ont été observées dans la morbidité par l'ECF chez les animaux.

Les résultats indiquent peu de stabilité enzootique au sein de la cohorte de bovins croisés où l'ECF clinique a été très fréquente tant chez les animaux adultes que chez les veaux avec une abondance moyenne mensuelle de 16 *R. appendiculatus* par animal. Dans cette situation où toutes les catégories d'animaux ont été affectées, des stratégies de contrôle de l'ECF ont été proposées, incluant trois activités : (i) l'immunisation des animaux par la méthode d'infection et traitement, (ii) le traitement des cas cliniques et (iii) le contrôle régulier des tiques.

Par contre, un état d'enzootie stable a été constaté au sein de la cohorte de bovins indigènes puisque toutes les catégories d'animaux ont présenté une résistance élevée contre l'ECF malgré une plus forte charge moyenne mensuelle de *R. appendiculatus* par animal (105 tiques). Dans ce troupeau, seul le contrôle des infestations par les tiques doit être appliqué.

Présentation détaillée

Status épidémiologiques de l'East Coast fever dans deux troupeaux de bovins issus de systèmes d'élevage distincts au Nord-Kivu, République Démocratique du Congo

KALUME M.K. ^(1,5), **SAEGERMAN C.** ⁽²⁾, **MARCOTTY T.** ^(3,4), **LOSSON B.** ⁽⁵⁾

⁽¹⁾ Faculté de Médecine vétérinaire, Université Catholique du Graben, B.P. 29 Butembo, Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo.

⁽²⁾ Unité de Recherche en Epidémiologie et Analyse de Risques appliquées aux sciences vétérinaires (UREAR), Département des maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster, 20, B42 Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgique.

⁽³⁾ Département de santé animale, Institut de Médecine Tropicale (IMT), 155, B-2000 Anvers, Belgique.

⁽⁴⁾ Department of Veterinary Tropical Diseases, Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria, Private Bage X04, Onderstepoort 0110, South Africa.

⁽⁵⁾ Unité de Parasitologie et Maladies parasitaires, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster, 20, B43 Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgique.

* **Adresse de correspondance** : LOSSON Bertrand, Tel.: + 32 (0)4 366 40 90 ; Fax. : + 32 (0)4 366 40 97 ; E-mail : blosson@ulg.ac.be

Article soumis aux Annales de Médecine Vétérinaire

Résumé

L'objectif de cette étude était de déterminer l'état épidémiologique de l'East Coast fever (ECF) au Nord-Kivu via un suivi (d'octobre 2009 à septembre 2010) des deux cohortes, la première était de type traditionnel avec des bovins indigènes et la seconde comprenait des bovins croisés élevés en mode extensif. Au cours de l'étude, la moyenne des séropositivités mensuelles à *Theileria parva* était très élevée (> 70%) et ceci pouvait suggérer un état d'enzootie stable dans les deux cohortes. Cependant, l'incidence moyenne mensuelle des cas cliniques de l'ECF était très faible dans le troupeau des bovins indigènes (0% ; IC95% = 0-13%), ce qui suggère un état d'enzootie stable. Par contre, le troupeau de bovins croisés semble se trouver dans un état d'instabilité enzootique puisque l'incidence moyenne mensuelle de l'ECF était très élevée (70%; IC95% = 47-86%). Dans cette cohorte, l'âge médian à la primo-infection était d'environ 6 mois et les périodes de séroconversion à *T. parva* coïncidaient avec les pics d'activité des adultes de *Rhipicephalus appendiculatus*. L'état d'enzootie stable n'exige que très peu de contrôle de l'ECF, mais le traitement des cas cliniques et l'immunisation des animaux s'avèrent indispensables en situation d'enzootie instable.

Mots clés : East Coast fever, Epidémiologie, Nord-Kivu

Summary

Epidemiological status of East Coast fever in two cattle herds derived from different farming systems in North-Kivu Province, Democratic Republic of Congo.

The aim of this study was to assess the epidemiological state of East Coast fever (ECF) in North-Kivu by the follow-up (from October 2009 to September 2010) of two cohorts; the first was the free-range grazing system with indigenous cattle and the second used crossbred cattle raised under a fenced grazing system. During the study, the mean monthly seropositivity to *Theileria parva* was very high (> 70%) and this could suggest a state of enzootic stability in the two cohorts. However, the monthly ECF clinical incidence in indigenous cattle herd was very low (0%, CI95% = 0-13%), which suggested an enzootic stable state. In contrast, the herd of crossbred cattle seems to be in an enzootic unstable state because the monthly ECF clinical incidence was very high (70%; IC95% = 47-86%). In this cohort, the median age at first contact to *T. parva* was about 6 months and the periods of seroconversion to *T. parva* coincided with peaks of adult *R. appendiculatus* activity. The state of enzootic stability requires very little control of the disease, but the treatment of clinical cases and the immunization of animals are essential in the enzootic unstable situation.

Keywords: East Coast fever, Epidemiology, North-Kivu

Introduction

La Province du Nord-Kivu est située à l'Est de la République Démocratique du Congo et ses caractéristiques physiques de base ont été précédemment décrites (Kasay, 1988). Brièvement, trois zones agro-écologiques sont identifiées dans la région : les zones de basse altitude (< 1000m), de moyenne (1000-1850m) et de haute altitude (> 1850m). La majorité des troupeaux de bovins sont élevés dans un système extensif caractérisé par des pâtures artificielles de grande étendue (plus de 20 ha / troupeau), avec plus de 15 bovins par troupeau (Mararo, 2001). Certains troupeaux de bovins ayant des effectifs réduits (< 15 têtes) sont élevés dans un système traditionnel (au piquet et sur parcours libre) dans des jachères, sous les bois et broussailles. Parmi les principales maladies transmises par les tiques chez les bovins du Nord-Kivu, la theilériose à *Theileria parva* ou East Coast fever (ECF) est considérée comme la plus importante en termes d'incidence clinique et de mortalité d'animaux, particulièrement chez les bovins croisés et les animaux importés (Kalume *et al.*, 2009).

L'épidémiologie de l'ECF résulte généralement de l'action de plusieurs facteurs de nature climatique, environnementale et zootechnique (Norval *et al.*, 1992 ; Gachohi *et al.*, 2011). L'abondance des tiques et l'incidence de l'ECF peuvent varier en fonction des zones agro-écologiques et des systèmes d'élevage pratiqués (Deem *et al.*, 1993 ; Gitau *et al.*, 2000). De plus fortes prévalences des tiques et d'infection par *T. parva* chez les bovins en élevage traditionnel par rapport au système extensif et en stabulation ont été rapportées dans des zones endémiques pour l'ECF en Afrique orientale, comme au Kenya (Gitau *et al.*, 1997 ; 1999 ; Okuthe et Buyu, 2006) et en Ouganda (Rubaine-Akiiki *et al.*, 2004 ; 2006).

Le but de la présente étude était d'estimer des indicateurs de l'ECF tels que la prévalence sérologique, l'abondance des tiques, l'incidence des cas cliniques et l'âge au premier contact avec *T. parva* chez les bovins élevés au Nord-Kivu en fonction des systèmes d'élevage. La combinaison de ces informations a permis de caractériser des situations épidémiologiques de l'ECF dans cette Province et leurs implications en termes de stratégies de contrôle de la maladie.

Matériel et méthodes

Milieu d'étude et sélection des troupeaux

L'étude a été conduite d'octobre 2009 à septembre 2010 dans une zone reconnue comme à risque d'ECF sur base des résultats d'une enquête réalisée à l'aide de questionnaires adressés à des vétérinaires du Nord-Kivu (Kalume *et al.*, 2009). La sélection des troupeaux a été réalisée sur base de certains critères, incluant : (i) l'accessibilité des troupeaux par la route et leur localisation en dehors des zones de guerre, (ii) la pratique des systèmes d'élevage différents, (iii) un effectif de plus de 20 bovins des deux sexes et de toute catégorie d'âge, avec possibilité d'obtenir des naissances durant la période d'étude. Les veaux nouveau-nés sont considérés comme très sensibles à l'ECF puisqu'ils n'ont jamais été en contact avec *T. parva* et les anticorps d'origine colostrale sont peu efficaces contre l'infection (Morzaria *et al.*, 2000). En outre, (iv) la participation de l'éleveur à l'étude était également un critère puisque ce dernier s'engageait à ne pas traiter préventivement les animaux contre les tiques durant la période d'étude, et à ne pas utiliser de chimioprophylaxie contre l'ECF. Seuls les cas cliniques d'ECF survenus au cours de la période d'étude étaient traités par la Buparvaquone (Butalex®). Ainsi, deux troupeaux de bovins, différant par le type d'élevage et par l'origine des animaux, ont été recrutés pour l'étude en ville de Butembo (**Figure 5.1**) :

- I) un troupeau de 34 bovins (première cohorte) de l'Université Catholique du Graben (UCG), situé au Sud-Ouest de la ville, à 1827 m d'altitude, 0°07' de latitude Nord et 29°15' de longitude Est. Ce troupeau était de type extensif. Il était constitué par de bovins issus de croisements réalisés par insémination artificielle de vaches indigènes (Zébu et Ankole) par des semences issues des races Frisonne et Brune des Alpes. Les veaux étaient maintenus dans une étable jusqu'à l'âge d'environ 4 à 5 mois et ne sortaient que pour téter ou pendant la traite. Le contrôle des tiques et des maladies y afférentes était appliqué. Le traitement contre les tiques (solution aqueuse d'amitraz) se faisait par aspersion selon un rythme hebdomadaire et

- II) un troupeau de 38 bovins indigènes (Zébus et Ankoles) (seconde cohorte) qui réunissait 4 unités de 5 à 9 têtes utilisant un système d'élevage traditionnel dans la localité de Misebere, au Sud-Est de la ville de Butembo, à 1916 m d'altitude, 0°05' de latitude Nord et 29°19' de longitude Est. Après la traite dans la matinée, les veaux étaient autorisés à

téter et le troupeau était conduit sur de longues distances pour pâture sur parcours libre ou au piquet sous les bois, dans des jachères et broussailles. Les veaux nouveau-nés étaient, quant à eux, maintenus à proximité de la maison pendant la journée. Ils commençaient à accompagner le troupeau à environ 2 à 3 mois d'âge. Les animaux de ce second troupeau ne bénéficient d'aucune mesure de contrôle des tiques et des maladies transmises par les tiques.

Durant la période d'étude, les données météorologiques couvrant le milieu d'étude ont été recueillies à la station la plus proche. La température moyenne mensuelle a été de 18,5°C et les pluies ont été très abondantes, avec une moyenne mensuelle de 242,3 mm (**Figure 5.2**).

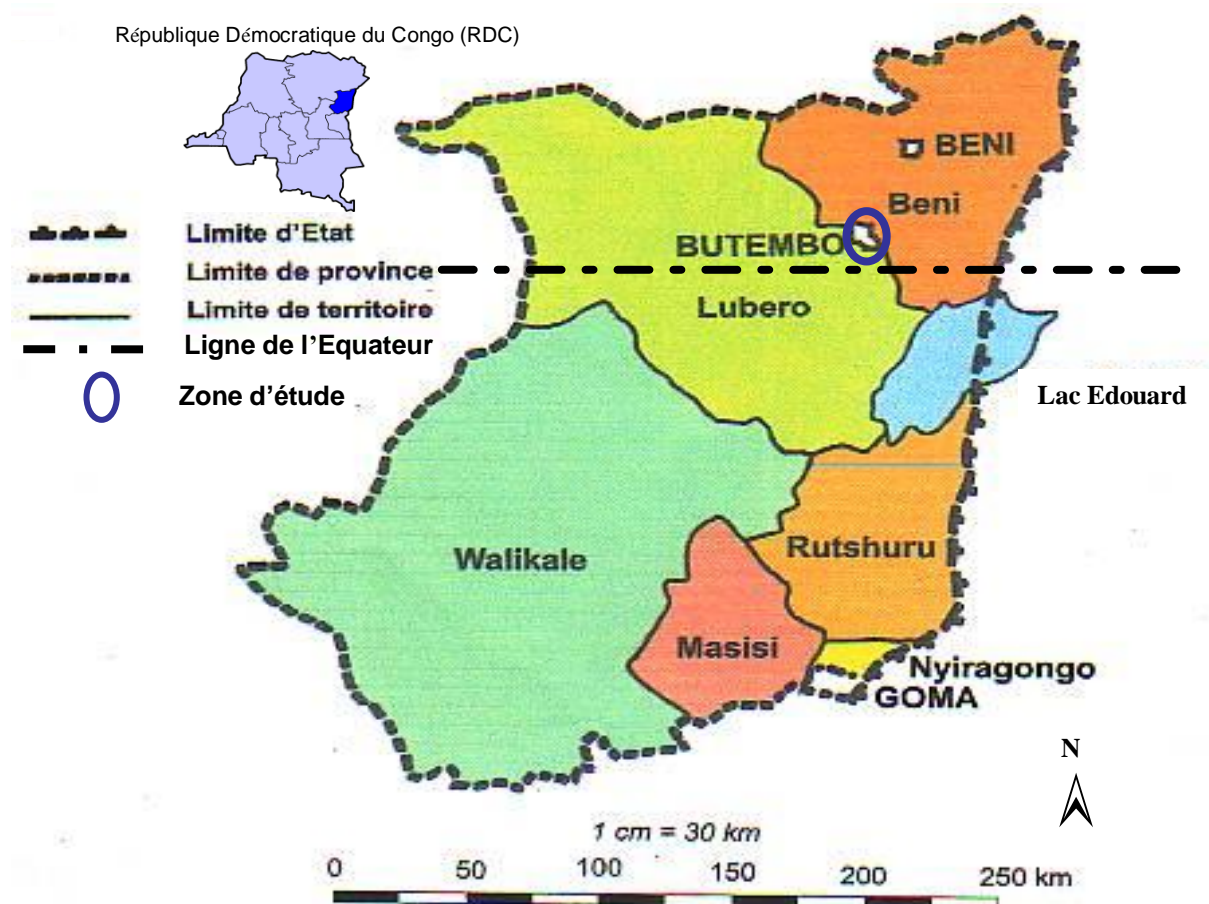


Figure 5.1. Carte administrative de la Province du Nord-Kivu montrant la localisation du milieu d'étude.

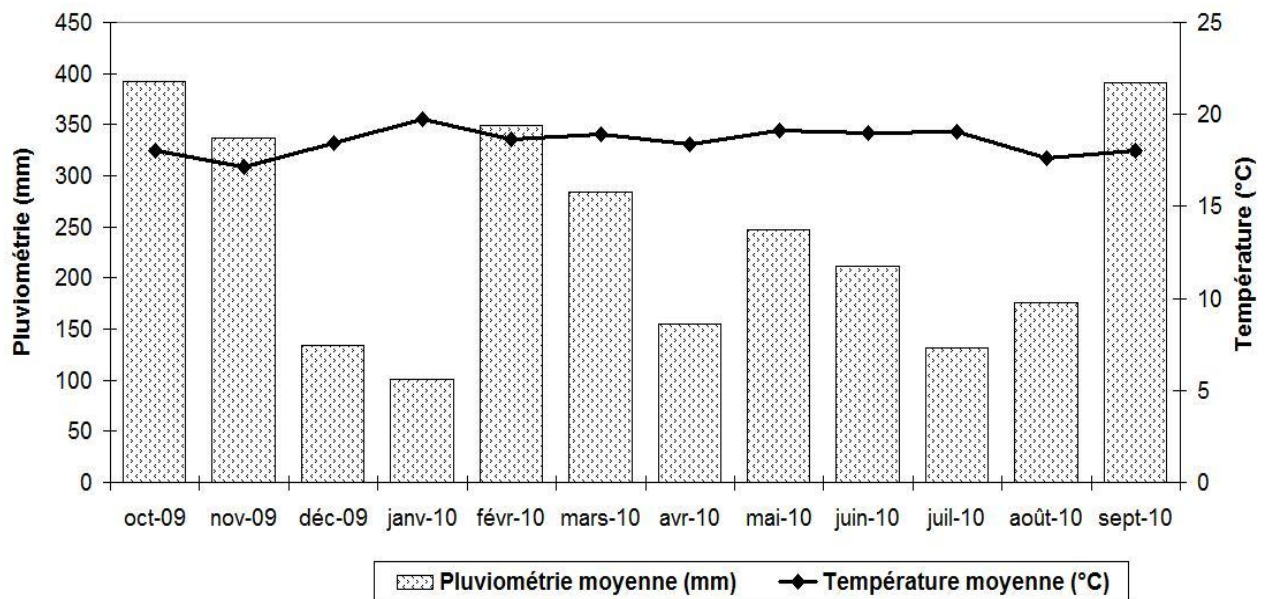


Figure 5.2 : Données météorologiques recueillies à la station de l'Institut Technique Agricole et Vétérinaire (ITAV / Butembo, Province du Nord-Kivu) d'octobre 2009 à septembre 2010

Suivi des cohortes

Le traitement contre les tiques des animaux incluant dans la cohorte de l'UCG a été arrêté trois semaines avant le début des différents prélèvements. Les visites des deux cohortes d'animaux ont été réalisées mensuellement. Cependant, des visites fréquentes étaient organisées avant les dates prévues lorsqu'une atteinte clinique était suspectée par l'éleveur ou lors de traitements des cas cliniques. Le nombre moyen de tiques *Rhipicephalus appendiculatus* présentes sur les mêmes animaux recrutés dès le début de l'étude était estimé et les animaux subissaient un test sérologique. Un examen clinique de routine était effectué sur chaque animal par palpation des ganglions parotidiens et préscapulaires (Lawrence *et al.*, 1994) et d'autres signes cliniques de l'ECF tels que l'élévation de la température ($> 39,5^{\circ}\text{C}$), le larmolement et le jetage ont été recherchés.

Identification des tiques et examen sérologique

Les tiques ont été récoltées par arrachage manuel au niveau de 6 régions anatomiques (oreilles, face, encolure-fanon, région ano-génitale, abdomen-pattes et queue). Elles ont ensuite été identifiées selon la clé morphologique proposée par Walker *et al.* (2003) et

regroupées par espèce et stade évolutif. Le sang a été prélevé au niveau de la veine coccygienne des animaux et adsorbé sur des disques de papier Whatmann n°4 (22 mm de diamètre) qui, après séchage à l'air libre, ont été conservés à -70°C dans des sachets plastiques hermétiques contenant un dessiccant. Le test d'immunofluorescence indirecte (IFAT) a été utilisé selon la méthode décrite par Burridge et Kimber (1972) pour la détection d'anticorps dirigés contre *T. parva*. L'antigène des schizontes de *T. parva* a été produit comme décrit par Goddeeris et Morrison (1988). Les titres d'anticorps supérieurs à 1 :160 étaient considérés comme positifs.

Diagnostic des cas cliniques, sub-cliniques et mortalité des animaux

Les cas cliniques d'ECF (suspectés ou confirmés) étaient diagnostiqués lorsque les symptômes d'appel de la maladie (gonflements des ganglions parotidiens et préscapulaires) étaient confirmés par la présence des schizontes de *T. parva* sur des frottis préparés à partir d'une ponction de lymph ganglionnaire, avec ou sans sérologie positive. Les cas d'ECF sub-cliniques étaient établis sur base de la séroconversion à *T. parva* définie comme le passage d'un état de séronégativité à un état de séroposivité, excepté chez les veaux sérologiquement positifs car ils possèdent des anticorps d'origine maternelle. La mortalité était définie comme des animaux morts après une atteinte clinique d'ECF. Il s'agissait des cas cliniques non traités, diagnostiqués tardivement après un appel tardif par l'éleveur. Cependant, il n'était pas possible d'estimer la létalité exacte de la maladie puisque le traitement des cas cliniques lié à un diagnostic précoce se traduisait par une récupération des animaux affectés.

Détermination de la séroconversion chez les veaux et de l'âge à la primo-infection

La première visite des veaux nouveau-nés était considérée comme le début du premier intervalle d'exposition au risque d'infection par *T. parva*, tandis que la seconde visite et les suivantes étaient considérées comme des intervalles permettant d'évaluer la diminution des taux d'anticorps d'origine maternelle.

Un veau était jugé avoir présenté une séroconversion dans l'une des circonstances suivantes : (i) il était initialement séronégatif et devenait séropositif pour au moins une visite, (ii) il avait des anticorps maternels (état de séroposivité) qui ont diminué à un état de séronégativité et par la suite il devenait séropositif pour au moins une visite, ou (iii) il avait des anticorps maternels qui persistaient jusqu'à l'apparition des symptômes de l'ECF.

Puisque l'état de séropositivité persistait chez la plupart des veaux au cours de leur observation, le moment d'enregistrement d'une atteinte clinique d'ECF permettait d'estimer la durée nécessaire de séroconversion vis-à-vis de *T. parva*. L'âge au premier contact était alors estimé, mais un intervalle de 30 jours (15 jours pour la séroconversion et 15 jours en moyenne avant la visite) était soustrait en raison du délai entre la réponse clinique et l'observation d'une séroconversion.

Statut des animaux face à l'infection par *T. parva*

En fonction de leur sensibilité à l'infection par *T. parva*, les animaux ont été repartis en trois groupes, incluant : (i) les animaux qui développaient les signes cliniques de l'ECF (infections cliniques), (ii) ceux qui étaient immuns (infections chroniques asymptomatiques) et (iii) ceux qui ne manifestaient pas l'ECF lors de leur premier contact avec *T. parva* (infections primaires asymptomatiques).

Estimation du taux de portage par *Theileria parva* chez les tiques

La proportion de tiques infectées par *T. parva* a été déterminée en utilisant la technique de PCR à partir d'un échantillon de 200 tiques adultes des deux sexes collectées sur les bovins lors du suivi des deux cohortes et de 540 tiques adultes récoltées de mai à juin 2011 dans les pâtures fréquentées par ces animaux. Pour cette dernière récolte, la méthode de drapeau a été utilisée (Short et Norval, 1981b) et les tiques ont été conservées individuellement dans des tubes contenant de l'Éthanol 70%. Avant l'extraction de l'ADN, les tiques ont été soigneusement lavées à l'eau stérile pour éliminer l'alcool puis séchées à l'air libre.

Extraction de l'ADN des tiques

L'extraction de l'ADN a été effectuée pour chaque tique selon une méthode adaptée de celle de Boom *et al.* (1990). La tique était introduite dans un tube de 1,5ml et découpée en 3 ou 4 parties en utilisant une lame stérile. On ajoutait 250 µl de tampon de lyse (60mM Tris-HCl, pH 7,4 ; 60mM EDTA, 10% Tween 20, 1% Triton X-100 et 1,6M Guanidine-HCl), 250µl de l'eau déminéralisée et 50µl de protéinase K (Sigma, 20mg/ml) et on laissait incuber une nuit à 56°C dans un thermomixer sous agitation à 1400 rotation par minute (rpm). Un volume de 40µl de terre de diatomées était ajouté et le mélange était ensuite incubé 1h à 37°C dans un thermomixer, puis centrifugé pendant 20 secondes et le surnageant était éliminé. Le culot était alors lavé au vortex avec 900µl d'éthanol 70%, puis centrifugé pendant 20 secondes et le

surnageant était de nouveau écarté. Le rinçage dans de l'éthanol 70% était répété, le culot était lavé avec 900µl d'acétone et séché pendant 20 secondes à 50°C dans le thermomixer. Après séchage du culot, un volume de 90µl de tampon TE (10mM tris, 1mM EDTA, pH 8) était ajouté et le mélange était incubé 20 minutes à 60°C sous agitation à 1000 rpm. Le produit final était soumis à une centrifugation courte pendant 40 secondes et environ 50µl du surnageant était prélevé puis transféré dans un nouveau tube et conservé à -20°C.

Analyse PCR en temps réel

L'analyse PCR était basée sur la technologie SYBER Green. Les sondes (*Primers*) : FCox (5'-CAA CAT TGT TAA AGC TAT CCA A- 3') et RCox (5'-TTA TAG TAC AGG ATT AGA TAC CC-3') ont été utilisées respectivement à 16,5 pmoles/µl et 3,25 pmoles/µl. Toutes les réactions d'amplification ont été effectuées dans un volume total de 25µl en utilisant un mini-Opticon (Bio-Rad). Chaque réaction contenait 5µl d'extrait d'ADN de l'échantillon à analyser, 12,5 µl de iQ SYBR Green Supermix (Bio-Rad), 1µl de chaque sonde et 5,5µl d'eau distillée. Chaque lot d'analyses comportait un mélange réactionnel contenant un extrait d'ADN de *T. parva* comme contrôle positif et un contrôle négatif (eau distillée). L'analyse consistait en une étape de dénaturation à 95° C de 10 minutes et 44 cycles de 3 étapes (95° C, 72° C et 56° C) de 60 secondes. La courbe de fusion a été réalisée entre 45° C à 95° C avec une augmentation de 1° C toutes les 15 secondes. Chaque réaction était réalisée en duplicats. Pour chaque analyse PCR, la valeur de température de fusion des produits amplifiés était systématiquement contrôlée. L'échantillon standard positif présentait un seul pic spécifique à 78° C ± 1° C et tous les échantillons produisant une température de fusion différente ont été considérés comme négatifs. Des pools ont été constitués en réunissant un aliquote (10 µl) de l'ADN de 10 tiques préalablement extraits. Lors de la positivité d'un pool, une analyse individuelle de l'ADN des tiques permettait de déterminer le nombre des tiques infectées pour le pool concerné.

Analyses statistiques

Au cours d'une période donnée, l'incidence de l'ECF a été déterminée par le rapport du nombre des cas cliniques recensés et le nombre d'animaux exposés au risque de l'ECF (animaux non traités contre les tiques). Les incidences cumulatives de l'ECF et l'analyse de survie des animaux en fonction du temps au cours des événements (cas cliniques de l'ECF et âge au premier contact avec *T. parva*) sont représentés par des courbes de Kaplan - Meier

(1958). Ces courbes ont été générées par la procédure de graphe XY (Scatter) utilisant le logiciel Excel® et le test exact de Fisher était utilisé pour vérifier l'hypothèse de risque proportionnel (Dagnelie, 1998). Le risque mensuel de séroconversion défini comme la proportion d'animaux susceptibles d'être en contact avec *T. parva* a été analysé en fonction du nombre moyen mensuel de *R. appendiculatus* collectée par animal, ce qui permettait d'évaluer l'intensité de transmission de *T. parva*. L'abondance moyenne des tiques a été calculée par le rapport entre le nombre des tiques collectées et le nombre d'animaux exposés au risque. Pour déterminer le taux de tiques infectées par *T. parva*, la prévalence des pools a été définie comme la proportion des pools positifs à *T. parva* et la prévalence individuelle dans les pools a été calculée selon la formule de probabilité suivante : $P_i = 1 - (1 - P_p)^{1/n}$, avec : P_i = la prévalence individuelle des tiques infectées dans les pools, P_p = la prévalence des pools infectés et n = le nombre de tiques dans les pools (10 tiques).

Cette transformation de la prévalence des pools en prévalence individuelle repose sur l'hypothèse que les échantillons d'ADN des tiques constituant les pools sont indépendants et un seul échantillon positif rend le pool positif.

Résultats

Résultat global

Les données concernant les nombres d'animaux recrutés, des perdus de vue et séropositifs ainsi que des cas cliniques de l'ECF (suspectés et confirmés) lors des visites mensuelles de deux cohortes sont répertoriés dans le **Tableau 5.1**. L'étude a été conduite sur un nombre moyen mensuel de 41 bovins des deux sexes dont 20 bovins (14 adultes et 6 veaux) à l'UCG et 21 (19 adultes et 2 veaux) à Misebere. Les variations du nombre mensuel de bovins recrutés dans chaque cohorte étaient dues à des naissances et des perdus de vue (mortalités, abattages, transfert et insuffisance de contention). Les cas de perte de vue n'ont pas été remplacés, mais ceux liés à l'insuffisance de contention à l'UCG et au transfert d'un mâle pour des saillies à Misebere ont été réintroduits dans les cohortes respectives au cours des visites suivantes. Au début de l'étude, aucun veau n'était présent à l'UCG et des naissances ont été enregistrées à partir du deuxième mois de la visite du troupeau.

Tableau 5.1 : Nombre d'animaux à risque, séroprévalence vis-à-vis de *Theileria parva* et incidence de l'East Coast fever dans les deux cohortes sélectionnées en périphérie de la ville de Butembo, Province du Nord-Kivu (d'octobre 2009 à septembre 2010)

Mois	Système extensif (troupeau de l'UCG)				Système traditionnel (troupeau de Misebere)			
	Bovins à risque* (adultes/ veaux)	Perdus de vue § (adultes / veaux)	Bovins séropositifs (adultes /veaux)	ECF† (adultes /veaux)	Bovins à risque* (adultes/ veaux)	Perdus de vue § (adultes /veaux)	Bovins séropositifs (adultes /veaux)	ECF† (adultes /veaux)
Oct.-09	17 / -	0 / -	12 / -	0 / -	19 / 1	0 / 0	19 / 1	0 / 0
Nov.-09	17 / 5	0 / 0	16 / 5	0 / 0	19 / 1	0 / 0	18 / 1	0 / 0
Déc.-09	17 / 7	0 / 0	17 / 6	3 / 0	19 / 1	0 / 0	18 / 1	0 / 0
Janv.-10	14 / 7	3 / 0	13 / 6	0 / 0	18 / 1	1# / 0	18 / 1	0 / 0
Fév.-10	13 / 7	1# / 0	13 / 6	3 / 0	19 / 1	0 / 0	18 / 1	0 / 0
Mars.-10	14 / 7	0 / 0	10 / 7	0 / 1	19 / 1	0 / 0	19 / 1	0 / 0
Avril-10	14 / 6	0 / 1	14 / 6	0 / 1	19 / 1	0 / 0	19 / 1	0 / 0
Mai-10	14 / 6	0 / 0	14 / 6	0 / 2	19 / 3	0 / 0	18 / 3	0 / 0
Juin-10	14 / 6	0 / 0	14 / 6	2 / 0	19 / 3	0 / 0	19 / 3	0 / 0
Juillet-10	14 / 6	0 / 0	13 / 6	0 / 0	19 / 3	0 / 0	18 / 3	0 / 0
Août-10	14 / 6	0 / 0	11 / 6	0 / 0	19 / 3	0 / 0	19 / 3	0 / 0
Sept.-10	14 / 6	0 / 0	14 / 6	2 / 0	18 / 3	1# / 0	18 / 3	0 / 0
Moyenne	14/6		13/6	0,8 / 0,4	19/2		18/2	0 / 0

* Nombre d'animaux exposés au risque de l'ECF au cours de la période (y compris des naissances) après soustraction des perdus de vue. A l'UCG, les naissances ont été enregistrées à partir de la 2^{ème} visite du troupeau.

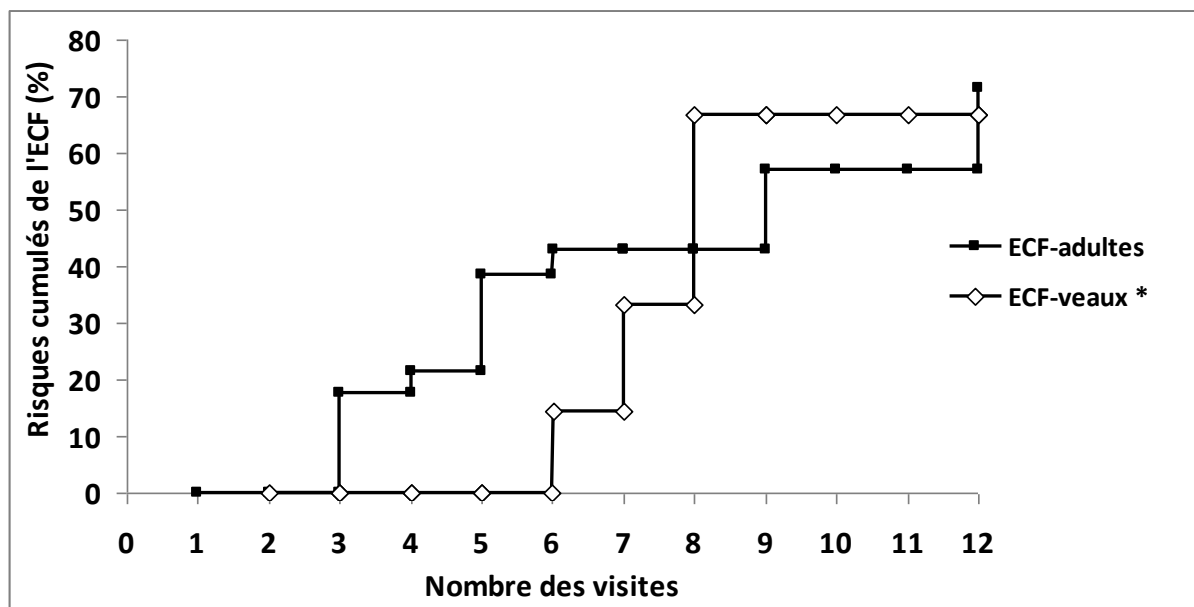
§ Animaux sortant de la cohorte suite à des mortalités, abattages, transferts et insuffisance de contention.

Cas de censure à l'UCG par insuffisance de contention ou à Misebere par transfert d'un mâle pour des saillies. Ces animaux ont été réintroduits dans les cohortes respectives au cours des visites suivantes.

† Cas cliniques de l'ECF (suspectés et confirmés) chez les animaux à risque et présentant une séroconversion (cas cliniques de l'ECF réagissant positivement au test de diagnostic sérologique utilisé).

Séroprévalence à *Theileria parva* et incidence de l'East Coast fever

La moyenne des taux mensuels de séropositivité à *T. parva* était de 95% (IC95% =82 - 99%) et elle n'était pas significativement différente entre les deux cohortes ($P >0,05$). Cependant, au cours de l'étude, l'incidence de l'ECF était très faible à Misebere tant chez les animaux adultes (0% ; IC95%= 0-15%) que chez les veaux (0% ; IC95%=0-63%). A l'UCG, l'incidence de l'ECF était de 71% (IC95%= 44-89%) et 57% (IC95%= 23-86%) respectivement chez les bovins adultes et les veaux. Dans ce troupeau, une tendance à l'augmentation des cas cliniques de l'ECF était observée dans les deux catégories d'animaux, avec une augmentation plus rapide de l'incidence chez les veaux à partir du cinquième mois d'âge (**Figure 5.3**). Il était difficile d'obtenir une estimation précise de la mortalité liée à l'infection à *T. parva* puisque les cas cliniques étaient traités. Cependant, la courbe de survie de Kaplan-Meier (**Figure 5.4**) a révélé que le taux de survie des animaux adultes contre l'ECF était maximal à Misebere (aucun cas clinique observé) et diminuait à l'UCG chez les animaux non-immunisés (cas cliniques d'ECF non traités), avec une médiane d'environ 9 mois d'exposition au risque de la maladie. Des mortalités sont survenues chez 3 bovins adultes non traités parmi les 10 cas cliniques (30%). Durant l'étude, aucun symptôme d'autres maladies transmises par les tiques comme l'anaplasmose et la babésiose bovines n'a été observé.



* Le suivi des veaux nouveau-nés a commencé à partir de la deuxième visite du troupeau.

Figure 5.3 : Risque cumulé de l'East Coast fever chez les animaux du troupeau de l'UCG pendant la période de l'étude (d'octobre 2009 à septembre 2010).

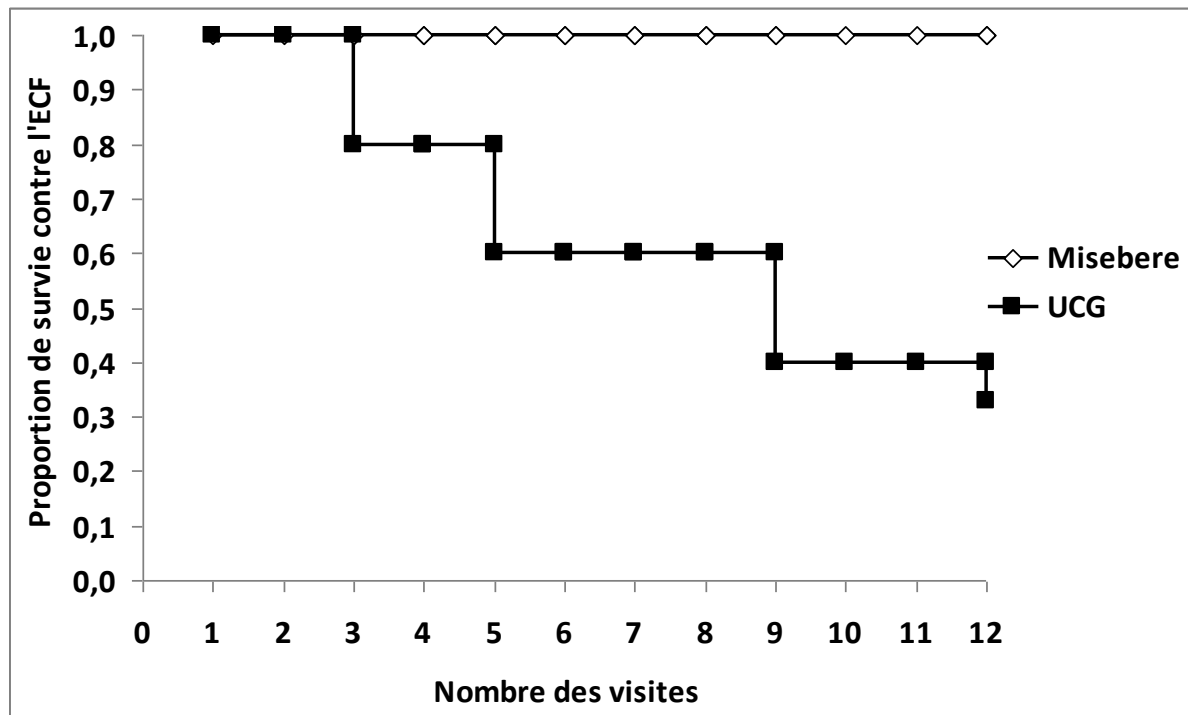
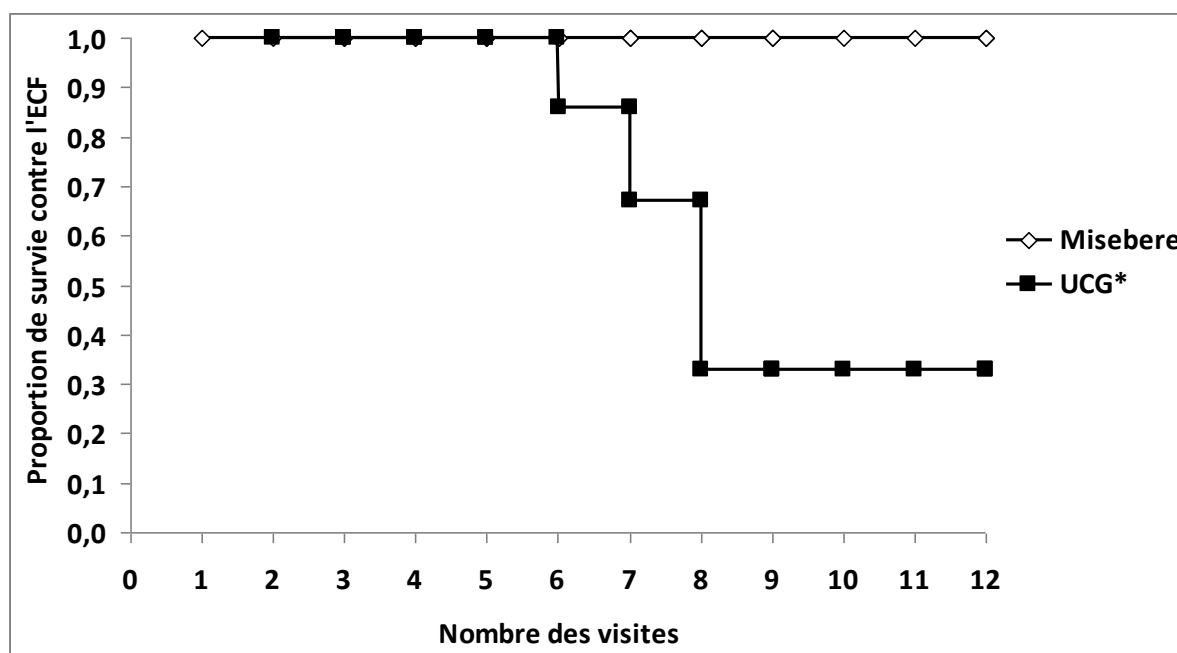


Figure 5.4 : Courbe de survie contre l'East Coast fever des bovins adultes dans les deux cohortes pendant la période de l'étude (d'octobre 2009 à septembre 2010)

Age à la primo-infection

L'âge au premier contact avec l'agent pathogène n'a pas été déterminé à Misebere en raison de l'absence des cas cliniques de l'ECF parmi les 3 veaux suivis. A l'UCG, la courbe de Kaplan-Meier de l'âge au premier contact des 7 veaux suivis (ou courbe de survie contre l'ECF) répertoriée dans la **Figure 5.5** a révélé une tendance à l'augmentation des cas cliniques d'ECF en fonction de l'âge, avec une médiane autour de l'âge de 7 mois. En considérant le délai minimum d'environ 30 jours entre la réponse clinique et l'observation d'une séroconversion, l'âge médian au premier contact avec *T. parva* a été estimé à environ 6 mois. Bien que la mortalité des veaux n'ait pas été évaluée dans le cadre de cette étude en raison des traitements des cas cliniques, 1 veau non traité parmi les 4 cas cliniques enregistrés (25% ; IC95%= 3-76%) est mort. Les antécédents cliniques de l'ECF (réactions cliniques très sévères) ont montré que parmi les 3 veaux traités et guéris, 2 veaux (67% ; IC95%=15-96%) seraient morts en l'absence d'un traitement. Dans cette hypothèse, le taux de mortalité aurait atteint 75% (IC95%=24-97%).



* A l'UCG, le suivi des veaux nouveau-nés a commencé à partir de la deuxième visite du troupeau.

Figure 5.5 : Courbe de survie contre l'East Coast fever des veaux dans les deux cohortes pendant la période de l'étude (d'octobre 2009 à septembre 2010)

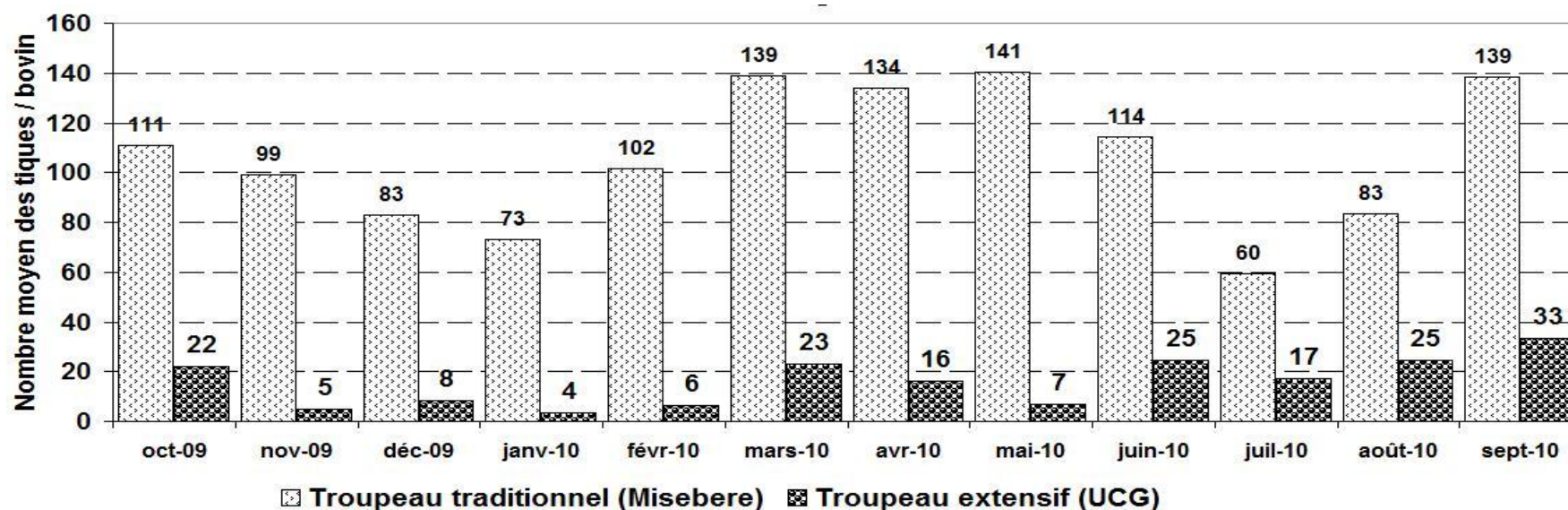
Abondance des tiques et probabilité de séroconversion à *Theileria parva*

Les données concernant les charges parasitaires et les espèces des tiques récoltées dans les deux cohortes sont présentées dans le **Tableau 5.2**. Parmi les 35.432 tiques récoltées sur les bovins au cours de l'étude, *Rhipicephalus appendiculatus* était l'espèce la plus fréquente (85,228%) suivie par *R. decoloratus* (14,769%) et par *Amblyomma variegatum* (0,003%).

La tique *R. appendiculatus*, principal vecteur de *T. parva* était présente sur les bovins durant toute la durée de l'étude (**Figure 5.6**) et son abondance était en corrélation positive avec les conditions climatiques dont la pluviométrie jouait un rôle très important ($r = 0,6$) (**Figure 5.7**). Sa charge moyenne mensuelle par animal était significativement plus élevée à Misebere (105 tiques) qu'à l'UCG (16 tiques) ($P < 0,05$) et la proportion de tiques adultes (97%) dans les deux cohortes réunies était plus élevée par rapport aux nymphes (3%). Aucune larve de cette espèce n'a été récoltée sur les animaux.

Tableau 5.2 : Nombre et espèces de tiques récoltées sur les bovins dans les deux cohortes sélectionnées en périphérie de la ville de Butembo, Province du Nord-Kivu (d'octobre 2009 à septembre 2010)

Système d'élevage	Nombre de bovins à risque	Nombre de tiques collectées	Nombre moyen mensuel de tiques / bovin	<i>R. appendiculatus</i>			<i>R. decoloratus</i>			<i>A. variegatum</i>	
				Mâles	Femelles	Nymphes	Mâles	Femelles	Nymphes	Larves	Mâles
Extensif (UCG)	20	4314	18	2608	1105	96	17	151	302	35	0
Traditionnel (Misebere)	21	31118	123	17930	7530	929	148	1845	2482	253	1
Total	41	35432	72	20538	8635	1025	165	1996	2784	288	1

**Figure 5.6 : Evolution du nombre moyen mensuel des tiques *Rhipicephalus appendiculatus* récoltées par animal dans les deux cohortes sélectionnées en périphérie de la ville de Butembo, Province du Nord-Kivu (d'octobre 2009 à septembre 2010)**

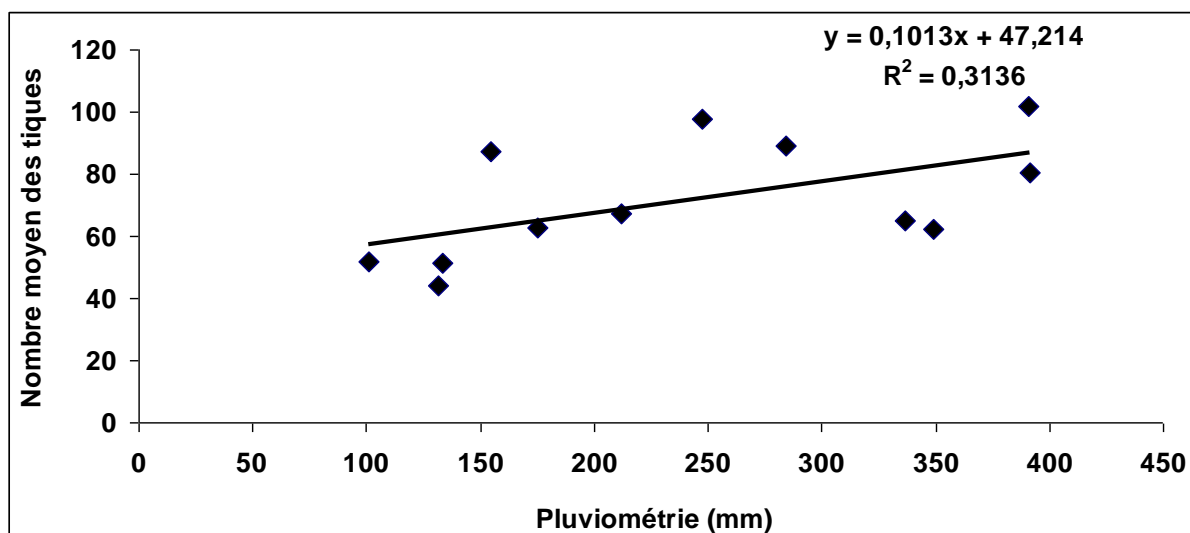


Figure 5.7 : Relation entre le nombre des tiques *Rhipicephalus appendiculatus* collectées sur les animaux et la pluviométrie dans la ville de Butembo durant la période d'étude. Coefficient de corrélation (r) = 0,6

A l'UCG où des cas cliniques d'ECF étaient fréquents, la courbe épidémique de la maladie a révélé une assez bonne concordance entre les périodes de séroconversion à *T. parva* et les charges parasitaires les plus élevées pour les adultes de *R. appendiculatus* (Figure 5.8). Deux périodes successives d'intensité croissante de transmission de *T. parva* ont été observées chez les veaux respectivement au cinquième et au septième mois d'âge. Trois périodes épidémiques ont été observées chez les animaux adultes (décembre 2009, juin et septembre 2010) et les deux dernières périodes ont été enregistrées au cours des deuxième et troisième vagues d'activité des stades adultes de *R. appendiculatus*.

Prévalence de l'infection par *Theileria parva* chez les tiques

Une information très limitée a été fournie à ce qui concerne la prévalence du portage de *T. parva* chez les tiques récoltées dans les deux cohortes. Le Tableau 5.3 présente les prévalences de *R. appendiculatus* infectées par *T. parva* selon leur origine. Les taux des pools infectés par *T. parva* étaient de 0% (IC 95% = 0-5,4%) et de 5% (IC95%= 0,7-28,2%) respectivement pour les tiques récoltées dans les pâtures et sur les animaux. Les prévalences individuelles correspondantes étaient de 0% (0-0,5%) et 0,5 % (0,07-3,3%). Ces prévalences n'étaient pas significativement différentes entre les deux cohortes ($P > 0,05$). Cependant, la marge de l'intervalle de confiance de la prévalence du portage de *T. parva* chez les tiques récoltées sur les animaux était plus élevée à l'UCG (jusqu'à 7,4%) qu'à Misebere (2,5%).

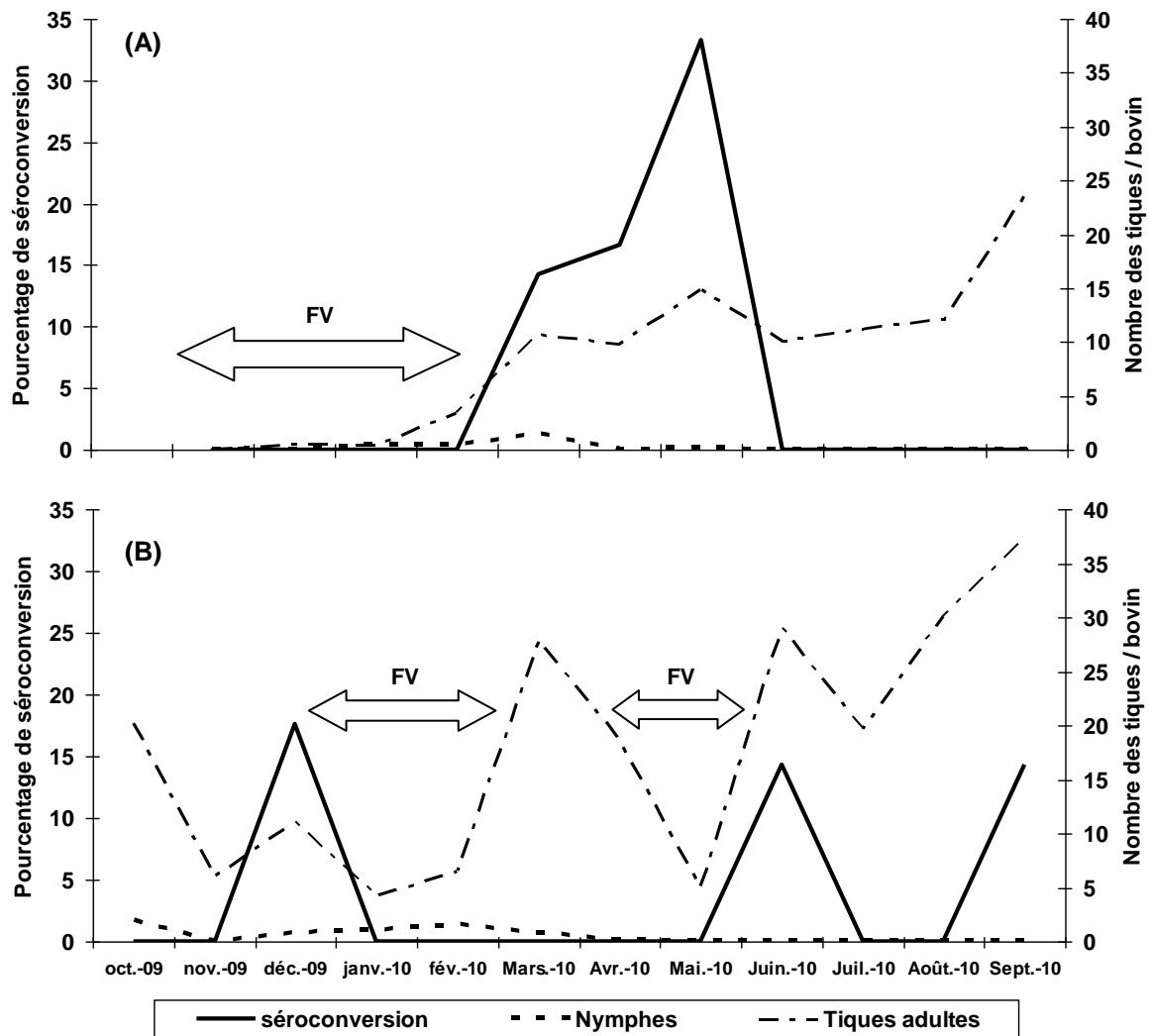


Figure 5.8 : Probabilité mensuelle de séroconversion vis-à-vis de *Theileria parva* à l'UCG chez les veaux (A) et les animaux adultes (B) en fonction du nombre moyen de *Rhipicephalus appendiculatus* et estimation de la fenêtre de vaccination (FV).

Tableau 5.3 : Prévalence de *Theileria parva* chez des tiques *Rhipicephalus appendiculatus* collectées dans la pâture et sur les bovins des deux cohortes issus de systèmes d'élevage distincts au Nord-Kivu.

Système d'élevage	Origine des tiques	Nombre des pools	Pools positifs	Prévalence des pools infectés % (IC 95%)	Prévalence des tiques infectées % (IC 95%)
Extensif (UCG)	Pâturer	36	0	0 (0 - 8)	0 (0-0,8)
	Animaux	8	1	12,5 (1,7-53,7)	1,3 (0,2-7,4)
Traditionnel (Misebere)	Pâturer	18	0	0 (0-15,3)	0 (0-1,7)
	Animaux	12	0	0 (0-22,1)	0 (0-2,5)
Total	Pâturer	54	0	0 (0-5,4)	0 (0-0,5)
	Animaux	20	1	5 (0,7-28,2)	0,5 (0,07-3,3)

Discussion

Les résultats obtenus dans cette étude ont démontré la nécessité de considérer le système d'élevage et la race des bovins lors de l'estimation des états épidémiologique de l'ECF. Les indicateurs épidémiologiques de la maladie évalués au cours de l'observation des animaux peuvent être résumés selon les critères utilisés par Marcotty (2003) (**Tableau 5.4**).

Séroprévalence à *Theileria parva* et incidence de l'East Coast fever

Les séroprévalences à *T. parva* étaient très élevées (> 70%) et ceci pouvait suggérer un état d'enzootie stable dans les deux cohortes comme indiqué par Norval *et al.* (1992). Cependant, à elle seule la séroprévalence n'est pas un indicateur suffisant et fiable permettant d'évaluer le statut épidémiologique vis-à-vis de l'ECF (Perry, 1996). D'autres indicateurs comme l'incidence des cas cliniques et l'abondance de *R. appendiculatus* ainsi que la sensibilité des veaux lors du premier contact avec l'infection ont fourni plus d'informations précises sur l'état épidémiologique de la maladie dans chacune des deux cohortes.

Tableau 5.4 : Critères utilisés dans l'évaluation de l'état épidémiologique de l'East Coast fever dans les deux cohortes sélectionnées en périphérie de la ville de Butembo, Province du Nord-Kivu

Système d'élevage	Prévalence Sérologique*† % (IC95%)	Incidence de l'ECF *‡ % (IC95%)	Morbidity au premier contact*‡	Abondance mensuelle de <i>R. appendiculatus</i> / animal*			Tiques infectées % (IC95%) §	Situation épidémiologique*	Stratégie de contrôle de la situation §
				Veaux	Adultes	Moyenne			
Extensif(UCG)	Elevée : 95% (72-99)	Elevée : 70% (47-86)	Très élevée (à 6 mois d'âge)	9 ^a	19 ^b	16	1,3% (0,2-7,4)	Instabilité enzootique	- Immunisation - Traitement des cas - Contrôle des tiques
Traditionnel(Misebere)	Elevée : 95% (73-99)	Très faible : 0% (0-13)	Infection subclinique	50 ^a	111 ^b	105	0% (0-2,5)	Enzootie stable	Contrôle des tiques

* Indicateurs épidémiologiques de l'ECF selon Marcotty (2003)

† Pourcentage de séropositivité chez les animaux exposés au risque d'infection à *T. parva*.

‡ Pourcentage des cas cliniques de l'ECF (suspectés et confirmés) chez les animaux exposés au risque et présentant une séroconversion (cas cliniques d'ECF au premier contact et séropositifs).

§ Indicateur et méthode de contrôle de l'état épidémiologique de l'ECF selon Norval *et al.* (1992), Perry (1996) et Marcotty *et al.* (2002).

Les valeurs avec des lettres ^a et ^b sont significativement différentes au sein de la même cohorte ($P < 0,05$).

Les données portant sur l'incidence moyenne mensuelle des cas cliniques de l'ECF ont suggéré l'existence d'un état d'instabilité enzootique. La sensibilité très élevée des animaux adultes s'explique par la rupture du contrôle des tiques (une condition primordiale assumée dans cette étude) ce qui a permis une transmission élevée de l'infection à *T. parva* chez des animaux dépourvus d'immunité contre l'ECF (Muhanguzi *et al.*, 2010 ; Phiri *et al.*, 2010). La situation peut aussi s'expliquer par la sensibilité très élevée des animaux croisés à l'infection à *T. parva* tel que cela a été décrit dans des études antérieures (Ndungu *et al.*, 2005 ; Oura *et al.*, 2005 ; Muhanguzi *et al.*, 2010).

A Misebere par contre, la résistance naturelle contre l'ECF des animaux de toute catégorie d'âge se manifestait par une incidence moyenne mensuelle très faible, suggérant l'existence d'un état d'enzootie stable au sein de ce troupeau. Une situation similaire a été rapportée dans la région de Trans Mara au Kenya (Moll *et al.*, 1986), caractérisée par de très faibles taux de morbidité et de mortalité et une résistance élevée des veaux vis-à-vis de l'infection à *T. parva* alors que les conditions écologiques (abondance et bonne distribution des pluies) sont très favorables à l'activité de *R. appendiculatus*.

Intensité de transmission de l'infection à *Theileria parva*

La présente étude indique une phénologie similaire de l'activité de *R. appendiculatus* dans les deux cohortes. Cette tique était présente sur les animaux durant toutes les saisons, ce qui laisse entrevoir qu'elle ne présente pas de diapause dans la région d'étude (Madder *et al.*, 1999 ; 2002), et par conséquent, la transmission de *T. parva* se fait d'une manière continue (Morel, 2000). Cependant, la prévalence de l'infection à *T. parva* détectée par le test de PCR chez des tiques récoltées dans la pâture était très faibles (0% ; IC95%= 0-0,5%) mais elle se situe dans la marge des prévalences de 0 à 25% rapporté au Kenya (Gitau *et al.*, 2000).

Il est à noter que la parasitémie chez les bovins est le principal facteur qui influence le niveau de l'infection des tiques par *T. parva* (Medly *et al.*, 1993). Des taux très élevés de l'infection à *T. parva* chez les tiques sont généralement observés lorsqu'elles se nourrissent sur des cas cliniques d'ECF (Young *et al.*, 1996). Par contre, les animaux en état de portage asymptomatique (la plupart d'animaux immuns contre l'ECF) induisent une très faible infection par *T. parva* chez les tiques (Medly *et al.*, 1993 ; Perry, 1996). Dans une étude conduite en Tanzanie, Swai *et al.* (2006) ont rapporté que la faible prévalence des tiques infectées est observée dans des zones endémiques à l'ECF où la plupart des tiques acquièrent

l'infection sur des bovins infectés subcliniques. Cette observation laisse entrevoir que les cohortes étudiées sont constituées par un grand nombre d'animaux infectés subcliniques et par conséquent, le faible portage de *T. parva* détecté chez les tiques récoltées sur les animaux (0,5% ; IC95%= 0,07– 3,3) est parfaitement en accord avec la littérature

La plus forte charge moyenne mensuelle de *R. appendiculatus* à Misebere (105 tiques/bovin) est liée probablement à la pratique de l'élevage traditionnel. Les animaux sont nourris dans des broussailles, des jachères et sous les bois qui hébergent des rongeurs, hôtes des stades immatures de *R. appendiculatus* ; bien que les nymphes manifestent un tropisme important pour les ongulés, les larves se nourrissent sur des mammifères de petite taille. Cet élevage traditionnel représente un facteur de risque épidémiologique important vis-à-vis de l'infection à *T. parva*. L'utilisation de pâtures libres et communes et l'emprunt de mâles reproducteurs lors des saillies sont généralement associés aux mouvements des animaux d'un troupeau à l'autre ce qui facilite l'infestation des pâtures par des tiques et rendent possible leur fixation sur des animaux provenant de différents troupeaux et donc la transmission de *T. parva*.

A l'UCG où les cas cliniques ont été enregistrés, la coïncidence observée entre les pics d'abondance des adultes de *R. appendiculatus* et les périodes de séroconversion à *T. parva* semble confirmer que le rôle des nymphes est très faible dans la dynamique de transmission de l'infection comme ceci a été rapporté dans d'autres études (Ochanda *et al.*, 1996 ; 1998 ; Morel, 2000). Une faible corrélation a été observée entre le risque d'être infecté par *T. parva* et la quantité de nymphes présentes sur les animaux.

Morbidité au premier contact avec *Theileria parva*

La différence au plan épidémiologique de l'ECF entre les deux cohortes peut être bien expliquée par la différence de morbidité lors du premier contact avec l'infection à *T. parva*. La résistance très élevée des veaux contre l'ECF à Misebere semble être due au fait qu'ils accompagnent le troupeau sur la pâture où ils sont infectés dans les 2 à 3 premiers mois de leur vie et considérant le fait que les veaux sont moins infestés par les tiques et que l'inoculum est très faible puisqu'il provient des animaux adultes infectés subcliniques (Young *et al.*, 1996 ; Swai *et al.*, 2006), les veaux développent une immunité contre l'infection à *T. parva*. Cette situation est favorable à l'établissement d'un état d'enzootie stable au sein de ce troupeau (Moll *et al.*, 1986 ; Norval *et al.*, 1992). La résistance naturelle contre l'ECF chez les veaux nés des animaux indigènes (Zébus et Ankoles) (Barnett, 1968 ; Kock *et al.*, 1990)

n'est pas à négliger. Cette résistance est liée à une pression de sélection exercée sur les populations bovines en Afrique orientale par l'infection à *T. parva* (Barnett, 1963 ; Barnett et Brocklesby, 1966 ; Moll *et al.*, 1986). La situation pourrait probablement devenir instable dans certaines circonstances telles l'infection par une souche de *T. parva* différente de celle qui est à l'origine de l'immunité des animaux et les croisements entre les bovins indigènes étudiés avec des animaux plus sensibles à la maladie. Le faible effectif de veaux suivis nécessite une interprétation prudente. Néanmoins, le fait que 3 veaux nouveau-nés ont été exposés pendant plusieurs mois aux tiques *R. appendiculatus* dans un troupeau endémique d'ECF sans qu'aucun ne manifeste de signes cliniques particuliers confirme un état de stabilité endémique et ce d'autant plus que les animaux de l'UCG, exposés à un nombre beaucoup plus faible de tiques, ont présenté plusieurs cas cliniques avec des mortalités chez certains animaux non traités.

Indépendamment de la sensibilité élevée des animaux croisés à l'infection par *T. parva*, l'augmentation des cas cliniques de l'ECF avec l'âge à l'UCG est due principalement à la restriction de mouvement des veaux sur la pâture du fait qu'ils sont maintenus à l'étable (jusqu'à l'âge de 5 mois environ). Cette pratique a comme conséquence le report du premier contact avec *T. parva* pour plusieurs mois et comme la transmission de l'infection est très élevée dans ce troupeau parce que les tiques se nourrissent sur des animaux adultes infectés cliniques (Medly *et al.*, 1993 ; Young *et al.*, 1996), les veaux ont été très affectés. Cette situation possède un effet négatif à l'établissement de la stabilité enzootique au sein de ce troupeau. Des situations similaires ont été rapportées au Kenya (Gitau *et al.*, 1999 ; 2000) et en Ouganda (Katunguka-Rwakishaya et Rubaire-Akiiki, 2008 ; Muhanguzi *et al.*, 2010) où la restriction des veaux à la pâture est effective jusqu'à 6 mois d'âge. Dans notre étude, la situation a été bien étayée par la courbe de l'âge au premier contact avec *T. parva* qui indique qu'à l'UCG les veaux n'ont pas présenté les symptômes de l'ECF jusqu'à l'âge de 4 mois, ce qui semble indiquer que la façon dont ils étaient enfermés à l'étable les protège contre l'infection. Ensuite, 50% des veaux étaient infectés avant l'âge de 6 mois, soit environ 2 mois seulement après la mise en pâture.

Contrôle de l'East Coast fever

L'un des objectifs de cette étude était de préciser l'implication des états épidémiologiques identifiés sur le contrôle de la maladie. L'enzootie stable du troupeau de Misebere n'exige que

très peu de contrôle de l'infection. Cet élevage sur parcours libre offre des conditions très favorables à l'activité des tiques (Gitau *et al.*, 2000 ; Okuthe et Buyu, 2006 ; Gachohi *et al.*, 2011) et la situation observée indique que le contrôle des populations de tiques doit se limiter à les maintenir sous un seuil acceptable pour éviter certaines complications (lésions mécaniques de grattage, abcès, hématome, etc) (Morel, 2000).

A l'UCG, les traitements acaricides semblent efficaces puisqu'un grand nombre d'animaux se sont montrés très sensibles à l'infection lors de la rupture du contrôle des populations de tiques, ce qui a confirmé l'état d'instabilité enzootique au sein de ce troupeau (Mugabi *et al.*, 2010 ; Phiri *et al.*, 2010). Il s'agissait d'une situation artificielle induite par la restriction des contacts entre la tique *R. appendiculatus* infectée et les bovins via l'utilisation de produits acaricides à une fréquence élevée (Morel, 2000 ; Phiri *et al.*, 2010). Considérant le fait que l'immunité humorale n'est pas protectrice contre l'ECF (Bruce *et al.*, 1910 ; Morzaria *et al.*, 2000) et que les veaux sont maintenus à l'étable jusqu'à environ 5 mois d'âge, la meilleure méthode de contrôle de l'ECF qui permettrait sans doute l'établissement d'un état artificiel d'enzootie stable au sein de ce troupeau serait l'immunisation des animaux et le traitement des cas cliniques.

La **Figure 5.8** a révélé que l'immunisation éventuelle des animaux adultes devrait avoir lieu avant les périodes de forte incidence de l'ECF, ce qui correspond aux périodes comprises entre les mois de janvier et février et entre avril et mai. Mais les veaux doivent être vaccinés trop tôt dans leur âge. A l'heure actuelle, cette approche semble difficile à mettre en œuvre dans le contexte socio-économique du Nord-Kivu compte tenu de la lourdeur logistique liée au maintien de la chaîne du froid dans un pays où les axes routiers et les moyens de transport sont très déficients.

Conclusion

Bien que l'impact économique de l'ECF n'ait jamais été évalué dans les élevages de bovins du Nord-Kivu, cette étude démontre que l'incidence de la maladie chez des bovins croisés (très sensibles) et les conséquences y afférentes (mortalité d'animaux, coût élevé du contrôle régulier des tiques et traitement des cas cliniques) ne peuvent pas être sous-estimées. Les éleveurs devraient donc être informés des risques inhérents à la restriction de mouvements des

veaux sur la pâture durant les premiers mois de leur vie et à l'introduction d'animaux sensibles qui nécessitent d'être protégés d'une façon ou d'une autre. Les résultats de cette étude suggèrent la nécessité d'études en vue d'identifier les différentes souches de *T. parva* présentes dans la région et de déterminer leur virulence, ce qui permettrait une meilleure efficacité de l'immunisation des animaux par infection et traitement proposée comme méthode de contrôle de la maladie. Le coût d'utilisation de cette méthode doit aussi être évalué dans des études à impact zootechnique et socio-économique.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier la Coopération Technique Belge (CTB) pour le soutien financier lors de la réalisation de ce travail. Nous sommes également très reconnaissants aux éleveurs de la localité de Misebere au Sud-Est de la ville de Butembo et au responsable de la ferme de l'Université Catholique du Graben (UCG) pour avoir accepté nos visites régulières au sein de leurs exploitations. Nous remercions aussi l'équipe technique du département de santé animale de l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers (IMT), Belgique pour nous avoir fourni gracieusement l'antigène de *T. parva* et un sérum témoin positif pour le test sérologique.

Chapitre 6.

Teneur en composés roténoïdes et effet acaricide *in vitro* des feuilles de *Tephrosia vogelii* Hook sur la tique *Rhipicephalus appendiculatus*.



Tephrosia vogelii à fleurs blanches



Tephrosia vogelii à fleurs violettes



Séchage



Broyage



Extraction du principe actif par percolation

Préambule et présentation synoptique

Le but de cette étude était de déterminer la teneur des composés roténoïdes (la roténone et la degueline) des feuilles de la variété à fleurs blanches (TVB) et à fleurs violettes (TVV) de *Tephrosia vogelii* récoltées au Nord-Kivu, République Démocratique du Congo et d'évaluer leur propriété acaricide *in vitro* sur la tique *Rhipicephalus appendiculatus*. Le choix de la plante *T. vogelii* pour l'essai acaricide a été effectué sur base des réponses fournies par les vétérinaires sur la question concernant l'utilisation des plantes locales dans le contrôle des tiques (**Chapitre 3**). De même, la tique *R. appendiculatus* a été volontairement choisie dans le protocole expérimental puisqu'elle s'est révélée comme la plus dominante par rapport aux autres tiques identifiées au Nord-Kivu (**Chapitre 4 et 5**).

Les composés roténoïdes des feuilles de *T. vogelii* ont été identifiés par la méthode de chromatographie sur couche mince (CCM) ou « thin layer chromatography » (TLC) et leurs dosages ont été effectués par la technique de chromatographie liquide haute performance (HPLC). Les résultats de ces analyses ont révélé des teneurs plus élevées en roténone et en degueline dans les feuilles de TVB (0,044% et 1,13% respectivement) que dans celles de TVV (0,014% et 0,66% respectivement). Lors de l'essai *in vitro*, des lots de 20 tiques ont été immergés pendant 15 minutes dans six doses de chaque extrait des plantes (0,625 ; 1,25 ; 2,5 ; 5 ; 10 et 20 mg de feuilles/ ml d'eau distillée). L'effet acaricide des plantes a été comparé à celui d'un acaricide commercialisé dans la région, le Milbitraz® (12,5% m/v concentration émulsifiable d'amitraz) utilisé en fonction des instructions du fabricant (0,2% v/v). Les taux de survie des tiques dans chaque lot ont été enregistrés toutes les 24 heures pendant cinq jours. Les résultats ont révélé que les feuilles de *T. vogelii* possèdent une toxicité très élevée sur la tique *R. appendiculatus* et aucune différence significative ($P > 0,05$) des mortalités des tiques n'a été observée entre l'amitraz et les plantes utilisées à des doses d'au moins 2,5 ou 5mg/ml d'eau distillée respectivement pour TVB et TVV. La relation dose-effet déterminée au cinquième jour après traitement a montré un effet acaricide très comparable pour les deux variétés de *T. vogelii* et les doses létales 50 (DL₅₀) ont été de 0,83 et 0,81 mg/ml d'eau distillée respectivement pour TVB et TVV. De ces résultats, il résulte que *T. vogelii* peut être utilisée dans le contrôle des tiques dans des zones où les produits acaricides ne sont pas aisément accessibles. Cependant, l'extrait de la plante doit être utilisé par aspersion sur les animaux afin de limiter les risques d'écotoxicité liés aux roténoïdes.

Présentation détaillée

Rotenoid content and *in vitro* acaricidal effect of *Tephrosia vogelii* leaf extract on the tick *Rhipicephalus appendiculatus*

KALUME Moïse Kasereka^{a, b, d}, LOSSON Bertrand^b, ANGENOT Luc^c, TITS Monique^c,
WAUTERS Jean-Noël^c, FREDERICH Michel^c, SAEGERMAN Claude^{d*}

^a Faculty of Veterinary Medicine, Catholic University of Graben, 29 Butembo, North-Kivu Province, Democratic Republic of Congo.

^b Parasitology and Parasitic Diseases, Department of Infectious and Parasitic Diseases Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Liège, Boulevard de Colonster, 20, B43 Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium

^c Department of Pharmacy, Drug Research Center (CIRM), Laboratory of Pharmacognosy, University of Liège, B36 Sart-Tilman CHU, B-4000 Liège – Belgium.

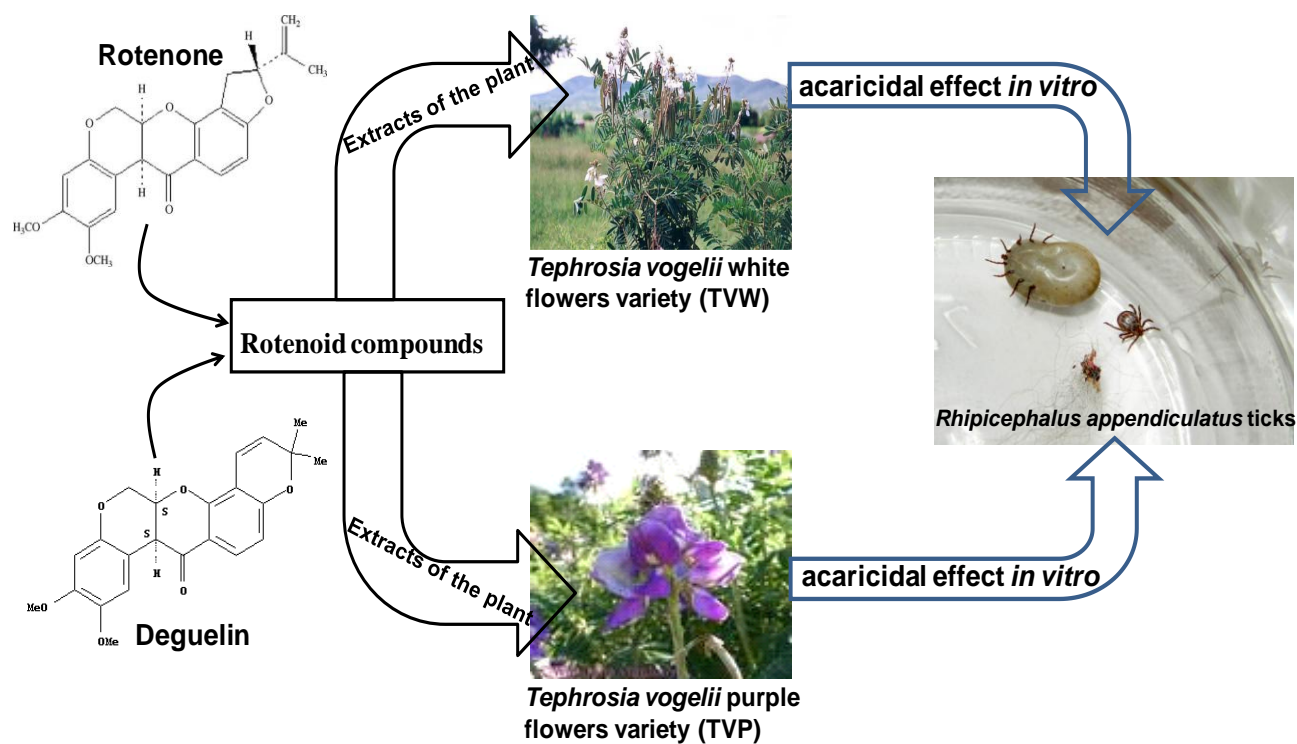
^d Research Unit of Epidemiology and Risk Analysis Applied to Veterinary Sciences (UREAR-ULg), Department of Infectious and Parasitic Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Liège, Boulevard de Colonster, 20, B42 Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium.

* **Corresponding author** : Prof. Claude SAEGERMAN, University of Liège, Boulevard de Colonster, 20, B42, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium. Tel. : + 32 (0)4 366 45 79 ; Fax. : + 32 (0)4 366 42 61 ; *E-mail* address : claude.saegerman@ulg.ac.be.

Vet. Parasitol. (2012), [http://dx.doi.org/ 10.1016/j.vetpar.2012.06.015](http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.06.015)

Graphical abstract

Rotenoid compounds (rotenone and deguelin) were found in the leaf extracts of the white (TVW) and purple (TVP) flowers varieties of *Tephrosia vogelii* Hook (Fabaceae) which exhibited *in vitro* a high level of toxicity on the tick *Rhipicephalus appendiculatus*.



Abstract

This study aimed to determine the rotenoid content of leaf extracts of the white (TVW) and purple (TVP) varieties of *Tephrosia vogelii*, both collected in North-Kivu Province, Democratic Republic of Congo (DRC) and to evaluate their *in vitro* acaricidal efficacy on adults of the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. HPLC analysis of rotenoid compounds from those extracts revealed that the contents of rotenone and deguelin were respectively higher in the leaves of TVW (0.044% and 1.13%) than in TVP (0.014% and 0.66%). Batches of 20 live adult ticks were immersed for 15 minutes in six different doses of each plant extract (0.625 ; 1.25 ; 2.5 ; 5 ; 10 and 20mg /mL of distilled water) and in the solution of Milbitraz® (12.5% m/v emulsifiable concentrate of amitraz) as a positive control. Additionally 9.5% ethanol and distilled water control groups were included. Tick mortalities were recorded every 24 hours for 5 days. The results indicated that there was no significant difference ($P > 0.05$) between the acaricidal effect of Milbitraz® and the plant material used at a dose of at least 2.5 or 5 mg/mL for TVW and TVP respectively. However, the dose-response relationship determined at the fifth day after treatment showed a similar acaricidal effect for the two plant varieties with similar lethal dose 50 (LD₅₀) of 0.83 and 0.81 mg /mL for TVW and TVP respectively. It is concluded that *Tephrosia vogelii* leaves may be used for the control of *R. appendiculatus* in areas where synthetic acaricides are either not available or affordable. However, *T. vogelii* extract should be sprayed in order to limit the potential risks of ecotoxicity linked to rotenoid compounds.

Key words: *Tephrosia vogelii* (Fabaceae), Rotenone, Deguelin, LD50, *Rhipicephalus appendiculatus*

Introduction

Phytotherapy is considered as a viable alternative to the use of synthetic compounds for the control of tick infestations of livestock (Moyo and Masika, 2009; Madzimure et al., 2011). This is particularly true in developing countries (Isman, 2008; Van Wyk, 2008) such as the Democratic Republic of Congo (DRC). A survey conducted by Kalume et al. (2009) in the Province of North-Kivu, DRC among the veterinarians of this area indicated that tick control is confronted with different constraints related to: (i) the total absence of acaricides in most farms; (ii) the poor availability and high cost of these compounds on the local veterinary market and (iii) the development of resistance of local ticks to the most commonly used acaricides such as amitraz and organophosphates. These constraints have prompted farmers to use empirically some plants such as *Tephrosia vogelii* Hook for the control of tick infestations and other ectoparasites of livestock (Kasonia and Yamalo, 1994; Byavu et al., 2000).

Tephrosia vogelii Hook is widely distributed in tropical and subtropical countries (Troupin, 1982); due to its toxicity to fish it is mainly used for fishing in fresh water (its colloquial name is “Fish Poison Bean”) (Blommaert, 1950). Its main active components are rotenoid compounds and more particularly rotenone and deguelin (Hagermann, 1972; Hassan Al-Hazimi et al., 2005) which are well known for their insecticidal activity. It was introduced into agriculture for the purpose of commercial production of rotenone (Barnes and Freyre, 1966). *Tephrosia vogelii* is also listed as a medicinal plant in the PRELUDE data bank (Baert et al., 1996; Soheranda et al., 2004) in which it is presented as an anthelmintic, a molluscicide, an antiseptic and an insecticide. A leaf water extract is used for the control of insect and mite pests on crops (Troupin, 1982; Ratnam, 2001) but also mange and ringworm in animals (Van Puyvelde et al., 1977). In China it has been used to eliminate a population of *Culex pipiens quinquefasciatus* (Huang et al., 2007b) resistant to dichlorvos and chlorpyrifos (Liu et al., 2005; 2010). In Zimbabwe, Gadzirayi et al. (2009) reported that a water extract obtained from the leaves of *T. vogelii* could reduce the tick burden of cattle.

Few data are available on the nature and concentration of active compounds in the leaf of the plant; additionally two varieties with respectively white (TVW) and purple (TVP) flowers are found in DRC and used for the same purposes. The aim of the present study was to determine the rotenoid contents of the leaves of both varieties collected in the Province of North-Kivu, DRC and to evaluate the *in vitro* acaricidal activity of the leaves extracts on the tick *Rhipicephalus appendiculatus*, one of the main ectoparasites of cattle in this area.

Materials and methods

Plant material

Fresh leaves from both varieties of *T. vogelii* Hook (Fabaceae) were collected in May 2011 in a single day in the botanical garden of the Catholic University of Graben in the city of Butembo, DRC at an altitude above sea level of 1825 m (29°15,153' East - 0°07,117' North). The leaves were left to dry for two weeks at ambient temperature and then for 72 hours at 40°C. The dried plant materials were then crushed and kept separately in airtight plastic bags in the dark. A voucher specimen of each plant (leaves, stems, flowers and seeds) was identified by Prof. Lambinon, University of Liège – Institute of Botany according to the voucher specimens deposited at the Herbarium of the Department of Botany, University of Liège, Belgium, with the References 2767 and 1500 for the variety of the white and purple flowers respectively.

Identification and evaluation of the content of rotenoid compounds in ethanol extracts of Tephrosia vogelii

A precisely weighed amount (around 1.0 g) of the powdered plant material was extracted with 100 mL of 95% ethanol (v/v) in water for 1 h by percolation (Wichtl and Anton, 2003). The solvent was then evaporated under reduced pressure with a rotary evaporator. The residual extract was dissolved in 50.0 mL methanol and was then filtered through a 0.45 µm filter. The high performance liquid chromatography (HPLC) analysis was carried out and LC/DAD spectra were recorded with an Agilent 1100 series (quaternary pump (G1311A), vacuum degasser (G1379A), Autosampler thermostatted (G1313A) column compartment (G1316A) and a diode-array detector (G1315A)) on a Hypersil ODS column (250 × 4.6 mm; 5 µm particle size, Thermo). Samples were eluted with the following system: mobile phase A: Water; mobile phase B: acetonitrile; gradient: 0 min: 50% B; 30 min: 70 % B; 31 min: 50% B; then reequilibration for 15 min. The injection volume was 10 µL and separation was carried out at 25 °C with a flow rate of 1 ml/min. The detection wavelength was 294 nm and the total run time 46 min. Rotenone (>96%, HPLC) was obtained from the pharmacognosy laboratory collections and deguelin (>98%) was purchased from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany).

Tick collection and in vitro evaluation of acaricidal activity

A 50 gr sample of dry leaves of each variety was macerated in 250 mL of 95% ethanol according to the percolation technique (Wichtl and Anton, 2003). These extracts were kept at room temperature and in the dark until further use. Semi-engorged adults of the tick *R. appendiculatus* were collected manually in May 2011 from naturally infected cattle in the village of Misebere, North-Kivu Province at an altitude of 1916 m a.s.l. (29°19' East - 0°05' North). Ticks were kept in plastic aerated cell culture flasks and identified at the species level according to the morphological criteria reported by Walker et al. (2003).

A total of 300 living ticks of both sexes were divided randomly into 15 batches of 20 ticks each. Each batch was immersed for 15 minutes in a predefined concentration of the two extracts (TVW and TVP). Six different concentrations in distilled water were evaluated: 0.3125; 0.625; 1.25; 2.5; 5 and 10% (v/v) corresponding to 0.625; 1.25; 2.5; 5; 10 and 20 mg of leaves / mL. A positive control consisted in a solution of Milbitraz® spray-dip, a 12.5% m/v emulsifiable concentrate amitraz-based compound (Bayer Ltd, Isando, South Africa) used according to the recommendations of the manufacturer (0.2% v/v). Additionally 9.5% ethanol and distilled water control groups were included. After immersion the different batches of ticks were transferred to plastic Petri dishes which were kept in the dark. The viability of each batch was recorded every 24 hours for 5 days under a dissecting microscope. Indeed, after this period of time the residual activity of rotenone in water solution is considered as negligible (O'Brien, 1967; Fukami and Nakajima, 1971).

Statistical analysis

The data were handled by means of the software Excel ®. The comparison of the mortality rates of ticks between treatments was made by means of a test of Welch for unequal variances (Dagnelie, 1998). The cumulative percentage of the corrected mortality rate (cM) was estimated according to the formula of Abbott (1925): $cM = [(oM - uM) / (100 - uM)] \times 100$

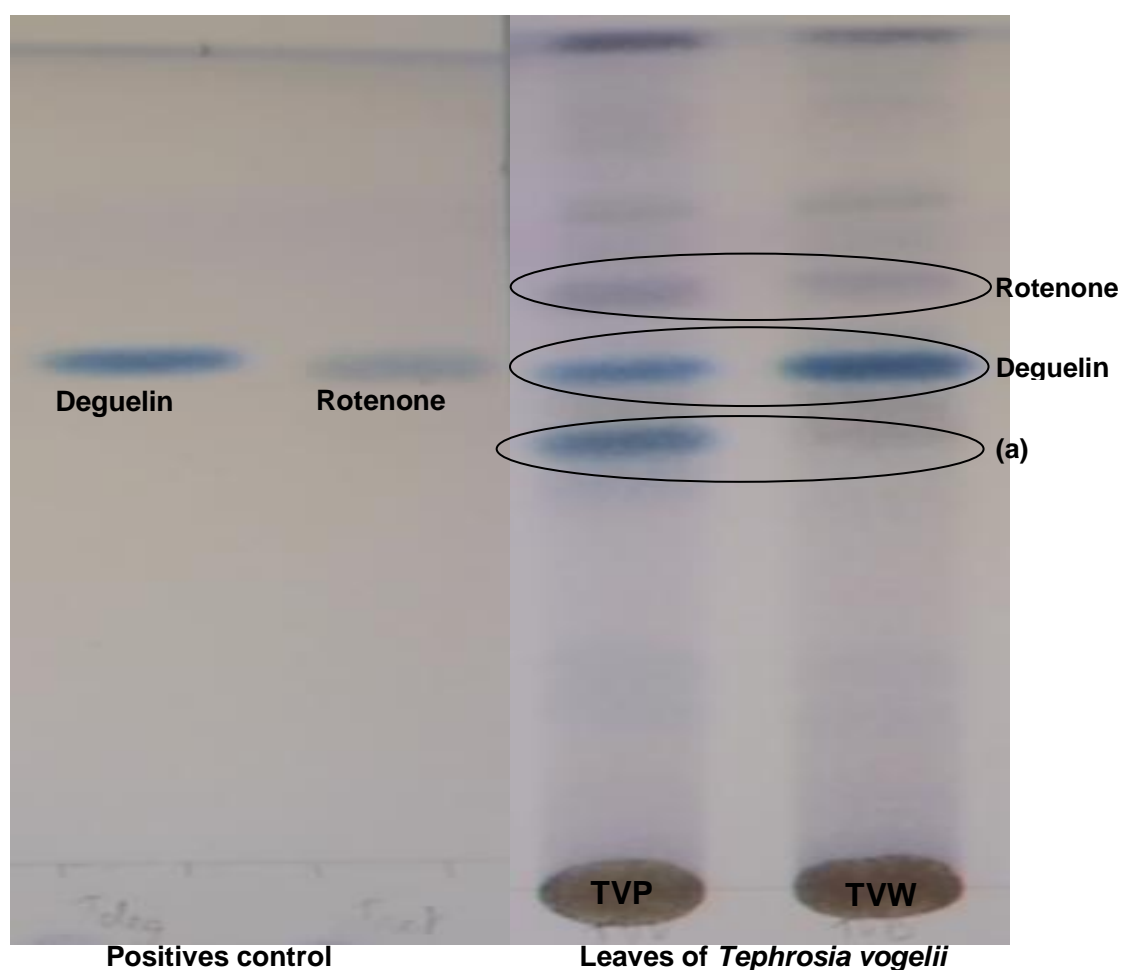
Where: cM = corrected mortality rate; oM = mortality rate observed in the treated box and uM = mortality rate observed in the untreated box (distilled water).

The regression of the logarithm of the dose of plant extract according to the probits of the cumulative percentage of the corrected mortality rate of ticks allowed to determine the lethal dose 50 (LD₅₀) according to the method of Finney (1971).

Results

Rotenoid content of the two varieties of Tephrosia vogelii

The **Figure 6.1** presents the thin layer chromatography (TLC) of rotenone and deguelin compound in *T. vogelii*. Results of the HPLC analysis are presented in **Figure 6.2**; rotenone and deguelin were detected in both varieties after 11.6 and 12.6 minutes of run respectively and were identified by comparison of their retention time and UV spectra with reference standards. To confirm the identification, several HPLC and TLC conditions were used. The contents in rotenone and deguelin are given in **Table 6.1**; TVW had a higher content of both compounds (0.044% and 1.13% respectively) when compared to TVP (0.014% and 0,66% respectively).



The compound (a) has a similar migration to that of deguelin but was not identified in the frame of this study

Figure 6.1: TLC-chromatogramme of rotenone and deguelin performed on the extract of *Tephrosia vogelii* leaves - white flower (TVW) and purple flower (TVP) varietie

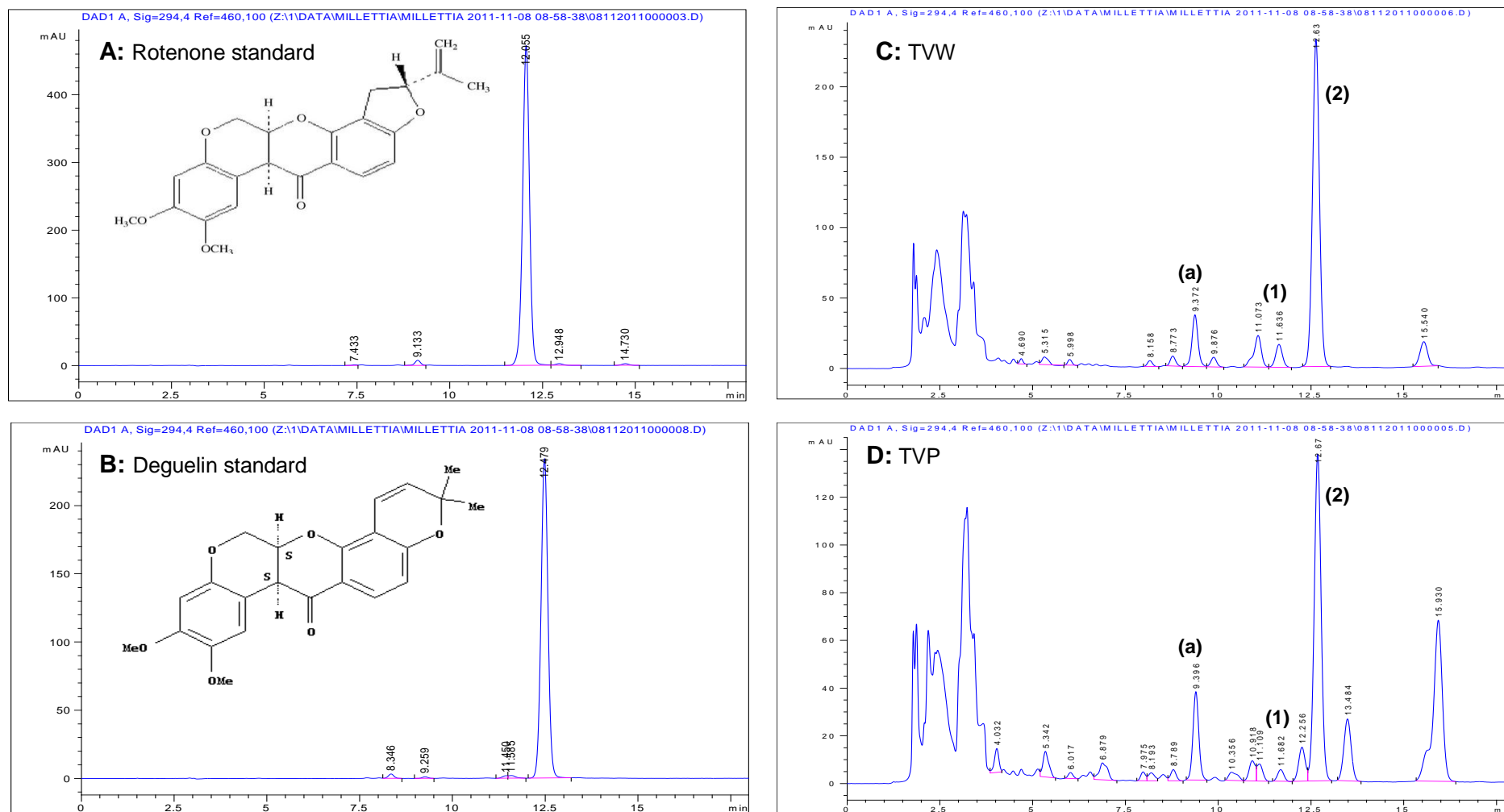


Figure 6.2. HPLC chromatographs, panel A is the chromatogram and structure of rotenone standard, panel B is the chromatogram and structure of deguelin standard, panels C and D are the chromatograms of rotenone (1) and deguelin (2) performed on the analysis of the extract of *Tephrosia vogelii* leaves - white flower (TVW) and purple flower (TVP) varieties respectively. (a) has a similar UV spectra analogous to deguelin but was not identified in the frame of this study.

Table 6.1. Contents in rotenoid compounds of the leaves of *Tephrosia vogelii* - white flower (TVW) and purple flower (TVP) varieties

Rotenoid compounds	Content (% , m/m)	
	TVW	TVP
Rotenone	0.04385	0.01394
Deguelin	1.1338	0.6556
Total	1.17765	0.66954

Evaluation of the in vitro acaricidal activity of TVW and TVP leaf extracts on Rhipicephalus appendiculatus

Table 6.2 presents the cumulative mortalities of *R. appendiculatus* adult ticks in the different experimental groups over 5 days after treatment. Mortalities are dose-related; a 100% mortality rate was reached with the highest concentration (20 mg/ mL) 24 and 72 hours after exposure for TVW and TVP respectively. With 10 mg/ mL, mortality rate of 100 and 95% were recorded on day 5 with TVW and TVP respectively.

Significant differences ($P < 0.05$) were observed between the different batches. Mortality rate in distilled water control was significantly ($P < 0.004$) lower than the ones observed with the lowest dosage (0.625 mg/ mL) regardless of the plant. Additionally, a significant ($P < 0.05$) difference was observed also between the exposure to 9.5% ethanol and the plant material used at a dose of at least 2.5mg/ mL. This suggests a low acaricidal effect of 9.5% ethanol compared to the effect of the plant extracts.

In contrast there was no significant difference ($P > 0.05$) between the positive control (amitraz) and the four or three highest doses of TVW and TVP respectively. The dose-effect relationship for the two varieties of *T. vogelii* is shown in **Figure 6.3**. The two curves were almost identical; LD50 were 0.83 and 0.81 mg/ mL for TVW and TVP respectively.

Table 6.2. *In vitro* acaricidal efficacy of extracts obtained from the leaves of *Tephrosia vogelii* on the adults of *Rhipicephalus appendiculatus* (n= 20) as a function of the time after exposure - white flower (TVW) and purple flower (TVP) varieties

Treatments	Doses ^a	Cumulative numbers of dead ticks after exposure				
		Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5
TVW	0.625	8	8	9	9	9
	1.25	12	13	15	15	15
	2.5	13	14	19	19	19
	5	15	19	19	19	19
	10	17	19	19	19	20
	20	20	20	20	20	20
TVP	0.625	5	7	8	8	9
	1.25	10	13	14	14	15
	2.5	15	15	17	18	19
	5	19	19	19	19	19
	10	19	19	19	19	19
	20	19	19	20	20	20
Positive control (Milbitraz®)		18	18	19	20	20
Ethanol 9.5%		10	12	14	14	14
Distilled water		2	2	3	3	3

^a mg of dried leaves / mL distilled water

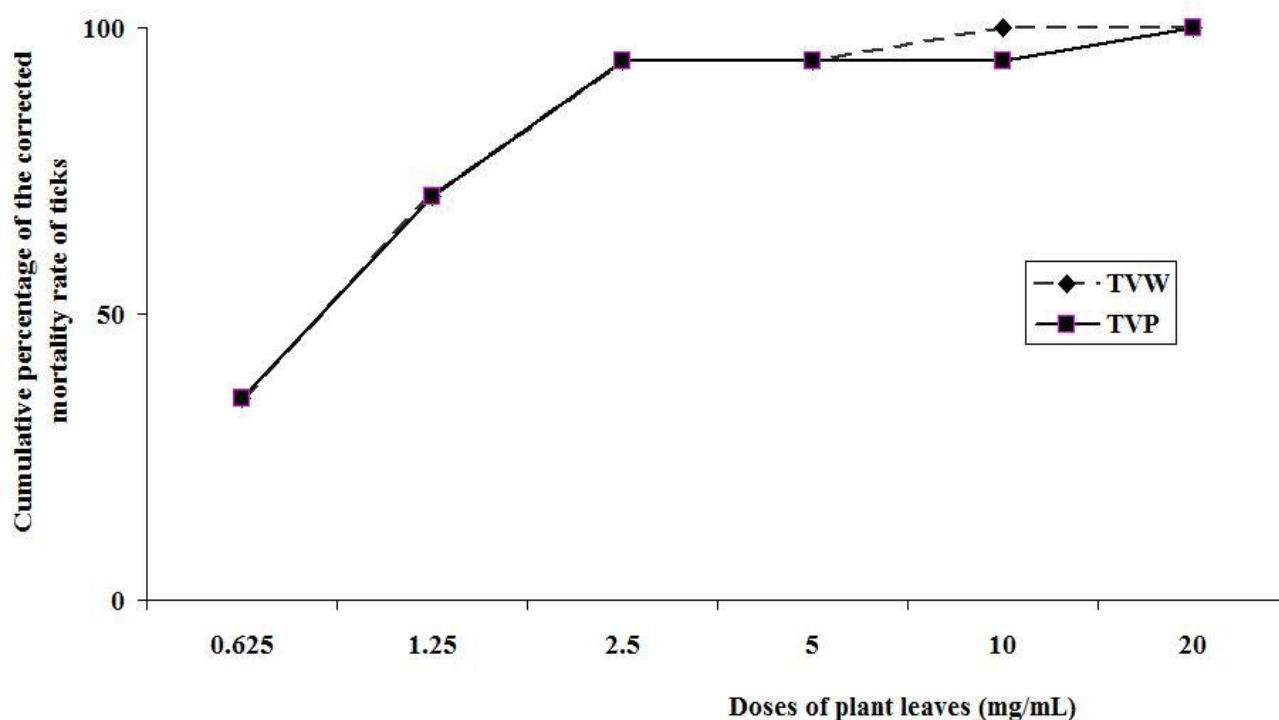


Figure 6.3. Dose-effect relationship on day 5 after exposure of adults of *Rhipicephalus appendiculatus* to different concentrations of a leaf extract obtained from the white (TVW) or purple (TVP) varieties of *Tephrosia vogelii*.

Discussion

The ethanolic leaf extract of *T. vogelii* exhibited a high level of toxicity on the tick *R. appendiculatus*. This acaricidal activity is probably linked with the presence of different rotenoid compounds which are known for their acaricidal and insecticidal activity (Hagermann et al., 1972 ; Matsumura, 1975 ; Uddin and Khanna, 1979). The contents in the two main rotenoid compounds identified in the plant namely rotenone and deguelin differ markedly as demonstrated by HPLC analysis: the amount of deguelin is higher when compared with rotenone. Similar observations were reported in different studies (Delfel et al., 1970 ; Hagermann et al., 1972).

Delfel et al. (1970) found different concentrations of rotenoids in *T. vogelii* according to the part of the plant: the leaves contain higher amount of deguelin whereas the stems and roots have higher contents of rotenone. Matovu and Olila (2007) have reported also that leaves of

T. vogelii collected in Uganda accumulate relatively high amounts of the active ingredients compared to the roots. This may explain why leaves are preferred by the local farmers for effective pest control as indicated earlier by Kalume et al. (2009), in addition to maintaining the life of the plant and hence a sustainable harvest. Rotenoid content varies also according to the age of the plant: the amounts increase with age to reach a maximum at maturity (Barnes et al., 1967; Hagermann et al., 1972). In the present study the leaves of both varieties were collected from mature plants. Finally the amount of rotenone may vary also according to the nature of the soil and the season (Huang et al., 2007a). A compound which has a similar migration to that of deguelin in TLC and presented a same UV spectrum detected in the HPLC could be tephrosin a product obtained through the oxidation of deguelin (Lambert, 1993 ; Ekpendu, 1998).

The acaricidal activity of *T. vogelii* leaf extract could be due to its high content in deguelin which was observed in both varieties. The exact mode of action of deguelin on ticks remains poorly elucidated and should be studied. Smaller amounts of rotenone were present in our samples; however this substance acts at very low dosages by blocking the respiratory mitochondrial pathway of the pest target through the specific inhibition of the oxidation of ADP into ATP (Fukami et al., 1970; Matsumura, 1975). This leads to a progressive reduction of nerve conduction and parasite death. Although rotenoids must be considered as responsible for the majority of the acaricidal activity observed, the two varieties investigated showed a similar acaricidal activity while the amount of rotenoids in TVW was more than two fold higher in comparison with TVP. This probably suggests a synergic effect with other compounds which were not identified in the frame of the present study.

It is noteworthy that in the present study no significant differences were observed between the positive control (amitraz) and the plant material used at a dose of at least 2.5 or 5 mg/ mL, for TVW and TVP respectively. This suggests that *T. vogelii* could represent an alternative to the use of synthetic products which are usually expensive and difficult to obtain in many areas of the world. A similar observation was made in Zimbabwe where the activity of the leaves of *T. vogelii* was compared to Triatix D (amitraz) (Gadzirayi et al., 2009). In this study fresh leaves of *T. vogelii* were macerated in water. However rotenone and deguelin are rapidly break up in water (O'Brien, 1967 ; Fukami et al., 1971 ; Tomlin, 2000). Under these conditions the acaricidal effect would be due to their respective products of oxidation namely rotenolone and tephrosin (Matsumura, 1975; Uddin and Khanna, 1979).

Although the LD₅₀ of both varieties were similar, the leaves of TVW were shown to contain higher amounts of rotenoid compounds than TVP; additionally a full acaricidal activity on the

tick *R. appendiculatus* was achieved with a dose of 20 mg/ mL in 24 and 72 hours with TVW and TVP respectively. In the areas where both varieties are present, it could be recommended to use in priority the white one. However, seasonal collections should be analyzed before coming to the conclusion that the differences in concentration of rotenoids are significant between the two plants. It has been observed during the present study, that both varieties of *T. vogelii* can effectively control ticks and the dose response curves were very similar on the tick *R. appendiculatus* which is an important vector of cattle diseases in Eastern, Central and Southern Africa.

However, precautions must be taken when using extracts of *T. vogelii*. The product should be used by spraying for two principal reasons:

(i) Firstly, rotenone and deguelin are unstable in aqueous solution and exposed to light where they decompose in rotenolone and tephrosin respectively (Lambert, 1993 ; Ekpendu, 1998). This would require a renewal of the acaricide bath solution within about a week, period of time in which the residual activity of rotenone in water solution is considered as negligible (O'Brien, 1967 ; Fukami et al., 1971) and therefore, the cost of the dipping method would be very high;

(ii) Secondly, extracts of *T. vogelii* have potential detrimental impact on the environment due to their toxicity on aquatic organisms (Blommaert, 1950; Troupin, 1982). Thus, dipping approach may represent a very high risk of the ecotoxicity when draining the acaricidal baths. Future studies should aim to improve the technique of spraying of *T. vogelii* extracts by adding adjuvants such as foaming products. Additional studies are required in order 1) to improve the formulation of extracts of *T. vogelii* either as a water soluble suspension or as an oil-based solution, 2) to measure the rotenoid content in relation with the season of harvest, 3) to assess the *in vivo* efficacy and safety, 4) to calculate the production cost using locally available solvents, 5) to determine the long term stability of the different compounds after storage under an appropriate form, 6) to evaluate withdrawal periods if any for meat and milk and 7) to assess the dose response curve on other tick species.

Acknowledgements

We would like to acknowledge the financial support of the Belgian Technical Cooperation, Brussels, Belgium. Our thanks also for the cattle breeders in the village of Misebere, Province of North-Kivu, DRC who helped the first author for the collection of ticks. Our thanks also to Jessica Collard for her contribution.

Chapitre 7

Discussion générale, conclusions et perspectives

Avant de développer une méthode de contrôle des maladies transmises par les tiques dans une région, il convient de déterminer la situation épidémiologique de celles-ci, ainsi que celle à laquelle on souhaite aboutir. Le contrôle de l'East Coast fever (ECF) en particulier, est difficile à réaliser dans la plupart des zones endémiques, en raison de la présence de facteurs très complexes qui influent sur son épidémiologie. La dynamique de la transmission de cette maladie est extrêmement variable et implique des facteurs affectant le parasite *T. parva*, l'hôte intermédiaire, le bœuf et l'hôte définitif, la tique *R. appendiculatus*. Des différences dans l'épidémiologie de l'ECF ont été rapportées entre les régions de l'Afrique centrale et orientale et dans une même région à cause des différences dans la phénologie de la tique *R. appendiculatus*. Cependant, peu d'informations sur l'épidémiologie de l'ECF sont disponibles dans la Province du Nord-Kivu, à l'Est de la République Démocratique du Congo (RDC).

L'objectif de cette thèse consistait à recueillir des données sur les facteurs liés à la présence et à l'émergence éventuelle de l'ECF au Nord-Kivu, de les analyser afin de déterminer les états épidémiologiques de la maladie et d'optimiser la méthode de contrôle des tiques utilisée localement. Plus spécifiquement, cette thèse visait à collecter des données sur l'ECF via quatre études :

Premièrement, en raison de l'absence de données disponibles sur les maladies transmises par les tiques au Nord-Kivu, une enquête rétrospective a été réalisée auprès des vétérinaires cliniciens pour obtenir des informations concernant la présence antérieure, la répartition géographique et l'évolution pendant trois ans (2005 à 2007) des trois principales maladies transmises par les tiques, à savoir : l'East Coast fever (ECF), l'anaplasmose et la piroplasmose bovines. Les méthodes utilisées localement dans le diagnostic, la prévention et le traitement des maladies concernées ont été aussi recueillies.

Deuxièmement, puisque les résultats de l'enquête rétrospective étaient basés sur des connaissances subjectives des vétérinaires cliniciens, deux études ont été menées sur le terrain dans des zones ciblées pour évaluer la pertinence des informations recueillies. Une première étude, de type transversal, a permis de préciser la distribution agro-écologique des tiques et la prévalence de l'infection à *T. parva*. Une seconde étude de terrain visait à estimer des indicateurs épidémiologiques de l'ECF comme l'abondance de la tique *R. appendiculatus* sur les animaux, l'incidence clinique de l'ECF, l'âge au premier contact avec l'agent pathogène ainsi que le taux de survie des animaux contre l'ECF. L'étude a également évalué le taux de

portage par *T. parva* au sein des tiques collectées. La combinaison de ces informations a permis de caractériser les états épidémiologiques de l'ECF au Nord-Kivu et leurs implications dans les stratégies de contrôle de la maladie.

Finalement, pour mettre en place une stratégie de contrôle des tiques adaptée aux conditions socio-économiques locales précaires, une étude expérimentale a été conduite *in vitro* pour évaluer les propriétés acaricides sur la tique *R. appendiculatus* d'un extrait obtenu à partir des feuilles de *Tephrosia vogelii* Hook, une plante médicinale fréquemment utilisée au Nord-Kivu contre les ectoparasites.

Les résultats de ces différentes études sont discutés dans ce chapitre en mettant l'accent sur une analyse plus détaillée des différents facteurs de risque des maladies transmises par les tiques et sur l'évaluation des indicateurs épidémiologiques de l'ECF dans la région d'étude. A la fin de ce chapitre, des recommandations et perspectives sont présentées en particulier dans le cadre de l'utilisation stratégique de la plante *T. vogelii* dans le contrôle des tiques au Nord-Kivu.

7.1. Perception des vétérinaires cliniciens sur les principales maladies transmises par les tiques dans la Province du Nord-Kivu

Pour vérifier les circonstances de l'émergence des maladies transmises par les tiques en termes de la présence ou de l'absence antérieure et de l'évolution spatio-temporelle dans une région, la perception des agents du terrain (vétérinaires et/ou éleveurs) est sollicitée *a priori* (Ohaga *et al.*, 2007 ; Chenyambuga *et al.*, 2008 ; 2010). Bien que les études rétrospectives soient caractérisées par une puissance assez faible, une bonne connaissance des données sur l'histoire naturelle des maladies dans une région fournit des éléments clés aux acteurs du réseau de l'épidémiosurveillance des maladies vectorielles en vue d'augmenter l'efficacité de leurs activités.

Une contrainte majeure rencontrée lors de la conduite de nos travaux (**chapitre 3**) était le manque d'homogénéité dans la répartition des vétérinaires interrogés dans les différents territoires du Nord-Kivu. Ce biais de sélection était attribuable à la méfiance des vétérinaires

sollicités en période de guerre. Cette situation a été surmontée par l'utilisation de la technique d'enquête participative (Bénet *et al.*, 1993) au cours de laquelle les enquêtés étaient tenus d'aller distribuer les mêmes formulaires à d'autres vétérinaires et ce, notamment dans les zones où la guerre sévissait, ce qui a permis d'atteindre un grand nombre de vétérinaires en peu de temps.

Au cours de cette enquête, le taux de participation par les Médecins vétérinaires cliniciens a été plus élevé que celui enregistré chez les techniciens d'élevage. Cette différence peut justifier le faible taux des réponses positives obtenu (12% ; 95%IC=10-14%) puisque les Médecins vétérinaires du Nord-Kivu sont peu nombreux sur le terrain. Le nombre total des Médecins vétérinaires actifs en milieu rural est estimé à 132 (en 2009) et l'effectif exact des techniciens d'élevage n'est pas connu (Source : Ministère Provincial de l'Agriculture, Pêche et Elevage, AGRIPPEL, 2010). Cette source a signalé aussi que le faible effectif des Médecins vétérinaires cliniciens ruraux est justifié par le fait que les éleveurs, actuellement non subsidiés, utilisent très peu des vétérinaires qualifiés à cause du coût élevé des honoraires.

7.1.1. Diagnostic et prévalence des maladies transmises par les tiques

Parmi les trois maladies concernées par l'enquête, l'East Coast fever (ECF) est perçue comme la plus fréquente par rapport à l'anaplasmose et à la piroplasmose bovine. Cette perception est basée essentiellement sur le diagnostic clinique, la seule méthode actuellement utilisée par les vétérinaires du Nord-Kivu. Dans la présentation du tableau clinique de ces maladies, des signes cliniques tels que le gonflement des ganglions parotidiens et préscapulaires, le larmolement et les troubles respiratoires sont très caractéristiques de l'ECF (Lawrence *et al.*, 1994). Cependant, une respiration laborieuse est observée aussi en cas d'anaplasmose bovine (De Waals, 2000) et par conséquent, cette maladie peut facilement être confondue avec l'ECF. Par ailleurs, l'émission d'urines rouges citée comme principal symptôme des babésioses bovines peut être due à certaines affections du tractus urinaire et à des intoxications par certaines plantes comme la fougère-aigle, la plus fréquente dans les pâtures du Nord-Kivu. En outre, le seul diagnostic clinique ne permet pas, le plus souvent, de différencier l'anaplasmose d'une babésiose puisque ces maladies présentent des symptômes très semblables dans leur forme aiguë. Il résulte de ces observations que le diagnostic clinique utilisé par les vétérinaires devrait être complété par des examens de laboratoire pour

différencier d'une manière objective ces trois maladies vectorielles (Morel, 2000 ; Ashford *et al.*, 2001). La mise en place au Nord-Kivu, des méthodes de diagnostic parasitologique et sérologique spécifiques permettrait une bonne estimation des prévalences de chacune des maladies.

Cependant, ce classement concernant les trois principales maladies transmises par les tiques, classement réalisé par les vétérinaires et qui met l'ECF en première position se retrouve également au cours d'enquêtes menées auprès des éleveurs au Kenya, en Ouganda et en Tanzanie (Chenyambuga *et al.*, 2010). Cela semble indiquer que toute la région de l'Afrique orientale offre des conditions climatiques et écologiques très favorables au développement de la tique *R. appendiculatus*, principal vecteur de l'ECF (Walker *et al.*, 2003). Dans une étude sur la distribution des tiques, Lessard *et al.* (1990) ont rapporté la présence de *R. appendiculatus* sur une grande partie de l'Afrique orientale, ce qui a été confirmé plus tard dans d'autres études (Norval *et al.*, 1992 ; Morel, 2000 ; Walker *et al.*, 2003).

Notre étude indique que la région anatomique préférentielle de fixation des tiques sur les bovins était l'oreille, reconnue comme le site de prédilection de la tique *R. appendiculatus* au stade adulte (Ashford *et al.*, 2001 ; Walker *et al.*, 2003).

7.1.2. Facteurs liés à la présence des maladies transmises par les tiques

Certains paramètres ont été mis en évidence comme des facteurs de risque de l'ECF et des autres maladies concernées par l'enquête. Ces facteurs sont liés pour la plupart aux conditions climatiques (température et pluviométrie) et écologiques (végétation et faune sauvage) de la région. Les catégories d'âge et la race des animaux ont été citées comme des facteurs importants au niveau des troupeaux. C'est la première étude de ce genre qui permet d'identifier de tels facteurs au Nord-Kivu concernant les maladies transmises par les tiques.

■ L'uniformité des conditions climatiques au Nord-Kivu s'est avérée représenter un risque très significatif dans le cadre des maladies transmises par les tiques puisqu'elle influence favorablement la survie et l'activité élevée des vecteurs en particulier de la tique *R. appendiculatus* (Madder *et al.*, 1997 ; 1999 et 2002). Ceci a eu pour conséquence immédiate

que des cas cliniques d'ECF et d'autres maladies concernées ont été observés durant toute l'année par les vétérinaires ayant participé à l'enquête.

Cependant, l'influence de l'altitude n'est pas à négliger, la région étant très montagneuse. Plus l'altitude augmentait, moins il y avait de cas cliniques de maladies transmises par les tiques. Cet effet protecteur semble s'expliquer par le fait qu'au Nord-Kivu les zones les plus élevées (> 1850m d'altitude), communément appelées « *zones de hautes terres* ou *zones maraichères* », présentent des températures très faibles, à certaines périodes de l'année (Kasay, 1988), qui sont moins favorables à la survie et à l'activité des tiques. Toutefois, l'existence dans les vallées de micro-écosystèmes dans lesquels les conditions restent clémentes pour les tiques, par exemple à proximité des points d'eau où les animaux ont tendance à se rassembler, doit être aussi prise en compte. De Garine-Wichatitsky *et al.* (1999) ont rapporté la tendance des tiques femelles engorgées à se détacher de leur hôte et à déposer leurs œufs dans des zones de repos ou d'abreuvement du bétail. Cette stratégie assure une survie optimale des larves lorsque les conditions climatiques sont défavorables.

■ Les vétérinaires interrogés ont rapporté que les cas cliniques sont plus fréquents dans les troupeaux de bovins situés à proximité des parcs nationaux de Virunga et de Maïko ou au sein de la savane boisée du Graben. Cette observation peut s'expliquer par le fait que ces milieux hébergent des mammifères ongulés sauvages comme le buffle Africain (*Syncerus caffer*), hôtes réservoirs de la tique *R. appendiculatus* (Ashford *et al.*, 2001). Les animaux sauvages peuvent entretenir un cycle de *Theileria* spp. pendant une longue période avant que les tiques éventuellement infectées n'atteignent des animaux domestiques réceptifs. De la même manière, l'intrusion de buffles dans des zones pastorales constitue un risque élevé. En outre, pour une tique à trois hôtes comme *R. appendiculatus*, la présence de broussailles et de boisements à proximité de la pâture constituent des biotopes favorables aux rongeurs, principaux hôtes de la tique au stade larvaire (Walker *et al.*, 2003). Une relation significative était généralement signalée entre la présence des tiques sur les animaux et les zones boisées.

■ Un autre facteur permettant d'expliquer l'état d'endémie de l'ECF et des autres maladies transmises par les tiques au Nord-Kivu est le système d'élevage des bovins caractérisé par des mouvements de cheptels non soumis à un contrôle des infestations par les tiques. Dans ce cas de figure, des animaux infectés sub-cliniques et des tiques infectées peuvent pénétrer dans une zone indemne et la contaminer. Au Nord-Kivu, ces mouvements d'animaux sont plus fréquents en période de guerre, lors de rotation de pâturages, de transfert d'animaux vers les

abattoirs ou les marchés pour bétail et d'emprunt de mâles reproducteurs (Byavu *et al.*, 2000). Bien que des telles pratiques puissent répondre aux relations sociales entre éleveurs, elles représentent des facteurs de risque. A l'heure actuelle, des importations de bovins sur pied sont réalisées à partir du Rwanda, de l'Ouganda et de la Province Orientale vers le Nord-Kivu et ceci afin de repeupler les troupeaux dévastés par les conflits armés. Il est à souligner que ces importations constituent des facteurs de risque par le fait qu'elles se réalisent le plus souvent sans aucune mesure de contrôle des tiques, ni de prévention contre les infections transmises par les tiques.

■ A l'échelle des troupeaux, des facteurs épidémiologiques influençant l'incidence des maladies transmises par les tiques ont été énumérés, incluant le type et la race des animaux ainsi que leur âge. Les animaux appartenant à des races exotiques manifestent plus souvent des atteintes cliniques sévères. Les importations d'animaux sensibles à l'ECF dans l'objectif d'améliorer la production bovine locale doivent être limitées. D'autres méthodes comme l'insémination artificielle et le transfert d'embryon peuvent alors être appliquées (Van Soom, *et al.*, 2007). Le transfert d'embryon des animaux plus productifs vers les vaches indigènes constitue une alternative de grand intérêt dans les régions endémiques à l'ECF puisque l'animal issu de cette technique possède le même génotype que la race pure utilisée et la résistance contre l'ECF lui est transmise *in utero* par la vache réceptrice. Cependant, le coût lié à l'application de cette méthode doit être évalué dans des études à caractères zootechnique et socio-économique.

Concernant l'âge des animaux affectés, l'anaplasmose et la babésiose se sont révélées plus fréquentes chez les animaux adultes (> 12 à 24 mois d'âge). Ces observations sont en accord avec d'autres études (De Waals, 2000 ; Brown *et al.*, 2006). En ce qui concerne l'ECF, cette dernière affecte plus fréquemment les veaux, l'immunité passive d'origine colostrale étant considérée comme peu protectrice (Morzaria *et al.*, 2000). Dès le début du XX^e siècle, Bruce *et al.* (1910) ont indiqué que la résistance immune contre l'ECF pouvait s'observer chez les animaux de toute catégorie d'âge qui ont survécu à une infection primaire. Ceci a été maintes fois confirmé par la suite (Norval *et al.*, 1992 ; Morel, 2000). La plupart du temps, les animaux de race locale développent une infection subclinique mais sont capables d'infecter les tiques et de maintenir l'état d'endémie de l'ECF dans une région (Medley *et al.*, 1993 ; Young *et al.*, 1996).

7.1.3. Contrôle des maladies transmises par les tiques au Nord-Kivu

L'un des objectifs de l'enquête était de préciser les produits acaricides et les médicaments « essentiels » au Nord-Kivu c'est-à-dire les plus utilisés localement dans le contrôle des tiques et des maladies y afférentes. Les vétérinaires interrogés ont signalé une capacité très faible des éleveurs de pouvoir utiliser des produits acaricides de bonne qualité. Il semblerait que le choix des acaricides soit lié non pas à leur efficacité contre les tiques locales, mais à leur faible prix sur le marché vétérinaire local et beaucoup d'éleveurs n'ont pas les moyens de les acheter. Cette situation est à la base de l'irrégularité dans le traitement des animaux contre les tiques dans la plupart des troupeaux et certains éleveurs utilisent une même molécule acaricide pendant une longue durée. L'utilisation des acaricides ne repose donc pas sur une bonne planification du programme de contrôle des tiques tel qu'il est décrit par Morel (2000). La conséquence majeure d'une telle pratique est la sélection de populations de tiques résistantes aux acaricides les plus utilisés dans la région (Mbogo *et al.*, 1996 ; Morel, 2000) comme l'amitraz et certains organophosphorés. Cependant lors de l'essai acaricide *in vitro*, le Milbitraz® (12,5% de concentration émulsifiable d'amitraz) acheté sur le marché vétérinaire de la ville de Butembo a été utilisé comme témoin positif et a donné un taux de mortalité très élevé (90 à 100%) des tiques *R. appendiculatus*. Une étude permettant d'évaluer l'efficacité des produits acaricides utilisés au Nord-Kivu s'avère donc indispensable.

Dans le traitement des maladies concernées par l'enquête, les vétérinaires interrogés ont signalé que des médicaments appropriés comme la Buparvaquone (Butalex®) et la Parvaquone (Clexon®, Parvaxone®) contre l'ECF (Mbwambo *et al.*, 2002; Mbwambo *et al.*, 2006) et l'Imidocarbe (Carbesia®, Imizol®) contre l'anaplasmose et la babésiose (Todorovic *et al.*, 1973 ; Kuttler *et al.*, 1975; Kuttler, 1981) sont peu utilisés à cause de leur coût très élevé sur le marché vétérinaire local.

Il devient plus clair, à partir de ces observations, que dans le contexte socio-économique local, le contrôle des maladies transmises par les tiques semble difficilement réalisable. Il est à noter que le traitement de la maladie exige une chimiothérapie adaptée et doit être administré le plus tôt possible (au début de la maladie) sans quoi il se révèle souvent inefficace. Ceci représente une contrainte importante au Nord-Kivu où les techniques de diagnostic précoce des maladies concernées ne sont pas disponibles.

Des stratégies durables de contrôle des maladies transmises par les tiques devraient donc être mise en place. Des telles stratégies ne devraient pas reposer sur des mesures totalement dépendantes de l'importation des médicaments et des acaricides, ce qui nécessite l'utilisation des produits naturels localement disponibles. Dans le cadre du contrôle régulier des tiques, les vétérinaires interrogés ont signalé l'utilisation fréquente, par les éleveurs, des plantes médicinales locales comme *Tephrosia vogelii* Hook. Ainsi, les propriétés acaricides de cette plante ont été bien étayées dans une étude expérimentale *in vitro* (**Chapitre 6**).

7.2. Distribution agro-écologique des tiques et séroprévalence à *Theileria parva* chez les bovins élevés au Nord-Kivu

Des études transversales sont utilisées dans la plupart des régions endémiques pour l'ECF en Afrique orientale afin d'évaluer le niveau d'exposition des bovins à l'infection par *T. parva* (Okello-Onen *et al.*, 1994). Les facteurs de risque de l'ECF tels que la prévalence du vecteur et son niveau de contrôle peuvent aussi être évalués à l'aide des études transversales. Au Kenya, Gitau *et al.* (1997) ont rapporté que la prévalence de l'infection à *T. parva* est fortement associée aux caractéristiques des différentes zones agro-écologiques, des races bovines et des systèmes d'élevage. Les mêmes observations ont été signalées en Ouganda (Rubaire-Akiiki *et al.*, 2004 ; Muhanguzi *et al.*, 2010).

Bien que les études transversales soient moins puissantes pour démontrer une relation de cause à effet vis-à-vis de l'infection par *T. parva* (Dohoo *et al.*, 2003) et ceci en raison de l'estimation très ponctuelle des indicateurs de l'ECF dont les réactions cliniques sont de très courte durée, le **chapitre 4** de cette thèse fournit, pour la première fois, des informations sur la distribution agro-écologique des tiques et la séroprévalence à *T. parva* au Nord-Kivu.

Les activités de terrain ont été réalisées au cours de la petite saison des pluies (de février à avril 2009) dans deux zones agro-écologiques (ZAE), identifiées sur base de certains critères comme l'altitude et la latitude : les zones de moyenne (1000 à 1850m ; latitude Nord) et de haute (> 1850m ; latitude Sud) altitudes. L'existence de conditions climatiques (température et pluviométrie) particulières dans chacune des ZAE détermine la prévalence des tiques et par là, une estimation du niveau de transmission de l'infection par *T. parva*.

7.2.1. Relation entre présence de la tique *Rhipicephalus appendiculatus* sur les animaux et séropositivité vis-à-vis de *Theileria parva*

Nos travaux ont révélé une prévalence très élevée de la tique *R. appendiculatus* (64,26%) qui apparaît comme l'espèce majoritaire par rapport aux autres tiques identifiées (*R. decoloratus* et *A. variegatum*), ce qui est en accord avec les résultats de l'enquête rétrospective (Chapitre 3) qui indiquait une prépondérance de l'ECF par rapport à l'anaplasmose et à la babésiose.

L'une des questions abordées dans la présente étude était de savoir si les deux ZAE incluses dans notre étude reflètent des milieux écologiques différents en ce qui concerne la distribution de *R. appendiculatus* et par conséquent, différents niveaux de séropositivité vis-à-vis de *T. parva*. L'analyse des résultats a donné une réponse contrastée à cette question : la tique *R. appendiculatus* était inégalement distribuée dans les différentes strates (ou villages) visitées, avec une tendance à une prévalence significativement ($P < 0,05$) plus élevée en zones de moyenne (99,4%) qu'en haute (0,6%) altitudes. Cependant, les taux de séropositivité à *T. parva* chez les animaux des deux ZAE étaient comparables.

La relative faible abondance des tiques appartenant à l'espèce *R. appendiculatus* en zone de haute altitude est sans doute liée aux conditions climatiques moins favorables au niveau des températures et de la pluviométrie qui y régnaient durant la période de l'année d'étude. Cette situation semble confirmer les résultats de l'enquête rétrospective (**Chapitre 3**) qui indiquait que l'altitude était perçue comme un facteur protecteur contre les maladies transmises par les tiques. Par ailleurs, l'abondance des pluies en zones de moyenne altitude durant la période d'étude est un facteur important qui a influencé, très vraisemblablement, l'activité élevée de la tique *R. appendiculatus* dans ces zones tel que décrit par Short et Norval (1981a; b). Les densités de *R. appendiculatus* sur les pâtures et les taux d'infestation des animaux par cette tique sont, en effet, positivement corrélés avec la pluviométrie (Cummings, 2002 ; Moorling *et al*, 2004).

Cependant, la charge parasitaire moyenne pour *R. appendiculatus* dans les deux ZAE réunies était faible (7 tiques/ bovin infesté) alors que bon nombre d'animaux étaient séropositifs vis-à-vis de *T. parva*. Cette observation peut s'expliquer par le fait qu'un traitement contre les tiques était effectué pour la plupart de troupeaux quelques jours (en général 2 à 4 jours) avant

les récoltes des tiques et du sang. En effet, dans la région d'étude, un traitement de routine contre les tiques est souvent appliqué de manière hebdomadaire. Cette pratique limite fortement l'intérêt des études transversales en vue de déterminer l'état épidémiologique de l'ECF puisque les données obtenues résultent d'une seule visite de chaque troupeau, ce qui ne permet pas de déterminer la phénologie exacte de *R. appendiculatus* et la dynamique de transmission de *T. parva*. En outre, des indicateurs comme l'incidence clinique de l'ECF, le taux de survie des animaux et l'âge à la primo-infection des veaux ne peuvent pas être évalués par une seule observation ponctuelle (Thrusfield, 1997). Le **chapitre 5** de cette thèse s'est donc attaché à déterminer les états épidémiologiques de l'ECF au départ d'une étude longitudinale, seule à même de pallier ces inconvénients.

Cependant, notre étude n'a pas révélé de différence significative en ce qui concerne les séroprévalences vis-à-vis de *T. parva* dans les deux ZAE étudiées et ce, malgré des charges parasitaires beaucoup plus élevées en ce qui concerne la tique *R. appendiculatus* au sein des troupeaux de bovins élevés à moyenne altitude. Globalement, la séroprévalence vis-à-vis de *T. parva* s'est révélée relativement faible (< 70%). Il en résulte donc que, à partir de ces résultats, aucune corrélation ne peut être établie entre les ZAE et la séroprévalence vis-à-vis de *T. parva*. Une situation similaire, a été rapportée au Rwanda (Bazarusanga *et al.*, 2008). Dans cette dernière étude, les prévalences de l'infection par *T. parva* étaient estimées par une analyse basée sur la comparaison de différents tests sérologiques (ELISA, SELISA et IFAT) associés à la PCR. Cette dernière étude a démontré une bonne sensibilité de la technique IFAT, ce qui confirme les résultats d'autres études (Muraguri *et al.*, 1999 ; Billiouw *et al.*, 2005) qui ont démontré que la sensibilité et la spécificité de l'IFAT étaient respectivement de 55 à 90% et 80 à 95%. Ces données suggèrent que les séroprévalences vis-à-vis de *T. parva* observées dans notre étude sont bien étayées.

Le choix du test sérologique est évidemment très important dans le cas des infections à *T. parva* durant lesquelles la durée de la réponse humorale peut varier en fonction de certains facteurs comme le traitement de la maladie et l'activité des tiques. Ces facteurs sont susceptibles de diminuer ou d'augmenter la parasitémie chez l'animal infecté par *T. parva* (Perry *et al.*, 1985). Burridge *et al.* (1972) ont démontré que les bovins deviennent séropositifs deux à quatre semaines après l'infection. Mais, après une récupération d'une infection primaire suite à un traitement, le développement d'un état de portage asymptomatique peut maintenir pendant une longue période un niveau très élevé d'anticorps

spécifiques de *T. parva*. Cependant lors de l'emploi de l'IFAT, les titres en anticorps spécifiques des antigènes exprimés par le stade schizonte peuvent passer en dessous du seuil de détection en l'absence de réinfection (BurrIDGE et Kimber, 1973). Cette situation est plus fréquente dans des régions de l'Afrique australe où la saisonnalité est plus marquée, avec de longues périodes sèches pendant lesquelles l'activité de *R. appendiculatus* est moins élevée et, par conséquent, les réinfections sont moins fréquentes (Berkvens *et al.*, 1995 ; 1998 ; Billiouw *et al.*, 2002). Par contre, en Afrique orientale en général et dans la région de notre étude en particulier, les pluies sont abondantes et réparties sur toute l'année. Dans ces conditions, *R. appendiculatus* est continuellement active, la transmission de *T. parva* se réalise de manière continue et les séroprévalences élevées en sont alors le reflet. Cette dynamique de transmission est bien mise en évidence dans l'étude longitudinale (**chapitre 5**) au cours de laquelle une proportion élevée des animaux s'est révélée séropositive tout au long de l'année.

Cependant, les présents résultats sont en contradiction avec les variations très significatives des séroprévalences vis-à-vis de *T. parva* rapportées dans certaines études réalisées dans différentes ZAE où l'ECF est endémique (Gitau *et al.*, 2000 ; Rubaire Akiiki *et al.*, 2004). Cependant, il est difficile de comparer ces études aux nôtres car elles sont basées sur l'utilisation de différentes techniques de type ELISA dont les sensibilités et spécificités à *T. parva* n'ont pas été évaluées sur le terrain.

7.2.2. Evaluation de l'efficacité des modes de contrôle des tiques utilisés dans la région d'étude

L'un des objectifs de l'étude transversale était d'évaluer l'efficacité des méthodes de contrôle des tiques utilisées dans la région d'étude et par là, le niveau d'exposition des animaux à *T. parva*. Il est à noter que l'estimation des états épidémiologiques de l'ECF dans une région est importante lorsque des stratégies de contrôle de l'infection sont discutées. Au cours d'études transversales, la prévalence du vecteur, la séroprévalence à *T. parva* et les modes de contrôle des tiques sont des données importantes qui permettent d'évaluer l'état épidémiologique de l'ECF (Perry *et al.*, 1985), bien qu'elles ne fournissent pas d'information sur l'incidence clinique et le taux de létalité. Gitau *et al.* (2000) ont tenté d'établir une corrélation entre la séroprévalence vis-à-vis de *T. parva* et l'incidence clinique de l'ECF. Les résultats ne purent

pas mettre en évidence une quelconque relation entre ces deux indicateurs peut-être à cause de facteurs liés aux différents systèmes d'élevage.

Dans notre étude, les modes de contrôle des infestations par les tiques semblent jouer un rôle majeur sur la prévalence de *R. appendiculatus*. Dans la région d'étude, le contrôle des tiques se fait essentiellement par l'application hebdomadaire de produits acaricides par aspersion ou baignade. En zones de moyenne altitude, où les deux méthodes de contrôle des tiques sont actuellement utilisées, les animaux traités par aspersion ont présenté une séropositivité à *T. parva* significativement plus élevée par rapport aux animaux traités par baignade. Néanmoins, certains auteurs ont rapporté un manque de corrélation entre les méthodes de contrôle des infestations par les tiques et la séroprévalence à *T. parva* (Gitau *et al.*, 1999 ; Rubaire-Akiiki *et al.*, 2006 ; Swai *et al.*, 2009).

Dans notre étude, la présence d'animaux séropositifs au sein des troupeaux traités aussi bien par aspersion que par baignade indique que la lutte contre les tiques n'est pas totalement effective, ce qui permet une transmission relativement élevée de l'infection à *T. parva* et l'installation d'un état d'instabilité endémique de l'ECF tel que décrit dans d'autres études (Norval *et al.*, 1992 ; Deem *et al.*, 1993 ; Perry et Young, 1995).

En effet, les éleveurs du Nord-Kivu ont tendance à réagir rapidement par l'application de produits acaricides sous une fréquence élevée (de manière hebdomadaire le plus souvent) à la moindre constatation de la présence de tiques sur les animaux ou lorsque la maladie se manifeste cliniquement au sein de leur cheptel ou de ceux de leurs voisins. Cette pratique représente alors un risque très élevé de transmission de l'infection à *T. parva* en cas de rupture du rythme de contrôle des populations de tiques pour une raison ou une autre (Mugabi *et al.*, 2010 ; Phiri *et al.*, 2010). L'irrégularité dans le contrôle des tiques au Nord-Kivu et ses causes ont été largement discutées dans l'enquête rétrospective auprès des vétérinaires cliniciens (**Chapitre 3**) : faible pouvoir d'achat des éleveurs, rareté et coût très élevé de produits acaricides de bonne qualité sur le marché vétérinaire local.

Dans cette situation de déséquilibre ou d'absence d'immunité durable d'animaux vis-à-vis de l'ECF, le traitement des cas cliniques et l'immunisation par infection et traitement des bovins susceptibles sont des mesures plus réalistes. Cette stratégie de contrôle de l'ECF est utilisée avec succès dans de nombreux pays d'Afrique orientale et australe (Oura *et al.*, 2004 ;

McKeever, 2007). Cependant, cette approche est difficilement applicable au Nord-Kivu au vu du coût élevé des médicaments theiléricides dans le contexte socio-économique local et de la lourdeur logistique liée au maintien de la chaîne du froid dans un pays où les axes routiers et les moyens de transport sont très déficients (Kivaria *et al.*, 2007 ; Marcotty *et al.*, 2008). Dans les régions où cette méthode est utilisée, c'est en effet la maîtrise de la chaîne du froid combinée au suivi des animaux vaccinés qui augmentent le coût de la vaccination (Muraguri *et al.*, 1998 ; Marcotty *et al.*, 2001 ; 2003).

7.3. Estimation des états épidémiologiques de l'East Coast fever au Nord-Kivu et stratégies de contrôle

Un certain nombre d'études ont été menées en Afrique orientale pour comprendre l'épidémiologie de l'ECF afin de concevoir des stratégies de contrôle de la maladie adaptées aux conditions locales. La dynamique de transmission de l'infection à *T. parva* y est évaluée par des études longitudinales au cours desquelles les animaux sont suivis individuellement afin d'enregistrer la morbidité et la mortalité (Okello-Onen *et al.*, 1994 ; Perry, 1996). Bien que des études prospectives soient très laborieuses et onéreuses, elles constituent des outils très puissants pour évaluer les états épidémiologiques de l'ECF dans les régions endémiques.

Dans le **Chapitre 5** de cette thèse, la dynamique de transmission de l'infection à *T. parva* est étudiée sur une période d'une année (d'octobre 2009 à septembre 2010) dans deux cohortes recrutées sur base de certains critères comme la pratique de systèmes d'élevage différents, la race des animaux et la possibilité d'obtenir des mise-bas durant la période d'étude. Ces critères de sélection des troupeaux se justifient par le fait que l'incidence de l'infection à *T. parva* est fortement associée à la race des bovins et au type du système d'élevage (Gitau *et al.*, 1997 ; Rubaire-Akiiki *et al.*, 2004 ; Muhanguzi *et al.*, 2010). En outre, les veaux nouveau-nés sont considérés comme très sensibles à l'ECF puisque les anticorps d'origine colostrale sont relativement peu efficaces contre l'infection (Morzaria *et al.*, 2000), l'immunité contre la maladie étant essentiellement de nature cellulaire (Morrison *et al.*, 1995 ; Morrison et McKeever, 2006). Ainsi, la première cohorte, de type extensif (pâturage artificielle et clôturée), était constituée par des bovins croisés (Zébu et Ankole x Frisonne et Brune des Alpes) et la

seconde utilisait des bovins indigènes (Zébu et Ankole) élevés en mode traditionnel (au piquet et sur parcours libre dans des jachères, sous les bois et broussailles).

Les résultats de nos travaux confirment la nécessité de considérer le système d'élevage et la race des animaux lors de l'évaluation de l'état épidémiologique de l'ECF et corroborent des résultats rapportés dans d'autres régions endémiques en Afrique orientale notamment au Kenya (Gitau *et al.*, 1999 ; 2000) et en Ouganda (Muhanguzi *et al.*, 2010).

7.3.1. Phénologie de la tique *Rhipicephalus appendiculatus* et capacité vectorielle

Les résultats de nos travaux indiquent une phénologie similaire de *R. appendiculatus* entre les deux cohortes. Cette tique était présente sur les animaux pendant toute la période d'étude, ce qui suggère une activité très élevée dans la région d'étude et une transmission continue de l'infection à *T. parva* (Madder *et al.*, 1999 ; 2002 et 2005). Cette dernière se manifestait par des séroprévalences très élevées (> 95%) chez les animaux inclus dans les deux cohortes.

Norval *et al.* (1992) ont rapporté que l'abondance des stades de *R. appendiculatus* qui se nourrissent sur les animaux, contrôle le niveau de l'infection à *T. parva* au sein de la population des tiques et donc le succès de transmission de *T. parva* de la tique à l'animal hôte. En élevage extensif où des cas cliniques d'ECF étaient fréquents, la coïncidence observée entre les pics d'abondance des adultes de *R. appendiculatus* et les périodes de séroconversion à *T. parva* semble confirmer que l'infection est principalement transmise par les tiques adultes comme indiqué par Ochanda *et al.* (1996). Le rôle joué par les nymphes a été difficile à évaluer en raison de la surabondance des tiques adultes durant toute la durée d'étude. En effet, on observe peu de corrélation entre le risque d'être infecté par *T. parva* et la quantité de nymphes présentes sur les animaux. En outre, au cours de certaines périodes de l'étude, les nymphes étaient absentes.

Néanmoins, l'utilisation d'une technique de PCR sur les tiques récoltées dans la pâture et sur les animaux a révélé un portage très faible de *T. parva* au sein des deux populations respectivement de 0% (0-0,5%) et 0,5 % (0,07-3,3%), ce qui suggère une capacité vectorielle très faible de la tique *R. appendiculatus*. Cependant, ces prévalences sont en accord avec

celles obtenues dans des études antérieures en Afrique orientale (Leitch et Young, 1981 ; Gitau *et al.*, 2000 ; Bazarusanga, 2008).

L'usage de la PCR en vue de détecter la présence de séquences spécifiques de différents agents pathogènes au sein des tissus individuels de différentes espèces de tiques a été réalisée avec succès par bon nombre d'auteurs (Lempereur *et al.*, 2010). Dans notre étude, le faible taux de tiques infectées par *T. parva* pourrait être lié à la technique de constitution des pools des tiques qui serait de nature à diluer l'ADN des tiques infectées et par conséquent à augmenter le nombre de faux négatifs. Cependant, la constitution des pools des tiques vise principalement à obtenir des proportions des résultats positifs d'environ 50% parce que ces proportions sont estimées avec plus de précision dans les analyses statistiques. Le choix de la taille du pool des tiques est donc important et dépend de nombreuses considérations, incluant la lourde tâche liée à l'extraction de l'ADN des tiques et le coût élevé de la PCR. Etant donné que la prévalence de l'infection à *T. parva* chez les tiques récoltées dans la pâture est estimée très faible (environ 1 à 3%) (Paling *et al.*, 1991; Moll *et al.*, 1986), la constitution de pools de 30 tiques signifierait une prévalence d'infection d'environ 45 à 60% des pools (Swai *et al.*, 2006). Cependant, le nombre de tiques par pool dépend fortement du nombre total des tiques utilisées et du stade de la tique (Bazarusanga, 2008). Ce nombre est plus réduit chez les tiques adultes (< 15 à 20 tiques/ pool) et plus élevé chez les immatures (20 à 30 tiques/ pool).

Dans notre étude, la taille de 10 tiques adultes par pool était estimée suffisante pour trois principales raisons : (i) l'augmentation de la taille du pool alors que le nombre de tiques utilisées reste constant réduit la chance de tester positivement les pools, ce qui réduit la précision de l'estimation, (ii) le nombre très faible de tiques par pool (< 5 tiques) présente un risque très élevé de tester positivement ou négativement tous les pools (Swai *et al.*, 2006) et dans ces conditions les analyses statistiques ne peuvent pas être appliquées et (iii) la dilution individuelle de l'ADN des tiques n'est pas en accord avec l'hypothèse qu'une tique infectée rend le pool positif et si l'ADN de la tique est très concentré, des substances inhibitrices de la PCR inhérentes au matériel utilisé verraient leur concentration augmenter.

Notre étude a révélé une différence entre les marges de l'intervalle de confiance du taux de portage par *T. parva* chez les tiques récoltées sur les animaux et ceci en fonction de leur origine. Cet intervalle était plus élevé (jusqu'à 7,4%) chez les tiques issues de la cohorte de l'UCG tandis qu'à Misebere, elle se limitait à 2,5%. Cette différence pourrait être due à la

pratique de systèmes d'élevage différents entre les deux cohortes comme rapporté au Rwanda (Bazarusanga, 2008). Dans cette dernière étude, le nombre de tiques infectées par animal était significativement moins élevé en élevage sur parcours libre (1 tique infectée toute les deux semaines) par rapport à l'élevage sur pâture clôturée (1 tique infectée par semaine) et en stabulation (9 tiques infectées par semaine). Cependant, ces dernières données sont critiquables puisque l'élevage en stabulation offre le plus souvent très peu de conditions appropriées pour supporter les populations des tiques et on y observe relativement très peu ou pas des cas cliniques d'ECF (Gitau *et al.*, 2000). Le taux de portage de *T. parva* au sein de la population des tiques dans ce système d'élevage serait donc très faible puisque la majorité des tiques infectées acquièrent leur infection en se nourrissant sur des animaux immuns (infectés subcliniques) dont la parasitémie est faible (Medly *et al.*, 1993). Le prochain stade de la tique inoculerait moins de sporozoïtes de *T. parva* chez les animaux, ce qui réduirait le nombre des cas cliniques d'ECF et abaisserait par la suite le niveau de l'infection par *T. parva* de la population des tiques au sein de ce troupeau comme indiqué par Swai *et al.* (2007).

Dans notre étude, l'intervalle de confiance très large de la prévalence de l'infection par *T. parva* chez les tiques récoltées sur les animaux de la cohorte de l'UCG est liée certainement à la présence de nombreux cas cliniques d'ECF (Young *et al.*, 1986) qui ont influencé positivement l'infection des tiques au sein de ce troupeau et augmenté leur capacité vectorielle (Medly *et al.*, 1993 ; Young *et al.*, 1996 ; Swai *et al.*, 2006).

7.3.2. Etats épidémiologiques de l'ECF et proposition de méthodes de contrôle

Des différences marquées ont été observées au sein des deux cohortes tant au niveau de la morbidité que de la mortalité des animaux due à l'ECF. Ces différences semblent reposer certains facteurs, incluant : (i) la pratique de systèmes d'élevage différents, (ii) la race des animaux et (iii) la différence dans la capacité vectorielle des populations des tiques issues des deux cohortes.

En effet, un état d'enzootie stable de l'ECF a été observé chez les animaux indigènes de la cohorte de Misebere. Cette situation est expliquée principalement par le fait que les veaux accompagnent le troupeau sur pâture où ils sont infectés par *T. parva* trop tôt dans leur âge (environ 2 à 3 mois) et comme la transmission de l'infection est très faible parce qu'elle

provient des animaux adultes infectés subcliniques, les veaux développent rapidement l'immunité contre l'infection (Moll *et al.*, 1986 ; Norval *et al.*, 1992).

Des études ont rapporté que l'immunité colostrale n'est pas protectrice contre l'infection à *T. parva* (Morzaria *et al.*, 2000 ; Morrison et McKeever, 2006). Cependant, ces études n'apportent pas d'argument solide à l'appui de cette affirmation. A ce sujet, il est à noter que dans la plupart de troupeaux, la prise du colostrum n'est pas toujours optimale pour permettre une transmission suffisante d'anticorps dirigés contre *T. parva* pouvant protéger les veaux nouveau-nés contre l'ECF clinique dans les premiers mois de leur vie. Dans notre étude, la résistance élevée des veaux à Misebere peut être due à une prise suffisante de colostrum par les veaux puisque la traite n'a pas été appliquée dans ce troupeau durant les premières semaines après le vêlage. En outre, les veaux ont été séropositifs dès le premier mois de leur suivi plaçant pour un transfert d'immunité solide réussie. Cependant, le troupeau concerné par notre étude nécessite un suivi clinique sur une longue période (environ plus de 3 à 5 ans) qui permettra sans doute de suivre un grand nombre de veaux. Les mécanismes permettant la résistance de ces animaux indigènes contre l'ECF mériteraient aussi d'être étudiés ; la situation pourrait probablement changer compte tenu de la tendance actuelle à croiser les races locales avec des animaux plus productifs. Il est à noter que l'élevage sur parcours libre offre des conditions très favorables à l'activité des tiques et la situation observée indique que le contrôle des populations de tiques doit se limiter à les maintenir sous un seuil acceptable pour éviter certaines complications (lésions mécaniques de grattage, abcès, hématome, etc) (Morel, 2000).

Par contre, les animaux inclus dans la cohorte de l'UCG se sont révélés très sensibles à l'infection par *T. parva* et ont développé des réactions cliniques très sévères et létales, ce qui a suggéré l'existence d'un état d'instabilité enzootique. Bien que le phénomène soit expliqué par un éventuel report du premier contact avec *T. parva* chez les veaux en les gardant à l'étable jusqu'à 5 mois de leur vie, une sensibilité très élevée des animaux croisés pour l'ECF a été rapportée par les vétérinaires cliniciens du Nord-Kivu (**Chapitre 3**), ce que corrobore des études dans d'autres régions endémiques à l'infection par *T. parva* (Ndungu *et al.*, 2005 ; Oura *et al.*, 2005 ; Muhanguzi *et al.*, 2010). En outre, la situation semble être liée à la capacité vectorielle très élevée des tiques dans cette cohorte puisque l'infection provient des animaux adultes infectés cliniques (Medly *et al.*, 1993 ; Young *et al.*, 1996). Les veaux ont été alors très affectés lors de leur premier contact avec l'infection.

Dans cette situation où les animaux adultes sont dépourvus d'immunité durable contre l'ECF, une sensibilité très élevée à l'infection par *T. parva* est observée lorsque, pour une raison ou une autre, les mesures de contrôle des infestations par les tiques se relâchent (Mugabi *et al.*, 2010 ; Phiri *et al.*, 2010). Dans ce cas, les pertes inhérentes à la maladie peuvent se produire dans toutes les catégories d'âge. Considérant le faible effectif présent dans cette cohorte, les résultats obtenus doivent être interprétés avec prudence. Néanmoins le taux moyen de morbidité chez les animaux croisés a été estimé à 70% (IC95%= 47-86) tandis que le taux de létalité chez les animaux non traités avoisine les 30% chez les adultes et 75% chez les veaux. Ces prévalences sont en accord avec des données rapportées dans des régions endémiques à l'ECF en Afrique orientale (Bruce *et al.*, 1910 ; Okello-Onen *et al.*, 1994 ; Perry et Young, 1995).

Il résulte de ces observations que l'ensemble du troupeau de l'UCG était très sensible à l'infection à *T. parva* et dans ces conditions, l'immunisation de toutes les catégories d'âge est proposée comme la meilleure méthode de contrôle de l'ECF qui permettra sans doute l'établissement d'un état artificiel d'enzootie stable (Muraguri *et al.*, 1998; D'Haese *et al.*, 1999). L'avantage de l'immunisation contrôlée telle que par la méthode de l'infection suivie du traitement est lié à la diminution très significative du coût de contrôle de l'ECF par la réduction de la fréquence d'application des acaricides (Mukhebi *et al.*, 1989 ; Kivaria *et al.*, 2007). Néanmoins, dans ce cas de figure, des atteintes cliniques peuvent survenir en cas d'introduction d'une souche antigéniquement différente de *T. parva* ou lors d'une immunodépression (animaux maintenus dans des mauvaises conditions de santé et de nutrition). Un suivi clinique du troupeau reste donc indispensable et les atteintes cliniques doivent être traitées rapidement (au début de la maladie). Le médicament le plus adapté est la Buparvaquone (Butalex®).

7.4. Evaluation *in vitro* des propriétés acaricides des feuilles de *Tephrosia vogelii* sur la tique *Rhipicephalus appendiculatus*

Dans le cadre du contrôle des infestations par les tiques dans les troupeaux de bovins ayant des effectifs réduits (moins de 50 têtes), en particulier dans les pays en voie de développement, les produits acaricides sont trop coûteux et beaucoup d'éleveurs n'ont pas les

moyens de les acheter. En fonction de la fréquence d'application (1-2 fois par semaine), le coût annuel lié à l'utilisation des produits acaricides en Afrique centrale et orientale est estimé à \$US 2 - 36 par animal (D'Haese *et al.*, 1999 ; Minjauw et McLeod, 2003). Les acaricides posent aussi des problèmes de résidus, aussi bien chez l'animal et ses produits dérivés que dans l'environnement. En outre, le développement éventuel de résistances des tiques vis-à-vis des acaricides les plus utilisés représente un inconvénient majeur (Mbogo *et al.*, 1996 ; Yilma *et al.*, 2001). Tous ces facteurs suggèrent que, dans certaines régions, l'utilisation de produits dérivés de plantes locales pourrait constituer une méthode alternative (Bizimenyera *et al.*, 2005 ; Aslam *et al.*, 2009 ; Lukwa *et al.*, 2009 ; Olivier *et al.*, 2010). Cependant, la plupart des données disponibles sur l'utilisation des plantes pour la prévention et le traitement des maladies ainsi que la conservation des produits agricoles sont basées sur des connaissances ethno-écologiques et sur des données empiriques (Lhoste *et al.*, 1993 ; Ogendo *et al.*, 2004 ; Koono et Dorn, 2005 ; Stevenson *et al.*, 2009a ;b).

Les plantes médicinales dédiées à la pharmacopée traditionnelle vétérinaire dans la Province du Nord-Kivu ont été inventoriées via une enquête conduite auprès des guérisseurs et éleveurs (Kasonia, 1998). Ces plantes sont répertoriées dans la banque de données PRELUDE des plantes médicinales des régions des grands-Lacs Africains (Baert *et al.*, 1996 ; Soheranda *et al.*, 2004) où *Tephrosia vogelii* (Fabaceae) est présentée comme ayant une activité à la fois anthelminthique, molluscicide, antimicrobienne et insecticide. En Afrique orientale et du sud, *T. vogelii* et d'autres plantes apparentées comme *Derris spp.* et *Lonchocarpus spp.* sont cultivées dans des petites plantations pour leur utilisation dans la protection des cultures contre les parasites et pour l'amélioration de la fertilité du sol (Barnes et Freyre, 1966). *Tephrosia vogelii* est utilisée aussi comme substance abortive chez la femme (Bally, 1937) et l'extrait par décoction aqueuse de ses feuilles et de son écorce est utilisé comme purgatif, émétique et vermifuge dans certains Pays de l'Afrique de l'Ouest comme le Gabon (Walker, 1961), la Guinée (Vasileva, 1969), la Côte d'Ivoire (Kerharo et Bouquet, 1950) et le Cameroun (Haaf, 1971).

Comme toutes les autres plantes insecticides, le faible coût de *T. vogelii* lié à sa disponibilité dans l'environnement (Barnes et Freyre, 1969) est attrayant pour les éleveurs, bien que son utilisation soit limitée par certains facteurs comme la disponibilité saisonnière du matériel végétal, le calendrier de récolte très différent par rapport aux moments de traitement des animaux, l'efficacité et la teneur en principe actif très variables en fonction du milieu, du

moment de la récolte (Huang *et al.*, 2007a), de l'âge et de la variété de la plante (Barnes *et al.*, 1967 ; Hagermann *et al.*, 1972) ainsi que du manque de précision dans le dosage.

Dans le **chapitre 6** de cette thèse, il a été démontré *in vitro* que les feuilles de la variété à fleurs blanches (TVB) et à fleurs violettes (TVV) de *T. vogelii* possèdent un niveau très élevé de toxicité sur la tique *Rhipicephalus appendiculatus*. L'effet acaricide des extraits de ces plantes est comparable à celui du produit acaricide le plus utilisé au Nord-Kivu, le Milbitraz® (12,5% m/v de concentration émulsifiable d'amitraz). Cette activité acaricide de *T. vogelii* est liée à la présence de composés roténoïdes (la roténone et la degueline) qui sont reconnus pour leur activité insecticide (Uddin et Khanna, 1979 ; Lambert, 1993; Ekpendu, 1998). La roténone en particulier est connue depuis longtemps comme un insecticide non systémique et possède des propriétés acaricides très élevées (Kumar, 1984). *Tephrosia vogelii* est considérée comme la principale source de la roténone naturelle. L'évaluation *in vitro* de l'activité acaricide de chaque substance pure (roténone et degueline standard) et de leurs combinaisons permettrait de savoir si les deux composés roténoïdes identifiés dans la plante agissent séparément ou en synergie sur les tiques. Cependant, il est à noter que l'effet acaricide des extraits de *T. vogelii* doit être considéré comme le résultat de l'effet acaricide de tous les composés roténoïdes inclus dans la plante comme indiqué par Barnes *et al.* (1967). Cette dernière étude a rapporté que la roténone est un composé d'intérêt primordial dans la plante *T. vogelii*, dans la mesure où ses propriétés insecticide sont concernées, mais elle est généralement rencontrée en combinaison avec plusieurs autres substances roténoïdes dont la principale est la degueline. Ce qui est confirmé dans d'autres études (Hagermann *et al.*, 1972 ; Matsumura, 1975).

Cependant, notre étude a révélé des teneurs en roténone environ 26 et 47 fois plus faibles que celles en degueline respectivement dans les feuilles de TVB et TVV. Des observations similaires ont été rapporté dans d'autres études (Delfel *et al.*, 1970 ; Hagermann *et al.*, 1972). Delfel *et al.* (1970) ont signalé des concentrations différentes des composés roténoïdes en fonction des organes de *T. vogelii* : les feuilles contiennent de fortes teneurs en degueline tandis que les pétioles, les tiges et les racines possèdent des teneurs plus élevées en roténone. Les mêmes auteurs ont rapporté que les teneurs en roténoïdes totaux (roténone et degueline) de *T. vogelii* sont positivement corrélées avec les concentrations en chlorophylle dans les parties vertes de la plante. Les fortes teneurs en roténoïdes dans les feuilles semblent donc être liées à une forte concentration en chlorophylle. De même, l'augmentation des teneurs en

rotenoïdes en relation avec l'âge de la plante serait liée à l'augmentation progressive des concentrations en chlorophylle durant la croissance de la plante. Les concentrations en chlorophylle et en rotenoïdes chez *T. vogelii* augmentent suivant une courbe à tendance sigmoïde, avec une augmentation très rapide des teneurs au milieu de la phase de croissance pour atteindre un maximum à l'âge de la maturité (Barnes *et al.*, 1967).

Il devient clair, à partir de ces observations, que l'estimation de la teneur en composés rotenoïdes de *T. vogelii* doit être considérée en fonction non seulement du milieu et de la période de récolte du matériel végétal, mais aussi de la variété de la plante, de son âge et de la partie considérée. Ces facteurs semblent avoir une influence très importante sur l'effet acaricide de *T. vogelii* puisque certaines variétés ne contiennent que très peu ou pas de rotenone (Delfel *et al.*, 1970). En outre, pendant les saisons où la plante perd une grande quantité de ses feuilles, par exemple en saison sèche, les substances rotenoïdes s'accumulent dans les tiges et les pétioles (Hagermann *et al.*, 1972). Ce phénomène explique les variations des teneurs en rotenoïdes chez *T. vogelii* en fonction de la saison comme indiqué par Huang *et al.* (2007a) en Tanzanie.

Dans la présente étude, bien que la relation dose-effet soit très comparable pour les feuilles des deux variétés de *T. vogelii* ainsi que les DL₅₀, les feuilles de la variété TVB contiennent des teneurs en rotenoïdes plus élevées que les feuilles de TVV, ce qui expliquerait son effet acaricide très rapide. En effet, l'évaluation de l'effet acaricide au cours du temps a montré que la mortalité maximale (100%) des *R. appendiculatus* à une dose de 20mg / ml d'eau distillée est observée dans les 24h et 72h respectivement pour TVB et TVV. Ainsi, dans les zones où les deux variétés sont présentes, il est recommandé, à partir des résultats de cette étude, d'utiliser en priorité la variété TVB. Ces conclusions peuvent cependant varier en fonction de l'organe utilisé et de la saison de récolte du matériel végétal. Des collections saisonnières des feuilles de *T. vogelii* doivent donc être analysées avant d'arriver à la conclusion que les différences de concentration en rotenoïdes entre les deux plantes sont significatives.

Les faibles concentrations en rotenone des feuilles de *T. vogelii* impliquent que les pertes liées à la technique de séchage et de conservation du matériel végétal, à son exposition à la lumière solaire, à son broyage et à la technique d'extraction doivent être minimisées (Delfel *et al.*, 1970). En effet, les concentrations en rotenoïdes sont plus faibles dans les feuilles sèches que dans les feuilles fraîches et il semblerait que plus la température et la durée de séchage

augmentent, plus les pertes sont importantes (Barnes et Freyre, 1966). Un séchage très rapide du matériel végétal à des températures élevées (80 à 120°C) pendant 24 à 48 heures occasionne des pertes de plus de 50% de la teneur en roténoïdes. Par contre, un séchage à l'air libre (autour de 15 à 20% d'humidité relative) de la plante fraîche quelle que soit la durée du séchage assure une certaine protection des composés roténoïdes (Delfel *et al.*, 1970). Dans notre étude, les feuilles des deux variétés de *T. vogelii* ont été séchées pendant deux semaines à température ambiante puis 72 h à 40°C, limitant ainsi les pertes en substances actives.

Le solvant utilisé pour l'extraction des composés roténoïdes de *T. vogelii* joue aussi un rôle très important. Matovu et Olila (2007) ont rapporté que le rendement d'extraction des roténoïdes de *T. vogelii* est significativement plus élevé lorsque le méthanol est utilisé comme solvant par rapport à l'éther de pétrole, au chloroforme et à l'eau. Ceci est confirmé dans d'autres études (Tomlin, 2000 ; Sae-Yun *et al.*, 2006) qui ont démontré que la roténone en particulier est très soluble dans des solvants organiques comme l'éthanol, le chloroforme et l'acétone mais qu'elle est presque complètement insoluble dans l'eau. Cependant, la solubilité de la degueline dans différents solvants n'est pas déterminée.

La technique d'extraction n'est pas à négliger non plus. Il semblerait que la roténone soit plus efficacement extraite des plantes par la percolation (ou lixiviation) que par la macération simple (Sae-Yun *et al.*, 2006). Cette différence peut être expliquée par le fait que la technique de percolation permet une extraction optimale des composés des plantes par une traversée très lente du solvant non saturé à travers les particules fines du matériel végétal. C'est pour cette raison que la percolation est appelée « *méthode par épuisement de la drogue* » (Wichtl et Anton, 2003). Cette observation suggère que les teneurs en roténoïdes obtenues dans notre étude sont bien étayées.

Un mélange dans des proportions bien définies des feuilles, des pétioles et des tiges augmenterait sans doute la teneur en roténone des extraits de *T. vogelii*, mais diminuerait la concentration totale en roténoïdes puisque les tiges et les pétioles contiennent une très faible teneur en degueline dans la plupart des cas.

Dans notre étude, l'effet acaricide de *T. vogelii* pourrait être lié principalement à la degueline, la plus abondante substance roténoïde présente dans les feuilles des deux variétés. Cependant, le mode d'action de la degueline sur les tiques reste à déterminer. L'effet acaricide de la roténone ne peut pas être sous-estimé puisque la roténone agit à des doses très faibles par

blocage de la chaîne respiratoire mitochondriale des arthropodes en inhibant l'oxydation de ADP en ATP (Fukami *et al.*, 1970 ; Matsumura, 1975). L'empoisonnement des parasites par la roténone est un processus très lent. Il se manifeste par des troubles locomoteurs, un arrêt de la nutrition, la paralysie et la mort (Kumar, 1984).

Il convient de noter que la roténone est peu toxique chez les vertébrés. L'extrait de *T. vogelii* peut donc être appliqué régulièrement comme substance acaricide sans aucun risque majeur chez les animaux. La toxicité orale est de l'ordre de 10-30mg/kg de poids vif (Ekpendu, 1998). Toutefois, la toxicité de la roténone varie beaucoup en fonction des espèces animales, du mode d'administration et du type de la formulation. Le porc et le chien semblent être particulièrement sensibles à l'intoxication par la roténone cristalline (composé pur) lorsqu'elle est utilisée comme vermifuge à des doses journalières respectivement de 0,4-10mg et 4,5-9mg/kg de poids vif (O'Brien et Yamamoto, 1970; Matsumura, 1975). Par contre, la roténone est peu toxique pour l'homme et la dose létale par voie orale est estimée à plus de 300 à 500mg/kg (Marking, 1988).

L'intoxication aiguë par la roténone se manifeste par une conjonctivite, une dermatite, de la toux liée à l'irritation de la gorge, de la congestion et des vomissements. L'ingestion de fortes doses peut causer une dyspnée suivie d'une dépression et des convulsions. Des avortements et des effets cancérogènes ont été signalés particulièrement chez les porcs et les chiens (Matsumura, 1975 ; Marking, 1988)

7.5. Conclusions et perspectives

Les résultats et conclusions de cette thèse peuvent être résumés selon un modèle d'épidémiologie des maladies proposé par Saegerman *et al.* (2003) (**Figure 7.1**).

Les études sur le terrain ont permis de déterminer les zones à risque des principales maladies transmises par les tiques au Nord-Kivu et d'y caractériser les états épidémiologiques de l'ECF. L'éradication de la maladie semble difficile vu la présence de buffles Africains (*Syncerus caffer*), hôte réservoir des tiques au sein de la faune. Par ailleurs, un portage chronique de l'infection à *T. parva* a été observé chez les bovins. En outre, le contrôle des tiques et le traitement des cas cliniques semblent très peu réalisables suite à la capacité très faible d'achat des produits acaricides et de médicaments theiléricides chez la plupart des

éleveurs. Des recommandations pertinentes peuvent être adressées en ce qui concerne le contrôle de l'ECF au Nord-Kivu. Le contrôle de cette maladie doit être effectué par l'immunisation des animaux susceptibles associée à un traitement efficace des cas cliniques et à un contrôle régulier des infestations par les tiques. Cependant, les coûts de production et d'utilisation du vaccin contre l'ECF au niveau local doivent être estimés dans des études à caractère socio-économique.

Les résultats de l'étude expérimentale *in vitro* ont démontré que la plante *Tephrosia vogelii* peut efficacement contrôler les infestations par la tique *R. appendiculatus*, principal vecteur de l'ECF. Ceci représente une alternative très viable à l'utilisation des acaricides synthétiques dans le cadre d'une approche intégrée de contrôle des tiques en fonction des conditions socio-économiques locales. Cependant, il est recommandé que l'extrait de *T. vogelii* soit utilisé par aspersion sur les animaux pour deux principales raisons :

(i) la première raison se justifie par le fait que la roténone et la dégueline sont instables en solution aqueuse et exposées à la lumière où elles se décomposent respectivement en roténolone et téphrosine (O'Brien, 1967 ; Fukami *et al.*, 1971 ; Tomlin, 2000). Bien que l'activité insecticide de ces produits d'oxydation soit aussi appréciable (Matsumura, 1975), leur durée de stabilité dans l'eau n'est pas déterminée, ce qui exigerait un renouvellement de la solution du bain acaricide dans un délai d'environ une semaine, et, par conséquent, le coût de la méthode par balnéation serait très élevé.

(ii) la seconde raison s'inscrit dans le cadre de la protection de l'environnement ; les substances roténoïdes sont très toxiques pour les organismes aquatiques comme les poissons et les crustacés (Blommaert, 1950 ; Troupin, 1982). La méthode de balnéation représenterait alors un risque très élevé d'écotoxicité lors de la vidange des baignoires acaricides. Dans l'environnement, la roténone peut persister jusqu'à plus de six mois en milieu aqueux en fonction de certains facteurs incluant l'intensité de la lumière, la température, la profondeur, la dose et la présence de débris organiques (Newsome et Shields, 1980 ; Copping, 1998). Le processus de décomposition de la roténone se produit à un rythme plus rapide lorsque la température de l'eau augmente. Par contre, la profondeur et l'eutrophisation de l'eau diminuent la luminosité et par conséquent, diminuent le taux de dégradation de la roténone (Marking, 1988). Cependant, la toxicité environnementale de la dégueline et les facteurs qui contrôlent sa dégradation dans l'environnement ne sont pas connus.

Des études futures devraient viser à améliorer la technique d'aspersion de l'extrait de *T. vogelii* par addition d'adjuvants tels que des produits moussants. Il est à noter que la plante *T. vogelii* est une légumineuse arbustive et qu'elle se cultive facilement à partir de ses graines (Blommaert, 1950 ; Barnes et Freyre, 1969). Elle peut être utilisée comme haie antiérosive et enrichit également les sols en engrais azotés naturels.

Les résultats de nos travaux permettent d'entrevoir aussi une série d'études en perspectives dans la Province du Nord-Kivu pour déterminer :

- (i) la teneur en substances roténoïdes de *T. vogelii* en fonction de la saison et l'effet acaricide *in vivo* de la plante,
- (ii) le coût de production locale de l'extrait de *T. vogelii* en fonction des solvants organiques disponibles,
- (iii) le mode de conditionnement et la durée de conservation des extraits de la plante,
- (iv) la toxicité éventuelle pour l'animal et les délais d'attente pour la consommation du lait ou pour l'abattage,
- (v) l'activité sur d'autres espèces de tiques présentes dans la région d'étude.

Les résultats de nos travaux pourraient être extrapolés à d'autres régions d'Afrique centrale et orientale où la plante *T. vogelii* se cultive facilement.

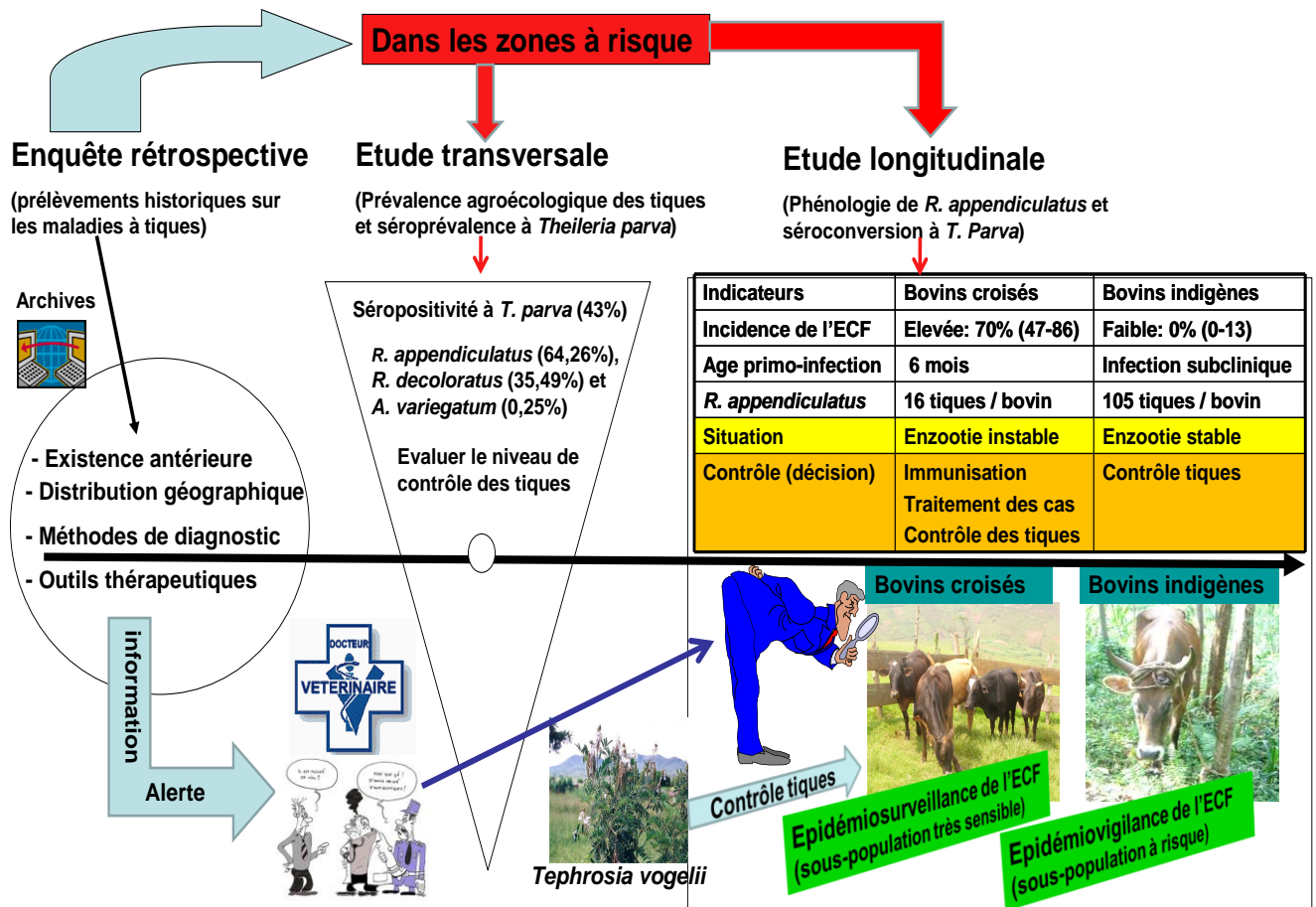


Figure 7.1 : Proposition du modèle de contrôle des états épidémiologiques de l'East Coast fever rencontrés dans la Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo (adapté de Saegerman *et al.*, 2003)

Chapitre 8

Résumé - Summary

Résumé

L'East Coast fever (ECF) est une maladie aiguë et souvent létale des bovins. Son agent pathogène, *Theileria parva* est transmis d'une manière transstadiale au bétail par *Rhipicephalus appendiculatus*, une tique dure à trois hôtes. Cette maladie pose une contrainte majeure sur l'amélioration de la production bovine dans la Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo. Cependant, très peu d'études sur l'ECF sont disponibles dans cette région. Les travaux décrits dans cette thèse visent à acquérir une meilleure compréhension des facteurs liés à la présence et à l'émergence éventuelle de l'ECF dans la Province du Nord-Kivu, l'objectif final étant de déterminer les états épidémiologiques de la maladie et d'optimiser la méthode de contrôle des tiques utilisée localement.

La présentation des résultats des différentes études conduites dans le cadre de cette thèse est précédée par deux chapitres. Une introduction générale (**Chapitre 1**) présente dans un sens plus large les principales maladies transmises par les tiques en Afrique centrale et orientale. Elle développe en particulier, une revue de la littérature disponible sur l'ECF en précisant les facteurs qui régissent les interactions entre le parasite *T. parva*, l'hôte intermédiaire, le bœuf et l'hôte définitif, la tique *R. appendiculatus*. Les différents états épidémiologiques de l'ECF et les méthodes de contrôle (traitement curatif, lutte contre le vecteur et immunisation des animaux susceptibles) y sont aussi décrits en détail. Ce chapitre se termine par un aperçu général de l'ECF et des méthodes de contrôle au Nord-Kivu. Le **second chapitre** présente les objectifs et la structure chronologique des études abordées dans cette thèse.

Une enquête rétrospective auprès des vétérinaires cliniciens du Nord-Kivu (**Chapitre 3**) a permis d'archiver les données concernant la situation épidémiologique des trois principales maladies transmises par les tiques, à savoir : l'East Coast fever, l'anaplasmose et la babésiose bovine. L'ECF est perçue comme la plus fréquente suivie par l'anaplasmose et la babésiose bovine. La présence de l'ECF et des autres maladies transmises par les tiques est liée à certains facteurs comme les conditions climatiques (température et pluviométrie) et écologiques (végétation et faune sauvage) favorables au développement des vecteurs. Par contre, l'altitude s'est avérée comme un facteur protecteur contre ces maladies puisqu'elle possède une faible influence sur la survie et l'activité des tiques. Cette enquête a révélé aussi une capacité très faible des vétérinaires de pouvoir disposer des outils adéquats pour le diagnostic, la prévention et le traitement des maladies concernées. Dans ces conditions,

l'éradication de ces maladies semble peu réalisable dans le cadre du contexte socio-économique local.

Une étude transversale (**Chapitre 4**) précise la distribution agro-écologique des tiques présentes sur les animaux et leurs pâtures et la séroprévalence à *T. parva*. Deux zones agro-écologiques (ZAE) identifiées selon certains critères comme l'altitude et la latitude ont été visitées durant la petite saison de pluie (de février à avril 2009). Trois espèces de tiques ont été rencontrées et *R. appendiculatus* (64,26%), principal vecteur de *T. parva*, était l'espèce la plus fréquente suivie par *R. decoloratus* (35,49%) et *Amblyomma variegatum* (0,25%).

Le taux global de séropositivité à *T. parva* chez les animaux était de 43% (IC95% = 38-47) et cette séroprévalence n'était pas significativement différente entre les ZAE visitées ($P > 0,05$). Cependant, la charge globale de *R. appendiculatus* par animal infesté était très faible (7 tiques) et cette situation était due probablement au traitement des animaux contre les tiques dans la plupart de troupeaux environ 2 à 4 jours avant notre visite pour les récoltes des tiques et du sang puisque le contrôle des tiques dans la région d'étude se fait par application souvent hebdomadaire des acaricides. Cette pratique constitue une limite à la détermination de l'état épidémiologique de l'ECF via une étude transversale puisque les résultats d'une seule visite des troupeaux ne peuvent pas estimer la phénologie exacte de *R. appendiculatus* et refléter la tendance réelle de la transmission de *T. parva*. Les cas cliniques d'ECF et l'âge au premier contact avec l'infection ne peuvent pas non plus être déterminés via une étude transversale.

Dans le **Chapitre 5**, la dynamique de la transmission de *T. parva* est étudiée sur une durée d'une année (d'octobre 2009 à septembre 2010) dans deux cohortes issues de systèmes d'élevage distincts. La première cohorte était de type traditionnel avec des bovins indigènes et la seconde comprenait des bovins croisés élevés en mode extensif. Les résultats indiquent une phénologie similaire du vecteur entre les deux cohortes. L'abondance des adultes de *R. appendiculatus* sur les animaux pour toute la durée d'étude semble importante puisque ce stade de la tique est le plus infectant, ce qui laisse entrevoir que la transmission de l'infection à *T. parva* se fait d'une manière continue. Cependant, la capacité vectorielle des populations des tiques semble être très faible en élevage traditionnel mais très élevée en mode extensif. Bien qu'aucune différence de séropositivité à *T. parva* ($> 95\%$) n'ait été observée entre les deux cohortes étudiées ($P > 0,05$), l'incidence clinique mensuelle de l'ECF au sein du troupeau d'animaux indigènes était très faible malgré l'abondance moyenne mensuelle très élevée de *R. appendiculatus* par animal infesté (105 tiques), ce qui suggère des infections sub-

cliniques chez les veaux et un état d'enzootie stable. La situation semble reposer sur des facteurs liés au système d'élevage pratiqué et à la résistance naturelle des bovins indigènes contre l'ECF puisque les animaux croisés du troupeau extensif développaient des réactions cliniques sévères et létales. Un état d'enzootie instable de l'ECF est inévitable dans un troupeau de bovins croisés et toutes les catégories des animaux doivent être protégées contre l'ECF par immunisation et traitement des cas cliniques. Cette méthode permettrait sans doute l'établissement d'un état artificiel d'enzootie stable de l'ECF au sein de ce troupeau, mais à l'heure actuelle, cette approche semble difficile à mettre en œuvre dans le contexte socio-économique du Nord-Kivu. L'usage des plantes médicinales locales pourrait être une méthode alternative dans le contrôle des tiques.

Le **Chapitre 6** présente les résultats d'une étude expérimentale *in vitro* sur l'évaluation des propriétés acaricides des feuilles de la variété à fleurs blanches (TVB) et à fleurs violettes (TVV) de *Tephrosia vogelii* sur la tique *R. appendiculatus*. Les extraits des feuilles des deux plantes ont montré une toxicité très élevée sur la tique *R. appendiculatus* avec des doses létales 50 (DL₅₀) de 0,83 et 0,81mg /ml d'eau distillée respectivement pour TVB et TVV. L'effet acaricide est lié à la présence dans les plantes de composés roténoïdes (la roténone et la degueline) qui sont connus par leur activité acaricide et insecticide. Le fait que l'activité acaricide des plantes était très similaire à celle du Milbitraz® (12,5% m/v amitraz) suggère que *T. vogelii* pourrait représenter une alternative à l'utilisation de produits synthétiques qui sont généralement très coûteux et difficiles à obtenir dans de nombreuses régions d'Afrique. Cependant, l'extrait de *T. vogelii* présente un impact potentiel néfaste sur l'environnement en raison de sa toxicité sur les organismes aquatiques. Des précautions doivent donc être prises lors de son utilisation. Le produit doit être utilisé par aspersion sur les animaux.

Enfin, une discussion générale (**Chapitre 7**) expose les principales conclusions de cette thèse dans une perspective plus large. Les résultats des différentes études sont discutés en mettant en évidence les facteurs de risque de l'ECF au Nord-Kivu. Les indicateurs utilisés pour évaluer les états épidémiologiques de l'ECF y sont aussi discutés. Les stratégies de contrôle possibles sont proposées pour les différents états épidémiologiques de l'ECF rencontrés dans la région d'étude et un accent particulier est concentré sur l'utilisation de la plante *T. vogelii* dans le cadre de lutte intégrée contre les tiques.

Summary

East Coast fever (ECF) is an acute and often lethal disease of cattle. Its pathogenic agent, *Theileria parva* is transmitted transstadially to cattle by the three host tick *Rhipicephalus appendiculatus*. This disease poses a major constraint on the improvement of cattle production in North-Kivu Province, Democratic Republic of Congo. However, very few studies on the ECF are available in North-Kivu. The work described in this thesis aimed at gaining a better understanding of factors associated with the presence and the possible emergence of the ECF in North-Kivu Province, the ultimate goal being to determine the epidemiology states of the disease and to optimize the ticks control method locally used.

The presentation of the results obtained from the different studies undertaken within the framework is preceded by two chapters. A general introduction (**Chapter 1**) presents the major tick-borne diseases which occur in Eastern and Central Africa. It develops especially, a literature review available on the ECF by specifying factors governing interactions between the parasite *T. parva*, the intermediate host, the cattle and the definitive host, *R. appendiculatus* tick. The different epidemiological states of the disease and the different control methods (curative treatment, control of vectors and immunisation of susceptible animals) are also described in detail. This chapter ends up with an overview of the ECF and its control methods in North-Kivu Province. The **second chapter** presents the objectives and the time structure of studies covered in this thesis.

A retrospective survey carried out among veterinarian surgeons in North-Kivu (**Chapter 3**) allowed the collection of data concerning the epidemiological situation of the three major tick-borne diseases: East Coast fever, anaplasmosis and babesiosis. In this synthesis of historical data, ECF is perceived as the most frequent tick-borne disease followed by anaplasmosis and bovine babesiosis. The occurrence of ECF and others tick-borne diseases in North- Kivu is associated with factors such as climatic conditions (temperature and rainfall) and ecological (vegetation and wildlife) favourable to the development of the vectors. In contrast, the altitude has proved to be a protective factor against these diseases because it has some influence on the survival and activity of ticks. The survey revealed also a very low ability to veterinarians of the appropriate tools for the diagnosis, the prevention and the

treatment of tick-borne diseases. Under these circumstances, the eradication of these diseases seems unlikely in the frame of local socio-economic context.

A cross-sectional study (**Chapter 4**) specifies the agro-ecological distribution of ticks found on animals and their pastures and the *T. parva* seroprevalence. Two agro-ecological zones (AEZ) identified according to some criteria such as altitude and latitude were visited during the short rainy season (February to April 2009). Three species of ticks were encountered and *R. appendiculatus* (64.26%), the main vector of *T. parva*, was the most frequent species followed by *R. decoloratus* (35.49%) and *Amblyomma variegatum* (0.25%).

The global rate of seropositivity to *T. parva* was 43% (95% CI = 38-47) and this seroprevalence was not significantly different between the AEZ visited ($P > 0.05$). However, the overall burden of *R. appendiculatus* per animal was very low (7 ticks) and this situation was probably due to the treatment of animals against ticks about 2 to 4 days before our visit to collect ticks and blood in most herds, since the tick control in the study area is done by application of acaricides at weekly intervals. This phenomenon represents a limit to the determination of the epidemiological state of ECF through a cross-sectional study because the results of a single herds visit cannot accurately estimate the phenology of *R. appendiculatus* tick and therefore, reflect the true transmission trend of *T. parva*. Clinical cases of ECF and the age at first contact with the infection cannot either be determined through a cross-sectional study.

In **Chapter 5**, the dynamics of the transmission of *T. parva* is studied over a period of one year (from October 2009 to September 2010) in two cohorts from different farming systems. The first cohort was the free-range grazing system with indigenous cattle and the second used bovine cross breed grazing under a fenced system. The results indicate a similar phenology of the tick vector between the two cohorts. The abundance of *R. appendiculatus* adult on animals for the entire duration of study seems important because this stage of the tick is the most infective, which suggests that transmission of the *T. parva* infection is continuously in the study area. However the vectorial capacity of tick populations seems to be very low in free-range grazing system but much higher under the fenced grazing system. Although no difference in seropositivity to *T. parva* ($> 95\%$) was found between the two cohorts ($P > 0.05$), the monthly ECF clinical incidence in indigenous cattle herd was very low, despite the very high average monthly abundance of *R. appendiculatus* per animal (105 ticks), which suggested sub-clinical infections of calves and an enzootic stable state. The situation seems to

rely on factors related to the grazing system applied in this cohort and to a natural resistance of indigenous cattle studied because bovine cross breed from the fenced grazing system developed severe and sometimes lethal clinical ECF reactions. In this latter herd, the enzootic instable state of ECF seems inevitable and therefore, all age categories of animals should be protected against ECF by immunisation and treatment of clinical cases. This method would probably establish an artificial state of enzootic stability of ECF in this herd. However, at the present time, this approach seems difficult to implement in North-Kivu due to the socio-economic situation prevailing in this province. The use of local medicinal plants as an alternative method is an option in the control of ticks.

The **Chapter 6** presents findings of an experimental study *in vitro* on the evaluation of acaricidal properties of leaf extracts of the white (TVW) and purple (TVP) varieties of *Tephrosia vogelii* on adults of the tick *R. appendiculatus*. The leaf extract of the two plants exhibited a high level of toxicity on the tick *R. appendiculatus* and the lethal dose 50 (LD50) were 0.83 and 0.81 mg/mL distilled water for TVW and TVP respectively. This acaricidal activity is probably linked with the presence of rotenoid compounds (rotenone and deguelin) which are known for their acaricidal and insecticidal activity. The fact that the acaricidal activity of the plants was very similar to that of Milbitraz® (12.5% m/v amitraz) suggests that *T. vogelii* could represent an alternative to the use of synthetic products which are usually expensive and difficult to obtain in many areas of the world. However, extracts of this plant have potential detrimental impact on the environment due to their toxicity on aquatic organisms. Precautions must be taken when using it: the product should be used by spraying.

The final general discussion (**Chapter 7**) outlines the major findings of the thesis in a broader perspective. The results of the different studies are discussed, highlighting the risk factors of the ECF in North-Kivu. The indicators used to assess the epidemiological state of the ECF are also discussed. Possible control strategies are proposed for each epidemiological states of ECF found in the study area and a particular emphasis is focused on the use of the plant *T. vogelii* in the context of integrated control against ticks.

Bibliographie

- Abbott W.S. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Ecol. Entomol.*, 1925, **18**, 265-267.
- Adl S.M., Simpson A.G.B., Farmer M.A., Andersen R.A., Anderson O.R., Barta J.R., Bowser S.S., Brugerolle G., Fensome R.A., Fredericq S., James T.Y., Karpov S., Kugrens P., Krug J., Lane C.E., Lewis L.A., Lodge J., Lynn D.H., Mozley-Standridge S.E., Nerad T.A., Shearer C.A., Smirnov A.V., Spiegel F.W., Taylor M.F.J.R. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *J. Eukaryote Microbiol.*, 2005, **52**, 399-451.
- AGRIPEL, Ministère Provincial de l'Agriculture, pêche et élevage. Rapport, 2010.
- Allsopp B.A., Carrington M., Baylis H., Sohal S., Dolan T.T., Iams K. Improved characterisation of *Theileria parva* isolates using polymerase chain reaction and oligonucleotide probes. *Mol. Bioch. Parasitol.*, 1989, **35**, 137-148.
- Anon. Ticks and tick-borne disease control, a practical field control manual, Vol II, FAO, Rome. 1984.
- Anon. Classification of *Theileria parva* reactions in cattle. *In: Theileriosis in Eastern, Central and Southern Africa: Proceedings of a Workshop on East Coast Fever immunisation held in Lilongwe, Malawi, 20-22 September, 1988.* Doland T.T. (Ed.) International Laboratory for Research on Animal Diseases, Nairobi, 1989, 187-188.
- Ashford R.W., Calisher C.H., Eldridge B.F., Jones T.W., Wyatt G. Encyclopedia of arthropod-transmitted infections of man and domesticated animals, Service M.W. (Ed), Liverpool school of Tropical Medicine, Pembroke Place, 2001. 574 pages.
- Aslam S.N., Stevenson P.C., Kokubun T., Hall D.R. Antibacterial and antifungal activity of cicerfuran and related 2-arylbenzofurans and stilbenes. *Microbiol. Res.*, 2009, **164**, 191-195.
- Baert M., Lehmann J., Ansay M., Kasonia K. Quelques plantes utilisées en médecine vétérinaire traditionnelle en Afrique Sub-saharienne. Une banque de données. Réseau PRELUDE International, Sous-réseau Prélude « Santé, Productions animales, environnement ». *In : Presses Universitaires de Namur: Namur, 1996, 154 pages.*
- Baldwin C.L., Malu M.N., Kinuthia S.W., Conrad P.A., Grootenhuis J.G. Comparative

- analysis of infection and transformation of lymphocytes from African buffalo and Boran cattle with *Theileria parva subsp. parva* and *T. parva subsp. lawrencei*. *Infect. Immun.*, 1986, **53**, 186-91.
- Bally P.R.O. Native medicinal and poisonous plants of East Africa. *Bulletin of Miscellaneous Information Royal Botanical Garden*, 1937, **1** (1), 10-26.
- Barnes D. K., Freyre R. H. Recovery of Naturel Insecticides from *Tephrosia vogelii* I. Efficiency of rotenoid extract from fresh and oven-dried leaves. *Econ. Bot.*, 1966, **20**, 279-284.
- Barnes D. K., Freyre R. H, J. J. Higgins J.J., Martin J.A. Rotenoid content and growth characteristics of *Tephrosia vogelii* as affected by latitude and within-row spacing. *Crop. Sci.*, 1967, **7**, 95-99.
- Barnes D.K., Freyre R.H. Seed production potential of *Tephrosia vogelii* in Puerto Rico. *Univ. J. Agr.*, 1969, **53** (3), 207-212.
- Barnett S.F. The biological races of bovine *Theileria* and their host-parasite relationship. In: Garnham P.C.C. (Ed). Immunity to Protozoa. Blackwell, Oxford, 1963, pp 180-195.
- Barnett S.F., Brocklesby D.W. A mild form of East Coast fever with persistence of infection. *Brit. Vet. J.*, 1966, **122** (9), 361-370.
- Barnett S.F. Theileriosis. in : Weinman D.and Ristic M. (Eds.) Infectious blood diseases of man and animals. Diseases caused by Protista. Vol. II. The pathogens, the infections, and the consequences. Academic Press, New York and London, 1968, pp 269-328.
- Bazarusanga T., Geysen D., Vercruyssen J., Madder M. An update on the ecological distribution of Ixodid ticks infesting in Rwanda: countrywide cross-sectional survey in the wet and the dry season. *Exp. Appl. Acarol.*, 2007a, **43**, 279-291.
- Bazarusanga T., Vercruyssen J., Marcotty T., Geysen D. Epidemiological studies on theileriosis and the dynamics of *Theileria parva* infections in Rwanda. *Vet. Parasitol.*, 2007b, **143**, (3-4), 214-221.
- Bazarusanga T., Geysen D. Vercruyssen J., Marcotty T. The sensitivity of PCR and serology in different *Theileria parva* epidemiological situations in Rwanda. *Vet. Parasitol.*, 2008, **154**, (1-2), 21-31.
- Bazarusanga T. The epidemiology of theileriosis in Rwanda and implications for the control. PhD in veterinary sciences. Department of Virology, Parasitology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine Ghent University, 2008, 140 pages.
- Bénet J.J., Sanaa M., Dufour B., Toma B. Méthodologie des enquêtes en épidémiologie animale. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 1993, **46**(3), 403-422.

- Berkvens D.L., Pegram R.G., Brandt J.R.A. A study of the diapausing behaviour of *Rhipicephalus appendiculatus* and *R. zambeziensis* under quasinalural conditions in Zambia. *Med. Vet. Entomol.*, 1995, **12**, 234-240.
- Berkvens D.L., Geysen D.M., Chaka G., Madder M., Brandt J.R.A. A survey of the ixodid ticks (Acari: Ixodidae) parasiting cattle in the eastern Province of Zambia. *Med. Vet. Entomol.*, 1998, **12**, 234-240.
- Billiouw M., Vercruysse J., Marcotty T., Spreybroeck N., Chaka G., Berkvens D. *Theileria parva* epidemics: a case study in eastern Zambia. *Vet. Parasitol.*, 2002, **107**, 51-63.
- Billiouw M., Brandt J., Vercruysse J., Speybroeck N., Marcotty T., Mulumba M., Berkvens D. Evaluation of the indirect fluorescent antibody test as a diagnostic tool for East Coast fever in eastern Zambia. *Vet. Parasitol.*, 2005, **127** (3-4), 189-198.
- Billiouw M. The epidemiology of bovine theileriosis in the eastern province of Zambia. PhD thesis, Ghent University, Ghent., 2005, 139 Pages.
- Bishop R., Spooner P.R., Kanhai G.K., Kiarie J., Latif A.A., Hove T., Masaka S., Dolan T.T. Molecular characterisation of *Theileria* parasites: application to the epidemiology of theileriosis in Zimbabwe. *Parasitology.*, 1994, **109**, 573-581.
- Bishop R., Geysen D., Spooner P., Skilton R., Nene V., Dolan T., Morzaria S. Molecular and immunological characterisation of *Theileria parva* stocks which are components of the "Muguga Cocktail" used for vaccination against East Coast fever in cattle. *Vet. Parasitol.*, 2001, **94**, 227-237.
- Bizimenyera E.S., Swan G.E., Chikoto H., Eloff J.N. Rationale for using *Peltopharum africanum* (Fabaceae) extracts in veterinary medicine. *J. Sth. Afr. Vet. Assoc.*, 2005, **76**, 54-58.
- Blommaert K.L.J. The plant *Tephrosia vogelii* Hook, as a fresh water Fish Poison. *Roy. Soc. So. Afr. Trans.*, 1950, **32**, 247-263.
- Bock R.E., De Vos A.J., Lewa A., Kingston T.G., Fraser I.R. Studies on failure of T strain live *Babesia bovis* vaccine. *Aust. Vet. J.*, 1995, **72**, 296-300.
- Bock R.E., Jackson L., de Vos A.J., Jorgensen W. Babesiosis of cattle. *Parasitology.*, 2004, **129**, 247-269.
- Boom R., Sol C.J., Salimans M., Jansen C., Wertheim Van Dillen P., Van Der Noordaa J. Rapid and simple methods for purification of nucleic acids. *J. Clinical Microbiol.*, 1990, **28**, 495-503.
- Bowman D.D. Parasitology for veterinarians. Saunders Elsevier, 2009, 451 pages.
- Branagan, D. The feeding performance of the ixodid *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann

- on rabbits, cattle and other hosts. *Bull. Entomol. Res.*, 1974, **64**, 387-400.
- Brown W.C., Norimine J., Knowles D.P., Goff W.L. Immune control of *Babesia bovis* infection. *Vet. Parasitol.*, 2006, **138**, 75-87.
- Bruce D.B., Harmeton A.E., Baterna H.R., Mackie F.P. Amakebe: A disease of calves in Uganda. Proceedings of the Royal Society, 1910, **82**, 256-272.
- Bücher G., Otim B. Quantitative studies on *Theileria parva* in the salivary glands of *Rhipicephalus appendiculatus* adults: quantitation and prediction of infection. *Int. J. Parasitol.*, 1986, **16**, 93-100.
- Burkot T.R., Graves P.M. Malaria, Babesiosis, Theileriosis and Related Diseases. In: Bruce, F.E., Edman, J.D. (Eds), Medical Entomology. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 2000, 187-230.
- Burridge M.J., Kimber C.D. The Indirect Fluorescent Antibody Test for experimental East coast fever (*Theileria parva* infection of cattle). Evaluation of a Cell Culture Schizont Antigen. *Res. Vet. Sci.*, 1972, **13**, 451-455.
- Burridge M.J., Morzaria S.P., Cuningham M.P., Brown C.G. Duration of immunity to East Coast fever (*Theileria parva* infection of cattle). *Parasitology*, 1972, **64**, 511-515.
- Burridge M.J., Kimber C.D. Duration of serological response to the indirect fluorescent antibody test of cattle recovered from *Theileria parva* infection. *Res. Vet. Sci.*, 1973, **14**, 270-271.
- Byavu N., Henrard C., Dubois M., Malaisse F. Phytothérapie traditionnelle des bovins dans les élevages de la plaine de la Ruzizi. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 2000, **4**, (3), 135-156.
- Cebula T.A., LeClerc J.E. Hypermutability and homologous recombination : ingredients for rapid evolution. *Bull. Inst. Pasteur.*, 1997, **95**, 97-106.
- Chen P.P., Conrad P.A., Ole-Moi Yoi O.K., Brown C., Dolan T.T. DNA probes detect *Theileria parva* in the salivary glands of *Rhipicephalus appendiculatus* ticks. *Parasitol. Res.*, 1991, **77**, 590-594.
- Chenyambuga S. W., Nalaila S. M., Mbagha S. H. Assessment of uses, special qualities and management aspects of Iringa Red Zebu cattle in Tanzania. Livestock Research for Rural Development. 2008, Volume 20, Article #17. Retrieved January 31, 2009, from <http://www.lrrd.org/lrrd20/2/chen20017.htm>
- Chenyambuga S.W., Waiswa C., Saimo M., Ngumi P., Gwakisa P.S. Knowledge and perceptions of traditional livestock keepers on tick-borne diseases and sero-prevalence of *Theileria parva* around Lake Victoria Basin. Livestock Research for Rural

- Development. [en ligne] (22/07/2010). Adresse URL : <http://www.lrrd.org/lrrd22/7/chen22135.htm>. Consulté le 31/12/2010.
- Chrysostome C. Enquêtes sur la productivité des volailles en milieu villageois: le choix d'une méthodologie. *In* : Proceeding Infpd Workshop, M'Bour, Senegal, Déc., 1997, 9-13.
- Collins N.E., Pretorius A., Van Kleef M., Brayton K.A., Zweygarth E., Allsopp B.A. Development of improved vaccines for heartwater. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2003, **990**, 474-84.
- Conrad P.A., Denham D., Brown C.G.D. Intraerythrocytic multiplication of *Theileria parva in vitro*: an ultrastructural study. *Int. J. Parasitol.*, 1986, **16**, 223-229.
- Copping L.G. The Biopesticide Manual. 1st Edition. British Crop Protection Council, 1998, 49 Pages.
- Cummings G.S. Comparing climate and vegetation as limiting factors for species ranges of African ticks. *Ecology.*, 2002, **83**, 255-268.
- D'Haese L., Penne K., Elyn R. Economics of theileriosis control in Zambia. *Trop. Med. Int. Hlth.*, 1999, **4**, (9), 49-57.
- Dagnelie P. Statistique théorique et appliquée. Inférence statistique à une et à deux dimensions (Tome 2), De Boek Université (Ed.), Bruxelles : Belgique, 1998, 659 Pages.
- Deem S.L., Perry B.D. Katende J.M., McDermott J.J., Mathan S.M., Maloo S.H., Morzaria S.P., Musoke A.J., Rowland G.J. Variations in prevalence of tick borne diseases in zebu cattle by agroecological zone: implications for East Coast fever immunisation. *Prev. Vet. Med.*, 1993, **16**, 171-187.
- Delfel N.E., Tallent W.H., Carlson D.G., Wolff I.A. Distribution of rotenone and deguelin in *Tephrosia vogelii* and separation of rotenoïd-rich fractions. *J. Agr. Food Chem.*, 1970, **18**, 385-390.
- De Castro J.J. Sustainable tick and tick-borne disease control in livestock improvement in developing countries. *Vet. Parasitol.*, 1997, **71**, 77-97.
- De Deken R., Martin V., Saido A., Madder M., Brandt J., Geysen D. An outbreak of East Coast Fever on the Comoros: A consequence of the import of immunised cattle from Tanzanie? *Vet. Parasitol.*, 2007, **143**, 245-253.
- De Garaine-Wichatitsky M., De Meeus T., Guegan J.F., Renaud F. Spatial and temporal distributions of parasites : can wild and domestic ungulates avoid African tick larvae? *Parasitology*, 1999, **119**, 455-466.
- De Greef G. Monographie agricole de la région de l'Urundi ancienne (Province de l'Afrique

- Orientale allemande). *Bull. Agric. Congo Belge*, 1919, **10**, 3-69.
- De La Fuente J., Rodríguez M., Redondo M., Montero C., García-García J.C., Méndez L., Serrano E., Valdés M., Enríquez A., Canales M., Ramos E., de Armas C.A., Rey S., Rodríguez J.L., Artiles M., García L. Field studies and cost-effectiveness analysis of vaccination with Gavac™ against the cattle tick *Boophilus microplus*. *Vaccine*, 1998, **16**, 366–373
- De La Fuente J., Rodriguez M., Garcia-Garcia J.C. Immunological control of ticks through vaccination with *Boophilus microplus* gut antigens. *Ann. New York Acad. Sc.*, 2000, **916**, 617-621.
- De La Fuente J., Kocan K.M. Advances in the identification and characterization of protective antigens for development of recombinant vaccines against tick infestations. *Expert Rev Vaccines*, 2003, **2**, 583–593.
- De La Fuente J., Kocan KM Strategies for development of vaccines for control of ixodid tick species. *Parasite Immunol.*, 2006, **28**,275–283.
- De La Fuente J., Almazán C., Canales M., Pérez de la Lastra J.M., Kocan K.M., Willadsen P. A ten-year review of commercial vaccine performance for control of tick infestations on cattle. *Anim. Hlth Res. Rev.*, 2007, **8**, 23–28.
- De Waals D. T. Anaplasmosis Control and Diagnosis in South Africa. *Ann. New York Acad. Sc.*, 2000, **916**, 474-483.
- Diolo M., Jean-Baptiste S., Fox M. Ticks (Acari : Ixodidae) of the One-Humped Camel (*Camelus dromaderius*) in Kenya and Southern Ethiopia : species composition, Attachment sites, Sex Ratio and Seasonal Incidence. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, 2001, **54**(2), 115-122.
- Dohoo I., Martin W., Stryhn H. Veterinary epidemiologic research. In: Mcpike, S.M. (Ed.), A comprehensive text for the discipline. AVC, Charlottetown, 2003, 706 Pages.
- Dolan, T. T. Progress in the Chemotherapy of Theileriosis. In: Irvin A. M. P. Cunningham and Young A.S. (Eds.). Advances in the Control of *Theileriosis*. Martinus Nijhoff Publishers: *The Hague*, 1981, 186-208.
- Dolan T.T. Chemotherapy of East Coast fever, the long term weight changes, carrier state and disease manifestations of parvaquone treated cattle. *J. Comp. Pathol.*, 1986, **96**, 137-146.
- Dolan T.T. Dogmas and misunderstandings in East Coast fever. *Trop. Med. Int. Hlth.*, 1999, **4**, A3-A11.
- Dormal S. La synthèse des principes actifs du pyrèthre. In : Bulletin Agricole du Congo-Belge

- (BACB), 1950, **1** (XLI), 203-204.
- Dufour B. Le questionnaire d'enquête. *Epidémiol. santé anim.*, 1994, **25**, 101-112.
- Ekpendu T.O.E., Obande O.D., Anyogo P.U., Attah A.D. Nigerian ethnomedicine and medicinal plant flora-The Benue experience. *J. Pharmaceut. Res. Dev.*, 1998, **3**, 37-46.
- Estrada-Peña A. Climate change decreases habitat suitability for some tick species (Acari: Ixodidea) in South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 2003, **70**, 79-93.
- Eugui E.M., Emery D.L. Genetically restricted cell-mediated cytotoxicity in cattle immune to *Theileria parva*. *Nature*, 1981, **290**, 251-254.
- Euzeby J., Bourdoiseau G., Chauve C.M. Dictionnaire de parasitologie médicale et vétérinaire, Ed. TEC et DOC, Paris, Ed. Médic. Internationale, Cachan et Lavoisier, 2005, 492 pages.
- Emery D.L. Adoptive transfer of immunity to infection with *Theileria parva* (East Coast fever) between cattle twins. *Res. Vet. Sc.*, 1981, **30**, 364-367.
- Fandamu P. Transmission and infection dynamics of theileriosis in Southern Zambia: The effect of environmental and host factors (PhD Thesis), Universiteit Gent: Gent, 2005, 139 pages.
- Fawcett D.W., Conrad P.A., Grootenhuis J.G., Morzaria S.P. Ultrastructure of the intraerythrocytic stage of *Theileria* species from cattle and waterbuck. *Tissue cell.*, 1987, **19**, (5), 643-655.
- Finney D.J. (Ed). Probit analysis. Third Ed., Cambridge University Press: Cambridge, 1971, 333 pages.
- French D. M., McElwain T. F., McGuire T. C., Palmer G. H. Expression of *Anaplasma marginale* Major Surface Protein 2 Variants during Persistent Cyclic Rickettsemia. *Infect. Imm.*, 1998, **66**, 1200-1207.
- French D M., Brown W.C., Palmer G.H. Emergence of *Anaplasma marginale* antigenic variants during persistent rickettsemia. *Infect. Imm.*, 1999, **67**, 5834-5840.
- Fukami J., Mitsui T., Fukunaga K., Shishido T. The selective toxicity of rotenone between mammal, fish and insect. *In: O'Brien R.D., Yamamoto I. (Eds.) Biochemical Toxicology of Insecticides*. Academic Press, New York, 1970, pp.159-178.
- Fukami H., Nakajima M. Naturally occurring insecticides, Rotenone and Rotenoids. *In: Jacobson M., Crosby D.G. (Eds) (Chapter 2), Marcel Dekker, New York, 1971, p 71*
- Gachohi J.M., Kitala P.M., Ngumi P.N., Skilton R.A. Environment and farm factors associated with exposure to *Theileria parva* infection in cattle under traditional mixed farming system in Mbeere District, Kenya. *Trop. Anim. Hth. Prod.*, 2011, **43**, 271-277.

- Gadzirayi C.T., Mutandwa E., Mwale M., Chindundu T. Utilization of *Tephrosia vogelii* in controlling ticks in dairy cows by small-scale commercial farmers in Zimbabwe. *Afr. J. Biotechnol.*, 2009, **8**(17), 4134-4136.
- Gauer M., Mackenstedt U., Melhorn H., Schein E., Zapf F., Nlenga E., Young A., Morzaria S. DNA measurements and ploidy determination of developmental stages in life cycles of *Theileria annulata* and *Theileria parva*. *Parasitol. Res.*, 1995, **81**, 565-574.
- Geysen D., Bishop R., Skilton R., Dolan T., Morzaria S. Molecular epidemiology of *Theileria parva* in the field. *Trop. Med. Int. Hlth.*, 1999, **4**, A21-A27.
- Geysen D. The application of Molecular Biology techniques to analyse diversity in *Theileria parva* populations in Zambia. (PhD thesis), Brunel University, UK, 2000.
- Geysen D. Live immunisation against *Theileria parva*: spreading the disease? *Trends Parasitol.*, 2008, **24**, 245-246.
- Gharbi M. Vaccination contre la theilériose tropicale en Tunisie (*Theileria annulata*) : analyse économique et essai d'immunisation par ADN, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France, mars 2006, 158 Pages.
- Gilioli G., Groppi M., Vesperoni M.P., Baumgartner J. Gutierrez A.P. An epidemiological model of East Coast fever in African livestock. *Ecol. Model.*, 2009, **220**, 1652–1662.
- Gitau G.K., Perry B.D., Katende J.M., McDermont J.J., Morzaria S.P., Young A.S. The prevalence of serum antibodies to tick-borne infections of cattle in smallholder dairy farms in Murang'a District, Kenya; a cross-sectional study. *Prev. Vet. Med.*, 1997, **30**, 95-107.
- Gitau G.K., Perry B.D., McDermont J.J. The incidence, morbidity and mortality due to *Theileria parva* infections in smallholder dairy farms in Murang'a District, Kenya. *Prev. Vet. Med.*, 1999, **39**, 65-79.
- Gitau G.K., McDermont J.J., Katende J.M., O'Callaghan C.J., Brown R., Perry B.D. Differences in the epidemiology of theileriosis in contrasting agro-ecological and grazing strata of highland Kenya. *Epidemiol. Infect.*, 2000, **124**, (2), 325-335.
- Goddard J. (Ed.). Physician's guide to Arthropods of Medical importance. 4th edition. CRC PRESS, New York Washington DC. 2003, 444 pages.
- Goddeeris B.M., Katende J.M., Irvin A.D., Chumo R.S.C. Indirect fluorescent antibody test for experimental and epizootiological studies on East Coast fever (*Theileria parva* infection in cattle). Evaluation of a cell culture schizont antigen fixed and stored in suspension. *Res. Vet. Sci.*, 1982, **33**, 360-365.
- Goddeeris B.M., Morrison W.I. Techniques for the generation, cloning and characterization

- of bovine cytotoxic T cells specific for the protozoan *Theileria parva*. *J. Tissue Cult. Meth.*, 1988, **11**, 101-110.
- Goddeeris B.M., Morrison W.I., Toye P.G., Bishop R. Strain specificity of bovine *Theileria parva*-specific cytotoxic T cells is determined by phenotype of restricting class I MHC. *Immunology.*, 1990, **69**, 38-44.
- Gomes A.F., Kageruka P., Brandt J. Epidémiologie de la babésiose bovine dans le Sud-Ouest de l'Angola. *Rev. El. Méd. vét Pays Trop.*, 1991, **44**(4), 429-435.
- Gonzales J.C., Muniz R.A., Farias A., Goncalves L.C.B., Rew R.S. Therapeutic and persistent efficacy of doramectin against *Boophilus microplus* in cattle. *Vet. Parasitol.*, 1993, **49**, 107-119.
- Graham S.P., Pellé R., Honda Y., Mwangi D.M., Tonukari N., Yamage M., Jane Glew E., De Villiers E.P., Shah T., Bishop R., Abuya E., Awino E., Gachanja J., Luyai A.E., Mbwika F., Muthiani A., Ndegwa D.M., Njahira M., Nyanjui J.K., Onono F.O., Osaso J., Saya R.M., Wildmann C., Fraser C.M., Maudlin I., Gardner M.J., Morzaria S.P., Loosmore S., Gilbert S.C., Audonnet J.C., Van De Bruggen P., Nene V., Taracha E.L.N. *Theileria parva* candidate vaccine antigens recognized by immune bovine cytotoxic T lymphocytes. *PNAS*, 2006, **103**, 3286-3291.
- Graham S.P., Pellé R., Yamage M., Mwangi D.M., Honda Y., Mwakubambanya R.S., De Villiers E.P., Abuya E., Awino E., Gachanja J., Mbwika F., Muthiani A.M., Muriuki C., Nyanjui J.K., Onono F.O., Osaso J., Riitho V., Saya R.M., Ellis S.A., McKeever D.J. MacHugh N.D., Gilbert S.C., Audonnet J.C, Morrison W.I., Van Der Bruggen P., Taracha E.L.N. Characterization of the fine specificity of bovine CD8 T-Cell responses to defined antigens from the protozoan parasite *Theileria parva*. *Infect. Imm.*, 2008, **76**, (2), 685-694.
- Haaf E. The life of a midwife. Menstruation, pregnancy and birth. *Ethnomed.*, 1971, **1** (1), 83-89.
- Hagermann J.W., Pearl M.B., Higgins J.J., Delfel N.E., Earle F.R. Rotenone and deguelin in *Tephrosia vogelii* at several stages of maturity. *J. Agr. Food. Chem.*, 1972, **20** (4), 906-908.
- Hassan Al-Hazimi M.A, Nabila Al-Jaber A., Rafiq Siddiqui H. Phenolic compounds from *Tephrosia* plants (Leguminosae). *J. Saudi Chem. Soc.*, 2005, **9**, 597-622.
- Huang J.G., Xu H.H., Zhou L.J., Yang X.Y., Zhang T.Y. Seasonal variations and analysis of rotenone content in *Tephrosia vogelii* Hook. *J. Huazhong Agricult. Univers.*, 2007a, **26**, 313-315.

- Huang J.G., Zhou L.J., Yang X.Y., Wen Y.L., Xu H.H., Zhang T.Y. The Processing of rotenone aerosols and their bioassay. *Pesticides Shenyang*, 2007b, 46, 453-455.
- Hulliger L., Wilde J. K. H., Brown C. G. D., Turner L. Mode of multiplication of *Theileria* in cultures of bovine lymphocytic cells. *Nature*, 1964, **203**, 728-730.
- Irvin A.D., Ocama J.G., Spooner P.R. Cycle of bovine lymphoblastoid cells parasitized by *Theileria parva*. *Res. Vet. Sc.*, 1982, **33**, 298-340.
- Irvin A.D., Dobbelaere D.A.E., Mwamachi D.M., Minami T., Spooner P.R., Ocama J.G.R. Immunisation against ECF: correlation between mAbs profiles of *T. parva* stocks and cross-immunity *in vivo*. *Res. Vet. Sci.*, 1983, **35**, 341-346.
- Isman M.B. Perspective Botanical Insecticides: for richer for poorer. *Pest. Manag. Sc.*, 2008, **64**, 8-11.
- Jaquiet P., Colas F., Cheikh D., Thiam E., Ly B.A. Epidémiologie descriptive de la theilériose à *Theileria annulata* en Mauritanie, Afrique de l'Ouest sub-saharienne. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays Trop.*, 1994, **47** (2), 147-155.
- Jarrett W.F., Crichton G.W., Pirie H.M. *Theileria parva*: kinetics of replication. *Exp. Parasitol.*, 1969, **24**, 9-25.
- Jongejan F., Thielemans M.J.C., Briere C., Uilenberg G. Antigenic diversity of *Cowdria ruminantium* isolates determined by crossimmunity. *Res. Vet. Sci.*, 1991, **51**, 24-28.
- Jongejan F., Vogel S.W., Guèye A., Uilenberg G. Vaccination contre la cowdriose avec des *Cowdria ruminantium* atténuées *in vitro*. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 1993, **46**(1-2), 223-227.
- Kabamba B., Malumalu A.M. Cadastre des infrastructures des Provinces du Nord et Sud-Kivu République Démocratique du Congo: Problèmes et recommandations. Cellule d'Appui Politologique en Afrique Centrale (CAPAC), 2010, 538 Pages.
- Kabu Zex-Kongo J.P.N. Du Zaïre au Congo: la question agraire au Nord-Kivu. In : L'Afrique politique en 1999, Entre transitions et conflits. Editions Karthala et CEAN, Paris, 1999, 201-211.
- Kaiser M.N., Sutherst R.W., Bourne S.A., Gorrison L., Floyed R.B. Population dynamics of ticks on Ankole cattle in five ecological zones in Burundi and strategies for their control. *Prev. Vet. Med.*, 1988, **6**, 199-222.
- Kalombo T.J.L. Atlas de l'organisation administrative de la République Démocratique du Congo. Centre d'Etudes pour l'action sociale (CEPAS). Médiaspaul : Kinshasa, 2005, 235 Pages.
- Kalume M.K., Losson B., Vyambwera C.G., Mbegumbaya L., Makumyaviri A.M.,

- Saegerman C. Enquête épidémiologique auprès des vétérinaires concernant trois maladies vectorielles des bovins élevés dans la Province du Nord-Kivu, République Démocratique du Congo. *Epidémiol. et santé anim.*, 2009, **56**, 197-216.
- Kambarage D.M. East Coast fever as a continued constraint to livestock improvement in Tanzania : a case study. *Trop. Anim. Hth. Prod.*, 1995, **27**, 145-149.
- Kaplan E.L., Meier P. Non-parametric estimation from incomplete observations. *J. Am. Stat Ass.*, 1958, **53** : 457-458.
- Kariuki D.P., Young A.S., Morzaria S.P., Lesan A.C., Mining S.K., Omwoyo P., Wafula J.L.M., Molyneux D.H. *Theileria parva* carrier state in naturally infected and artificially immunised cattle. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, 1995, **27**, 15-25.
- Kasay K.L.L. Dynamisme Démo-Géographique et mise en valeur de l'espace en milieu équatorial d'altitude : Cas du Pays Nande au Kivu septentrional, Zaïre. (PhD-Thesis). Université de Lubumbashi, Faculté des sciences, département de Géographie, 1988, 404 Pages.
- Kasonia K., Yamalo K.M. Ethnologie des traitements vétérinaires dans la région du Nord-Kivu (Zaïre). In : *Métissages en santé animale de Madagascar à Haïti*. Namur, Belgique : Presses Universitaires de Namur, 1994, 275-286.
- Kasonia K. Une reconnaissance des savoirs paysans. Plantes médicinales et Médecine vétérinaire traditionnelle d'Afrique centrale. (PhD-Thesis). Université de Liège : Liège, 1998, 387 Pages.
- Katamuliko T., Mulumemuvi K. Association tétracycline- Aceturate de diminazène – Huile végétale pour le traitement d'une infection mixte due à *Theileria parva* et *Anaplasma marginale* chez les bovins élevés à Beni – Lubero, RDC. *Parcours et initiatives*, 2004, **2** spécial, 118-120.
- Katende J., Morzaria S., Toye P., Skilton R., Nene V., Nkonge C., Musoke A . An enzyme linked immunosorbent assay for detection of *Theileria parva* antibodies in cattle using a recombinant polymorphic immunodominant molecule. *Parasitol. Res.*, 1998, **84**, 408-416.
- Katunguka-Rwakishaya E., Rubaire-Akiiki C.M. Important parasitic diseases of livestock in Uganda, Kampala, Fountain Publishers, Uganda, 2008, pp. 49-61.
- Katzer F., Ngugi D., Oura C., Bishop R.P., Taracha E.L., Walker A.R., McKeever D.J. Extensive genotypic diversity in a recombining population of the apicomplexan parasite *Theileria parva*. *Infect. Immun.*, 2006, **74**, 5456-5464.
- Katzer F., Ngugi D., Schnier C., McKeever D.J. Influence of host immunity on parasite

- diversity in *Theileria parva*. *Infect. Immun.*, 2007, **75**, 4909–4916.
- Katzer F., Ngugi D., Walker A.R., McKeever D.J. Genotypic diversity, a survival strategy for the apicomplexan parasite *Theileria parva*. *Vet. Parasitol.*, 2010, **167**, 236-243.
- Kerharo J., Bouquet A. Plantes Médicinales et Toxiques de la Côte-d'Ivoire Haute-Volta. Vigot Frères (Ed.): Paris (VI^{ème}), 1950, 296 Pages.
- Kivaria F.M. Estimated direct economic costs associated with tick-borne diseases on cattle in Tanzania. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, 2006, **38**, 291-299.
- Kivaria F.M., Ruheta M.R., Mkonyi P.A., Malamsha P.C. Epidemiological aspects and economic impact of bovine theileriosis (East Coast fever) and its control: a preliminary assessment with special reference to kibaha district, Tanzania. *Vet. J.*, 2007, 384-390.
- Kocan K.M., de la Fuente J., Blouin E.F., Garcia-Garcia J.C. *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae): recent advances in defining host–pathogen adaptations of a tick-borne rickettsia. *Parasitology*, 2004, **129**, 285-300.
- Kock H.T., Kambenva L., Norval R.A.I., Ocama J.G.R., Masaka S., Munatswa F.C., Honhold N., Irvin A.D.. Age resistance to *Theileria parva bovis* infection in calves. *Vet. Parasitol.*, 1990, **37**, 197-206.
- Konnai S., Imamura S., Nakajima C., Witola W.H., Yamada S., Simuunza M., Nambota A., Yasuda J., Ohashi K., Onuma M.. Acquisition and transmission of *Theileria parva* by vector tick, *Rhipicephalus appendiculatus*. *Acta Tropica*, 2006, **99**, 34-41.
- Koona P, Dorn S. Extracts from *Tephrosia vogelii* for the protection of stored legume seeds against damage by three bruchid species. *Ann. App. Biol.*, 2005, **147**, 43-48.
- Kumar R. Insect Pest Control-with special reference to African Agriculture. London: ELBS, 1984
- Kuttler K.L., Graham O.H., Trevino J.L. The effect of imidocarb treatment of Babesia in the bovine and the tick (*Boophilus microplus*). *Res. Vet. Sci.*, 1975, **18**, 198-200.
- Kuttler K.L. Chemotherapy of Babesiosis: A review. *In: Babesiosis*. Ristic M., Kreier J.P. (Eds), New York, Academic Press, 1981, 65-85.
- Lambert N., Trouslolot M.-F., Nef-Campa C., Chrestin H. Production of rotenoids by hetrotrophic and photomixotrophic cell cultures of *Tephrosia vogelii*. *Phytochemistry*, 1993, **34**, 1515-1520.
- Lambot O. La situation des élevages européens au Kivu en 1957. *In : Bulletin de Documentation et de Technique Agricole : Bukavu*, 1958, **42**, 3-25.
- Landais E., Lhoste P. L'association agriculture-élevage en Afrique intertropicale: un mythe

- techniciste confronté aux réalités de terrain. *In* : Cahiers des Sciences Humaines, 1990, **26**, (1-2), 219.
- Lawrence J.A., Norval R.A.I., Uilenberg G. *Rhipicephalus zambeziensis* as a vector of bovine theileriidae. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, 1983, **15**, 39-42.
- Lawrence J A. History of bovine theileriosis in southern Africa. *In*: Norval R.A.I., Perry B.D., Young A.S. (Eds). The epidemiology of theileriosis in Africa. Academic Press: London, 1992, 1–31
- Lawrence J.A., de Vos A.J., Irvin A.D. East Coast fever. *In* : Infectious Diseases of livestock. J.A.W. Coetzer, G..R. Thomson, R.C.Tustin (Eds). Oxford University press, 1994, pp. 309-325.
- Lawrence J A, Perry B D, Williamson S M. East Coast fever. *In*: Coetzer J A W, Tustin R.C. (eds) *Infectious diseases of livestock* (2nd ed). Oxford University Press Southern Africa, Cape Town, 2004a, 448–463.
- Lawrence J A, Perry B D, Williamson S M. Corridor disease. *In*: Coetzer J A W, Tustin R.C. (eds) *Infectious diseases of livestock* (2nd ed). Oxford University Press Southern Africa, Cape Town, 2004b, 468–471.
- Leitch B.L., Young A.S. *Theileria* infections in *Rhipicephalus appendiculatus* ticks collected in the field. *In*: Irvin A.D., Cunningham M.P., Young A. (Edts) Advances in The control of Theileriosis. Proceedings of an International Conference held at ILRAD, Martinus Niihoff Publishers, The Hague, Nairobi, 9-13 Februry, 1981, 63-65.
- Lempereur L., Geysen D., Madder M. Development and validation of a PCR-RFLP test to identify African *Rhipicephalus (Boophilus)* ticks. *Acta Tropica*, 2010. In Press, doi: 10.1016/j.actatropica.2010.01.004.
- Lessard P., L'Eplattenier R., Norval R.A.I., Kundert K., Dolan T.T., Croze H., Walker J.B., Irvin J.B., Perry B.D. Geographical information systems for studying the epidemiology of cattle diseases caused by *Theileria parva*. *Vet. Rec.*, 1990, **126**, 255-262.
- Levine N.D., Corliss J.O., Cox F.E.G., Deroux G., Grain J., Honigberg B.N., Leedale G.L., Loeblich II A.R., Lom J., Lynn D.H., Merinfeld F.G., Page F.C., Poljansky G., Sprangue V., Vaura J., Wallace F.G. A newly revised classification of the Protozoa. *J. Protozool.*, 1980, **27**, 37-58.
- Lhoste P., Dolle V., Rousseau J., Soltener D. Manuel de Zootechnie des régions chaudes. Les systèmes d'élevages. Collection précis d'élevage. Ministère de la coopération: Paris, 1993, 288 pages.

- Liu Y.Q., Xu Q., Zhang L., Liu N. Chlorpyrifos Resistance in Mosquito *Culex pipiens quinquefasciatus*. *J. Med. Entomol.*, 2005, **42**, 815-820.
- Liu Y.Q., Liu X.Q., Chen H.Y., Xiong Z.W., Ma H.M., Guo X.J. Current insecticide resistance of *Culex pipiens quinquefasciatus* in different habitats in Nanchang, China. *Chinese J. Vect. Biol. Contr.*, 2010, **21**, 329-332.
- Lukwa N., Molgaard P., Furu P., Bogh C. *Lippia javanica* (Burm F.) Spreng: its general constituents and bioactivity on mosquitos. *Trop. Biomed.*, 2009, **26** (1), 85-91.
- Madder M., Berkvens D. Evaluation of an *in vitro* method to measure behavioural diapause in the tick *Rhipicephalus appendiculatus* (Acarina: Ixodidae) in the laboratory. *Parasitology*, 1997, **115**, 97-100.
- Madder M., Speybroeck N., Brandt J., Berkvens D. Diapause induction in adults of three *Rhipicephalus appendiculatus* stocks. *Exp. Appl. Acarol.*, 1999, **23**, 968-999.
- Madder M., Speybroeck N., Brandt J., Tirry L., Hodek I., Berkvens D. Geographic variation in diapause response of adult *Rhipicephalus appendiculatus* ticks. *Exp. Appl. Acarol.*, 2002, **27**, (3), 209-221.
- Madder M., Speybroeck N., Berkvens D., Baudoux V., Marcotty T., Bah I.P, Geysen D., Brandt J. Merogony in *in vitro* cultures of *Theileria parva*. *Vet. Parasitol.*, 2003 (in press).
- Madder M. Speybroeck N., Bilounga A., Helleputte D., Berkvens D. Survival of unfed *Rhipicephalus appendiculatus* and *Rhipicephalus zambesiensis* adults. *Med. Vet. Entomol.*, 2005, **19**, (3), 245-250.
- Madder M., Thys E., Geysen D., Baudoux C., Horak I. *Boophilus microplus* ticks found in West Africa. *Exp. Appl. Acarol.*, 2007, **43**, 233-234.
- Madder M., Thys E., Achi L., Toure A., De Deken R. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: a most successful invasive tick species in West-Africa. *Exp. Appl. Acarol.*, 2011, **53**(2), 139-145.
- Madzimore J., Nyahangare E.T., Hamudikuwanda H., Hove T., Stevenson P.C., Belmain S.R., Mvumi B.M. Acaricidal efficacy against cattle ticks and acute oral toxicity of *Lippia javanica* (Burn F.) spreng. *Trop. Anim. Hth. Prod.*, 2011, **43**, 481-489.
- Mafikiri A.T. Aspects économiques du médicament traditionnel et du médicament occidental en Afrique. N'Dama N°1, mai 1998.
- Magona J.W, Walubengo J., Olaho-Mukani W., Jonsson N.N., Welburn S.C., Eisler M.C.

- Clinical features associated with seroconversion to *Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina* and *Theileria parva* infections in African cattle natural tick challenge. *Vet. Parasitol.*, 2008, **155**, 273-280.
- Makumyaviri A.M., Habimana M. Prévalence de la theilériose bovine à *Theileria parva* sur les plateaux d'Itombwe, Centre Est Zaïre. *Rev. Méd. Vét.*, 1993, **144**, (5), 415-418.
- Makumyaviri A.M., Mwilambwe K.P. Dépistage et diagnostic de la theilériose et de l'anaplasmose chez les bovins élevés au ranch des Marungu, République Démocratique du Congo. *Cah. Vét. Congo*. 1998, **01**, 22-23.
- Makumyaviri A.M., Walemba C.K.B. Diagnostic de la babésiose et de l'anaplasmose bovines dans les élevages de la mission catholique de Malemba Nkulu, Katanga. *Ann. Méd. Vét.*, 2000, **13**, 26-29.
- Makumyaviri A.M., Lenge P.M. Prévalence de l'anaplasmose chez les bovins élevés à la compagnie pastorale du Haut Lomami, Kiabukwa-kamina, au Katanga. *Parcours et initiatives*, 2007, **6**, 46-50.
- Maloo S.H., Rowlands G.J., Thorpe W., Gettinby G., Perry B.D. A longitudinal study of disease incidence and case-fatality on small-holder dairy farms in coastal Kenya. *Prev. Vet. Med.*, 2001, **52**, 17-29.
- Malmquist W. A., Nyindo M. B. A., Brown C. G. D. East Coast fever: Cultivation in vitro of bovine spleen cell lines infected and transformed by *Theileria parva*. *Trop. Anim. Hlth Prod.*, 1970, **2**, 139-145.
- Mangold A.J., Vanzini V.R., Echaide I.E., De Eschaide S.T., Volpogni M.M., Guglielmone A.A. Viability after thawing and dilution of simultaneously cryopreserved vaccinal *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* strains cultured *in vitro*. *Vet. Parasitol.*, 1996, **61**, 345-348.
- Mararo S.B. Pouvoirs, élevage bovin et la question foncière au Nord-Kivu. L'Afrique des Grands Lacs. *Annuaire*, 2001, 31 Pages.
- Marcotty T., Billiouw M., Chaka G., Berkvens D., Losson B., Brandt J. Immunisation against East Coast fever by the infection and treatment method: evaluation of the use of ice baths for the field delivery and appraisal of an acid formulation of long-acting tetracycline. *Vet. Parasitol.*, 2001, **99**, 175-187.
- Marcotty T., Brandt J., Billiouw M., Chaka G., Losson B., Berkvens D. Immunisation against *Theileria parva* in eastern Zambia: influence of maternal antibodies and demonstration of the carrier status. *Vet. Parasitol.*, 2002, **110**, (1-2), 45-56.
- Marcotty T., Berkvens D., Besa R.K., Losson B., Dolan T.T., Madder M., Chaka G., Van den

- Bossche P., Brandt J. Lyophilisation and resuscitation of sporozoites of *Theileria parva*: preliminary experiments. *Vaccine*, 2003, **22**, 213-216.
- Marcotty T. Optimisation et rationalisation de l'immunisation du bétail de la Zambie de l'Est contre *Theileria parva*. (PhD-Thesis), Université de Liège, département des maladies infectieuses et parasitaires et Institut de Médecine Tropicale d'Anvers, département de santé animale, 2003, 184 pages.
- Marcotty T., Chaka G., Brandt J., Berkvens D., Thys E., Mulumba M., Mataa L., Van den Bossche P. The transfer of East Coast fever immunisation to veterinary paraprofessionals in Zambia. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 2008, **27**, (3), 741-749.
- Marking L. Oral toxicity of rotenone to mammals. *In*: US Fish and Wildlife Service, Investigations in Fish Control, 1988, **94**, 5-9.
- Martin S.W., Meek A.H., Willeberg P. Veterinary epidemiology: principles and methods. Iowa State University Press: Ames, 1987, 343 Pages.
- Matovu H., Olila D. Acaricidal activity of *Tephrosia vogelii* Extracts on Nymph and Adult Ticks. *Int. J. Trop. Med.*, 2007, **2** (3), 83-88.
- Matsumura F. Toxicology of insecticides. New York press, 1975, 503 Pages.
- Matthysse J.G., Colbo M.H. (Eds). The Ixodid ticks of Uganda. Entomological Society of America. College Park, Maryland, 1987, 426 pages.
- Mbassa G.K., Balemba O., Maselle R.M., Mwaga N.V. Severe anaemia due to haematopoietic precursor cell destruction in field cases of East Coast Fever in Tanzania. *Vet. Parasitol.*, 1994, **52**, 243-256.
- Mbogo S.K., Kariuki D.P., Ngumi P.N., McHardy N. A mild *Theileria parva* parasite with potential for immunisation against East Coast fever. *Vet. Parasitol.*, 1996, **61**, 41-47.
- Mbwambo H.A., Sudi F.F., Mkonyi P.A., Mfinanga J.M., Mella E.S., Ngovi C.J. Comparative studies of the efficacy of parvaquone and parvaquone-plus-frusemide in the treatment of *Theileria parva* infection (East Coast fever) in cattle. *Vet. Parasitol.*, 2002, **108**, 195-205.
- Mbwambo H.A., Magwisha H.B., Mfinganga J.M. Evaluation of parvaquone (BUTA-KelTM KE LA, Belgium) as a treatment of *East Coast fever* in cattle, in the peri-urban of Dar Es Salaam city, Tanzania. *Vet. Parasitol.*, 2006, **139**, (1-3), 67-73.
- McHardy N., Wekesa L.S., Hudson A.T., Randall A.W. Antitheilerial activity of BW 720 (Buparvaquone): A comparison with Parvaquone. *Res Vet. Sci.*, 1985, **39**, 29-33.
- McHardy N., Wekesa L.S. Buparvaquone (Bw 720C), a new anti-theilerial naphtaquinone, its

- role in the therapy and prophylaxis. *In*: Dolan T.T. (Ed). Immunisation against Theileriosis in Africa: proceedings of a joint workshop, Nairobi, 1-5 October, 1984. International Laboratory for Research on Animal diseases, Nairobi, 1989, pp. 158-165.
- McKeever D.J., Taracha E.L.N., Innes E.A., MacHugh N.D., Awino E., Goddeeris B.M., Morrison W.I. Adoptive transfer of immunity to *Theileria parva* in the CD8+ fraction of responding efferent lymph. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1994, **91**, 1959-1963.
- McKeever D.J., Taracha E.L.N., Morrison W.I., Musoke A.J., Morzaria S.P. Protective immune mechanisms against *Theileria parva*: evolution of vaccine development strategies. *Parasitol. Today.*, 1999, **15**, 263-267.
- McKeever D.J. Cellular immunity against *Theileria parva* and its influence on parasite diversity. *Res. Vet. Sci.*, 2001, **70**, 77-81.
- McKeever D.J. Live immunisation against *Theileria parva* containing or spreading the disease? *Trends Parasitol.*, 2007, **23**, 565-568.
- Medley G.F., Perry B.D., Young A.S. Preliminary analysis of the transmission dynamics of *Theileria parva* in eastern Africa. *Parasitology*, 1993, **106**, 251-264.
- Mettam R.W.M., Carmichael J. Turning sickness, a protozoan encephalitis of cattle in Uganda: its relationship with East Coast fever. *Parasitology*, 1936, **28**, 254-283.
- Minjauw B., McLeod A. Tick-borne diseases and poverty. The impact of ticks and tick-borne diseases on the livelihood of small-scale and marginal livestock owners in India and eastern and southern Africa. Research report, DFID Animal Health Programme, Centre for Tropical Veterinary Medicine: University of Edinburgh, UK, 2003, 116 pages.
- Ministère du Plan, Unité de pilotage du processus DSRP. Monographie de la Province du Nord-Kivu (Draft 4) : Kinshasa, 2005, 155 Pages.
- Minshull J.I. Norval R.A.I. Factors influencing the spatial distribution of *Rhipicephalus appendiculatus* in Kyle Recreational Park, Zimbabwe. *Sth. Afr. J. Wildlife Res.*, 1982, **12**, 118-123.
- Moll G., Lohding A., Young A. S., Leitch B.L. Epidemiology of Theileriosis in calves in an endemic area of Kenya. *Vet. Parasitol.*, 1986, **19**, 255-273.
- Moorling M.S., Mashowu W., Scott C.A. The effect of rainfall on tick challenge at Kyle recreational Park, Zimbabwe. *Exp. Appl. Acarol.*, 2004, **18**, (9), 507-520.
- Morel P.C. Maladies à tiques du bétail en Afrique. *In* : Chartier C., Itard J., Morel P.C., Troncy P.M. (Eds.). Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Editions Médicales internationales, Cachan, Editions TEC et DOC, Paris, 2000, 452-761.

- Morrison W.I., Goddeeris B.M., Teale A.J., Grocock C.M., Kemp S.J., Stagg D.A.
Cytotoxic T cells elicited in cattle challenged with *Theileria parva* (Muguga):
evidence for restriction by I MHC determinants and parasite strain specificity.
Parasite Immunol., 1987, **9**, 563-578.
- Morrison W.I., Taracha E.L.N., McKeever D.J. Contribution of T-cell responses to immunity
and pathogenesis in infections with *Theileria parva*. *Vet. Parasitol.*, 1995, **57**, 177-
187.
- Morrison W.I., McKeever D.J. Current status of vaccine development against *Theileria*
parasites. *Parasitology*, 2006, **133**, S169-187.
- Mortelmans J., Kageruka P. History of 80 years of observations and studies on theileriosis in
Zaire, Rwanda and Burundi. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.*, 1986, **66** (3), 199-212.
- Morzaria S.P., Nene V., Bishop R., Musoke A. Vaccines against *Theileria parva*. *Ann. New
York Acad. Sci.*, 2000, **916**, 464-473.
- Moyo B., Masika P.J. Tick control methods used by resource-limited farmers and the effect of
ticks on cattle in rural areas of the Eastern Cape Province. *Sth. Afr., Trop. Anim. Hlth.
Prod.*, 2009, **41**, 517-523.
- Mugabi K.N., Mugisha A., Ocaido M. Socio-economic factors influencing the use of
acaricides on livestock: a case study of the pastoralist communities of Nakasongola
District, Central Uganda. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, 2010, **42**, 131-136.
- Mugisha A., McLeod A., Percy R., Kyewalabye E. Strategies, effectiveness and rationale of
vector-borne disease control in the pastoralist system of south-west Uganda. *Trop.
Anim. Hlth. Prod.*, 2005, **37**, 479-489.
- Muhanguzi D., Matovu E., Waiswa C. Prevalence and Characterization of *Theileria* and
Babesia Species in Cattle under Different Husbandry in Western Uganda. *Int. J. Anim.
Vet. Adv.*, 2010, **2** (2), 51-58.
- Mukhebi A.W., Wathanga J., Perry B.D., Irvin A.D., Morzaria S.P. Financial analysis of East
Coast fever control strategies on beef production under farm conditions. *Vet. Rec.*,
1989, **125**, 456-459.
- Mukhebi A.W., Morzaria S.P., Perry B.D., Dolan T.T., Norval R.A.I. Cost analysis of
immunization for East Coast fever by the infection and treatment method. *Prev. Vet.
Med.*, 1990, **9**, 207-219.
- Mukhebi A.W., Perry B.D., Kruska R. Estimated economics of theileriosis in Africa. *Prev.
Vet. Med.*, 1992, **12**, 73-85.
- Mukhebi A.W., Kariuki D.P., Mussukuya E., Mullins G., Ngumi P.N., Thorpe W., Perry B.D.

- Assessing the economic impact of immunisation against East Coast fever: a case study in Coast Province. *Kenya Vet. Rec.*, 1995, **137**, 17-22.
- Mukhebi A.W. Assessing economic impact of tick-borne diseases and their control: the case of theileriosis immunisation. FAO Workshop, Harare, March 1996, 147-155.
- Muraguri G.R., Mbogo S.K., McHardy N., Kariuki D.P. Cost analysis of immunisation against East Coast fever on smallholder dairy farms in Kenya. *Prev. Vet. Med.*, 1998, **34**, 307-316
- Muraguri G.R., Gitau P.K., Mwangi M.N., Mbogo S.K., Kariuki D.P. Comparison of indirect fluorescent antibody test and enzyme linked immunosorbent assay in the detection of exposure of cattle to *Theileria parva* in Kenya. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1999, **66**, 119-122.
- Muraguri G.R., Ngumi P.N., Wesonga D., Ndungu S.G., Wanjohi J.M., Bang K., Fox A., Dunne J., McHardy N. Clinical efficacy and plasma concentrations of two formulations of buparvaquone in cattle infected with East Coast fever (*Theileria parva* infection). *Res. Vet. Sc.*, 2006, **81**, 119-126
- Musisi F.L., Quiroga J.C., Ngulube B., Kanhai G.K. An East Coast fever immunization field trial at Kasoba, Malawi. In: T.T. Dolan (Ed.). Theileriosis in eastern, Central and southern Africa. ILRAD, 1989, p. 71-76.
- Musisi F.L., Jacobsen P., Quiroga J.C., Njuguna L.M. Isolation of *Theileria parva* (SAO Hill) and *Theileria parva* (West Kilimanjaro) their cross-immunity with *Theileria parva* (Kasoba). *Rév. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 1994, **47**(3), 297-300.
- Musoke A.J., Nantulya V.M., Buscher G., Masake R.A., Otim B. Bovine immune response to *Theileria parva*: neutralizing antibodies to sporozoites. *Immunology*, 1982, **45**, 663-668
- Musoke A.J., Nantulya V.M., Rurangirwa F.R., Buscher G. Evidence for a common protective antigenic determinant on sporozoites of several *Theileria* strains. *Immunology*, 1984, **52**, 231-238.
- Musoke A.J., Morzaria S., Nkonge C., Jones E., Nene V. A recombinant sporozoite surface antigen of *Theileria parva* induces protection in cattle. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 1992, **89**, 524-518
- Musoke A.J., Rowlands J., Nene V., Nyanjui J., Katende J., Spooner P., Mwaura S., Odongo D., Nkonge C., Mbogo S., Bishop R., Morzaria S. Subunit vaccine based on the p67 major surface protein of *Theileria parva* sporozoites reduces severity of infection derived from field tick challenge. *Vaccine*, 2005, **23**, 3084-3095.

- Mutugi J.J., Young A.S., Lampard D., Ndungu S.G., Stagg D.A., Grootenhuis J.G., Leitch B.L. Immunization of cattle against theileriosis using varying doses of *Theileria parva lawrencei* and *T. parva parva* sporozoites and oxytetracycline treatments. *Int. J. Parasitol.*, 1988, **18**, (4), 453-461.
- Mutugi J.J., Young A.S., Linyonyi A., Mining S.K., Maritim A.C., Ngumi P.N., Lesan A.C., Stagg D.A., Ndugu S.G., Leitch B.L. Problems associated with identification of protective *Theileria parva* stocks to immunization. In: Progress towards the Control of east Coast Fever (Theileriosis) in Kenya. A.S Young, L.L. Mutugi and A.C Maritim (Eds.). *Kenya Agr. Res. Inst.*, 1990a, pp. 40-48.
- Mutugi J.J., Lampard D., Young A.S., Ndugu S.G., Linyonyi A., Maritim A.C., Mining S.K., Ngumi P.N., Kariuki D.P., Williamson S.M., Awich J.R., Lesan A.C. Recent immunization trials against *Theileria parva parva* infection in Kenya. In: Progress towards the Control of east Coast Fever (Theileriosis) in Kenya. A.S Young, L.L. Mutugi and A.C Maritim (Eds.). *Kenya Agr. Res. Inst.*, 1990b, pp.72-79.
- Mwangi, E.N., Newson R.M., Kaaya G.P. Drop-off patterns for engorged adult females, nymphs and larvae of *Rhipicephalus appendiculatus*. *Insect. Sc. Appl.*, 1991, **12**, 629-633.
- Mwangi E.N., Essuman S., Kaaya G.P., Nyandat E., Munyinyi D., Kimondo M.G. Repellence of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* by the grass *Melinis minutiflora*. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, 1995, **27**, 211-216.
- Nambota A. M., Lovelace C. E. A., Chitambo H., Kakuda T., Sugimoto C., Onuma M., Characterisation of some *Theileria parva* stocks from Zambia using monoclonal antibodies. *J. Vet. Med. Sci.*, 1997, **59**, 1-4.
- Ndungu S. G., Ngumi P. N., Mbogo S. K., Dolan T. T., Mutugi J. J., Young A.S. Some preliminary observations on the susceptibility and resistance of different cattle breeds to *Theileria parva* infection. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 2005, **72**: 7-11.
- Nene V., Iams K.P., Gobright E., Musoke A.J. Characterisation of the gene encoding a candidate vaccine antigen of *Theileria parva* sporozoites. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 1992, **51**, 17-28.
- Newsome W.H, Shields J.B. Residues of rotenone and rotenolone on lettuce and tomato fruit after treatment with rotenone formulations. *J Agr. Food Chem.*, 1980, **772**, 76-81.
- Norval R.A.I., Perry B.D., Young A.S. The Epidemiology of Theileriosis in Africa. Academic Press, London, 1992. 481 Pages.
- Norval R.A.I., Sonenshine D.E., Allan S.A., Burridge M.J. Efficacy of pheromone-acaricide-

- impregnated tail-tag decoys for controlling the bont tick, *Amblyomma hebraeum* (Acari: Ixodidae), on cattle in Zimbabwe. *Exp. Appl. Acarol.*, 1996, **20**, 31-46.
- Norval R.A.I., Sutherst R.W., Gibson J.D., Kerr J.D., Thorne L.M., Ellenhauge A. The effects of the brown ear-tick, *Rhipicephalus appendiculatus*, on milk production in dairy cattle. *Med. Vet. Entomol.*, 1997, **11**, 155-158.
- Nshimiyanana J., Mutandwa E. Seasonal dynamics and distribution of ticks in Rwanda: implications for tick control strategy in Rwanda. *Int. J. Anim. Vet. Adv.*, 2010, **2**, 21-25.
- O'Brien R.D. Insecticides action and metabolism, Rotenoids. Academic Press, New York. 1967, p. 159 (Chapter 9).
- O'Brien R.D., Yamamoto I. Biochemical Toxicology of Insecticides. Academic Press, New York, 1970.
- OCHA. Mission d'évaluation des besoins humanitaires dans la Province du Nord-Kivu. Rapport 2005, 30 Pages.
- Ochanda H., Young A.S., Wells C., Medley G.F., Perry B.D. Comparison of the transmission of *Theileria parva* between different instars of *Rhipicephalus appendiculatus*. *Parasitology*, 1996, **113**, 243-253.
- Ochanda H., Young A.S., Medley G.F., Perry B.D. Vector competence of 7 rhipicephalid tick stocks in transmitting 2 *Theileria parva* parasite stocks from Kenya and Zimbabwe. *Parasitology*, 1998, **116**, 539-545.
- Odonga D.O., Oura C.A., Spooner P.R., Kiaro H., Mbura D., Hanotte O.H., Bishop R.P. Linkage disequilibrium between alleles at highly polymorphic mini- and micro-satellite loci of *Theileria parva* isolated from cattle in three regions of Kenya. *Int. J. Parasitol.*, 2006, **36**, 937-946.
- Odongo D.O., Ueti M.W., Mwaura S.N., Knowles D.P., Bishop R.P., Scoles G.A. Quantification of *Theileria parva* in *Rhipicephalus appendiculatus* (Acari: Ixodidae) confirms differences in infection between selected tick strains. *J. Med. Entomol.*, 2009, **46**, 888-894.
- Ohaga S.O., Kokwaro E. D., Ndiege I. O., Hassanali A., Saini R.K. Livestock farmers' perception and epidemiology of bovine trypanosomosis in Kwale District, Kenya. *Prev. Vet. Med.*, 2007, **80**, 24 – 33.
- Ogden N.H., Gwakisa P., Swai E., French N.P., Fitzpatrick J., Kambarage D., Bryant M. Evaluation of PCR to detect *Theileria parva* in field-collected tick and bovine sample in Tanzania. *Vet. Parasitol.*, 2003, **112**, 177-183.

- Ogendo J.O., Deng A.L., Belmain S.R., Walker D.J., Musandu A.A.O. 2004. Effect of insecticidal plant materials, *Lantana camara* L. and *Tephrosia vogelii* Hook, on the quality parameters of stored maize grains. *J. Food Technol. Afr.*, 2004, **9**(1), 29-36.
- Okello-Onen J., Tukahirwa E.M., Ssenyonga G.S.Z., Perry B.D., Katende J.M., Musisi G., Mwayi M.T. Epidemiology of *Theileria parva* under ranch conditions in Uganda. In : Proceedings of the 7th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics. Rowlands G.J., Kyule M.N., Perry B.D. (Eds.), Nairobi, 15-19 August, *Kenya Vet.*, 1994, **18**(2), 362-365 (special issue).
- Okello-Onen J., Mukhebi A.W., Tukahirwa E.M., Mwayi M.T., Bode E., Heinonen R., Perry B.D. Financial analysis of dipping strategies for indigenous cattle under ranch conditions in Uganda. *Prev. vet. Med.*, 1998, **33**, 241-250.
- Okello-Onen J., Tukahirwa E.M., Perry B.D., Rowland G.J., Nagda S.N., Musisi G., Bode E., Mwayi M.T., Opuda-Asibo J. The impact of tick control on the productivity of indigenous cattle under ranch conditions in Uganda. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, 2003, **35**, 237-247.
- Okuthe O S., Buyu G E. Prevalence and incidence of tick-borne diseases in smallholder farming systems in the western-Kenya highlands. *Vet. Parasitol.*, 2006, **141**, 307-312.
- Ole-Moi Yoi O.K. *Theileria parva* : An intracellular protozoan parasite that induce reversible lymphocyte transformation. *Exp. Parasitol.*, 1989, **69**, 204-210.
- Olivier D.K., Shikanga E.A., Combrink S., Krause R.W.M., Regnier T., Dlamini T.P. Phenylethanoid glycosides from *Lippia javanica*. *Sth Afr. J. Bot.*, 2010, **76** (1), 58-63.
- Olwoch J.M., Rautenbach C.J.W, Erasmus B.F.N, Engelbrecht B.F.A, Jaarsveld A.S. Simulating tick distributions over sub-Saharan Africa: the use of observed and simulates climate surfaces. *J. Biogeogr.*, 2003, **30**, 1221-1232.
- Olwoch J.M., Reyers B., Engelbrecht F.A., Erasmus B.F.N. Climate change and the tick-borne disease, Theileriosis (East Coast fever) in sub-saharan Africa. *J. Arid. Env.*, 2008, **72**(2), 108-120.
- Oura C.A.L., Bishop R., Wampande E.M., Lubega G.W., Tait A. The persistence of component *Theileria parva* stocks in cattle immunized with the “Muguga cocktail” live vaccine against East Coast fever in Uganda. *Parasitology*, 2004, **129**, 27-42.
- Oura C.A.L., Asimwe B.B., Weir W., Lubega G.W., Tait A. Population genetic analysis and sub-structuring of *Theileria parva* in Uganda. *Molec. Biochem. Parasitol.*, 2005, **140**, 229-239.
- Oura C.A.L., Bishop R., Asimwe B.B., Spooner P., Lubega G.W., Tait A. *Theileria parva*

- live vaccination: parasite transmission, persistence and heterologous challenge in the field. *Parasitology*, 2007, **134**, 1205-1213.
- Paling R.W., Mpangala C., Littikhuizen B., Sibomana G. Exposure of Ankole and crossbred cattle to Theileriosis in Rwanda. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, 1991, **23**, 203-214.
- Pearson R.G., Dawson T.P. Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: are bioclimate envelope models useful? *Global Ecol. Biogeogr.*, 2003, **12**, 361-371.
- Pegram R.G., Lemche J. Observations of the efficacy of ivermectin in the control of cattle ticks in Zambia. *Vet. Record.*, 1985, **117**, 551-554.
- Pegram R.G., James A.D., Bamhare C., Dolan T.T., Hove T., Khanai G.K., Latif A.A. Effects of immunisation against *Theileria parva* on beef cattle productivity and economics of control options. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, 1996, **28**, 99-111.
- Perry B.D., Musisi F.L.R., Pegram R.G., Schels H.F. Assessment of enzootic stability to tick-borne diseases. *World Animal review*, October-December 1985, 24-31.
- Perry B.D., Deem S.L., Medly G.F., Morzaria S.P., Young A.S. The ecology of *Theileria parva* infections of cattle and the development of endemic stability. *In: Munderloh UG, Kurtti T.J., (Eds), Proceedings of the first International Conference on Tick-borne pathogens at the Host-vector interface: an agenda for research*, 1992, 1-7.
- Perry B D, Young A S. The naming game: the changing fortunes of East Coast fever and *Theileria parva*. *Vet. Rec.*, 1993, **133**, 613-616.
- Perry B.D., Young A.S. The past and future roles of epidemiology and economics in the control of tick-borne diseases of livestock in Africa: the case of theileriosis, *Prev. Vet. Med.*, 1995, **25**, 107-120.
- Perry B.D. Epidemiology indicators and their application to the control of tick-borne diseases. *In: Tatchell R.J. (Ed.), Tick and Tick-Borne Disease Control*. Food and Agriculture Organisation of the United Nations: Rome, Italy, 1996 (in press).
- Perry B.D., Randolph T.F. Improving the assessment of the economic impact of parasitic diseases and of their control in production animale. *Vet. Parasitol.*, 1999, **84**, 145-168.
- Phiri B.J., Benschop J., French N.P. Systematic review of causes and factors associated with morbidity and mortality on smallholder dairy farms in Eastern and Southern Africa. *Prev. Vet. Med.*, 2010, **94**, 1-8.
- PNUD. Note sur la Conjoncture Politique et Socio-économique de la Province du Nord-Kivu Bureau de terrain de Goma, République Démocratique du Congo. Rapport 2010.
- Radley D.E., Brown C.G.D., Burridge M.J., Cunningham M.P., Karimi I.M., Purnell R.E.,

- Young A.S. East Coast fever: Chemoprophylactic immunisation of cattle against *Theileria parva* (Muguga) and five theilerial strains. *Vet. Parasitol.*, 1975, **1**, 35-42.
- Radley D.E., Young A.S., Grootenhuis J.G., Cunningham M.P., Dolan T.T., Morzaria S.P. Further studies on the immunization of cattle against *Theileria lawrencei* by infection and chemoprophylaxis. *Vet. Parasitol.*, 1979, **5**, 117-128.
- Randolph S.E. Climate, satellite imagery and the seasonal abundance of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* in southern African: a new perspective. *Med. Vet. Entomol.*, 2008, **7** (3), 243-258
- Ratnam S. *Tephrosia vogelii*. In : Bulletin d'information de CIEPA. Cotonou, Benin, 2001, **7**, 3-4.
- Rechav Y. Dynamics of tick populations (Acari: Ixodidae) in eastern cape Province of South Africa. *J. Med. Entomol.*, 1982, **16**, 679-700.
- Rodríguez M., Rubiera R., Montesinos R., Cremata J.A., Falcón V., Sanchez G., Bringas R., Cordovés C., Valdés M., Leonart R., Herrera L., De La Fuente J. High level expression of the B. microplus Bm86 antigen in the yeast *P. pastoris* forming highly immunogenic particles for cattle. *J. Biotechnol.*, 1994, **33**, 135-146
- Rubaire-Akiiki C., Okello-Onen J., Nasinyama G.W., Vaarst M., Kabagambe E.K., Mwayi W., Musunga D., Wandukwa W. The prevalence of serum antibodies to tick-borne infections in Mbale district, Uganda: the effect of agro-ecological zone, grazing management and age of cattle. *J. Insect. Sc.*, 2004, **4**, 8-16.
- Rubaire-Akiiki C., Okello-Onen J., Musunga D., Kabagambe E.K., Vaarst M., Okello D., Opolot C., Bisagaya A., Okori C., Bisagati C., Ongyera S. Mwayi M.T. Effect of agro-ecological zone and grazing system on incidence of East Coast Fever in Calves in Mbale and Sironko Districts of Eastern Uganda. *Prev. Vet. Med.*, 2006, **75**, 251-266.
- Saegerman C., Speybroeck N., Roels S., Vanopdenbosch E., Thiry E., Berkvens D. Amélioration de la détection d'une maladie émergente : exemple de l'encéphalopathie spongiforme bovine. *Epidémiol. et santé anim.*, 2003, **44**, 61-77
- Sae-Yun A., Ovatlarnporn C., Itharat A., Wiwattanapatapee R. Extraction of rotenone from *Derris elliptica* and *Derris malaccensis* by pressurized liquid extraction compared with maceration. *J. Chromatogr.*, 2006, doi:10.1016/j.chroma.2006.05.075.
- Schoenaers F. Essais sur la répartition de la theilériose bovine et des tiques vectrices, au Rwanda-Urundi, en fonction de l'altitude. *Ann. Soc. Belg. Méd. Trop.*, 1951, **31**, 371-375
- Schwetz J. Sur l'épizootie de Theileriose mortelle (East Coast Fever) à Stanleyville (Congo

- Belge). *Bull. Agric. Congo Belge*, 1935, 26, 88-125.
- Shaw M.K., Tilney L.G. How individual cells develop from a syncytium: merogony in *Theileria parva* (Apicomplexa). *J. Cell Sc.*, 1992, **101**, 109-123.
- Shaw M.K., Tilney L.G., Musoke A.J., Teale A.J. MHC class I molecules are an essential cell surface component involved in *Theileria parva* sporozoite binding to bovine lymphocytes. *J. Cell Sc.*, 1995, **108**, 1587-1596.
- Shaw M.K. Cell invasion by *Theileria* sporozoites. *Trends Parasitol.*, 2003, **19**, 2-6.
- Short N.J., Norval R.A.I. Regulation of seasonal occurrence in the tick *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann, 1901. *Trop Anim. Hlth. Prod.*, 1981a, **13**, 19-26.
- Short, N.J., Norval R.A.I. The seasonal activity of *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann, 1901 (Acari: Ixodidae) in the highveld of Zimbabwe. *J. Parasitol.*, 1981b, **67**, 77-84.
- Soheranda K., Ndungo V. Quel sort pour l'élevage et la santé animale. *Parcours et initiatives*, 2002, **1**, 62-74.
- Soheranda K., Mulumemuvi K., Kasonia K., Ansay M. Médecine naturelle (Banque de données) en région des grands lacs Africains: Aperçu général sur les plantes médicinales en pharmacopées traditionnelles vétérinaire et humaine. *Parcours et initiatives*, 2004, **2** spécial, 130-135.
- Soll M.D., Carmichael I.H., Swan G.E., Gross S.J. Control of induced infestations of three African multihost tick species with sustained sustained-release ivermectin. *Exp. Appl. Acar.* 1989, **7**, 121-130
- Soll M.D., Benz G.W., Carmichael I.H., Gross S.J. Efficacy of ivermectin from an intraruminal sustained-release bolus against natural infestations of five African tick species on cattle. *Vet. Parasitol.*, 1990, **37**, 285-296.
- Sonenshine D.E. The Biology of Ticks. Volume II. Oxford University press: New York, 1993, 488 Pages.
- Sonenshine D.E., Lane R.S., Nicholson W.L. *Ticks (Ixodida)*. In: Medical and Veterinary Entomology. Mullen G., Durden L. (Eds), Academic Press, Elsevier Science, 2002, 517-558.
- Speybroeck N., Madder M., Van Den Bossche P., Mtambo J., Berkvens N., Chaka G., Mulumba M., Brandt J., Tirry L., Berkvens D. Distribution and phenology of ixodid ticks in southern Zambia. *Med. Vet. Entomol.*, 2002, **16**, 430-441.
- Speybroeck, N. The ecology of *Rhipicephalus appendiculatus* complex (Acari: Ixodidae). PhD thesis, Ghent University, Belgium, 2003.
- Ssenyonga G.S.Z., Kakoma I., James S.M., Hansen R. Anaplasmosis in Uganda. I. Use of

- dried blood on filter papers and serum samples for serodiagnosis of anaplasmosis – A comparative study, *Trop. An. Hlth. Prod.*, 1992, **24**(1), 2-8.
- Stagg D.A., Young A.S., Leitch B.L., Grootenhuis J.G., Dolan T.T. Infection of mammalian cells with *Theileria* species. *Parasitology.*, 1983, **86**, 243-254.
- Stagg D.A., Bishop R.P., Morzaria S.P., Shaw M.K., Wesonga D., Orinda G.O., Grootenhuis J.G., Molyneux D.H., Young A.S. Characterization of *Theileria parva* which infects waterbuck (*Kobus defassa*). *Parasitology.*, 1994, **108**, 543-554.
- Stevenson P.C., Dyarathna T.K., Belmain S.R., Veitch N.C. Bisdesmosidic saponins from *Securidaca longepedunculata* (Polygalaceae) with deterrent and toxic properties to Coleopteran storage pests. *J. Agr. Food Chem.*, 2009a, **57**, 8860-8867.
- Stevenson P.C. Muyinza H., Hall D.R., Porter E.A., Farman D.I., Talwana H., Mwangi R.O.M. Chemical basis for resistance in sweetpotato *Ipomea batatas* to the sweetpotato weevil *Cylas puncticollis*. *Pure Appl. Chem.*, 2009b, **81**, 141-151
- Swai E S, Mbise A N, Kessy V, Kaaya E, Sanka P., Loomu P M. Farm constraints, cattle disease perception and tick management practices in pastoral Masai community-Ngorongoro, Tanzania. *Livestock Research for Rural Development*. 2005, Vol. **17**, Art. #17. Retrieved January 30, 2009, from <http://www.lrrd.org/lrrd17/2/swai17017.htm>
- Swai E.S., Karimuribo E.D., Rugaimukamu E.A., Kambarage D.M. Factors influencing the distribution of questing ticks and the prevalence estimation of *Theileria parva* infection in brown ticks in Tanga region, Tanzania. *J. Vector Ecol.*, 2006, **31**, 224-228.
- Swai E. S., Karimuribo E. D., Kambarage D. M., Moshy W. E., Mbise A. N. A comparison of seroprevalence and risk factors for *Theileria parva* and *Theileria mutans* in smallholder dairy cattle in the Tanga and Iringa regions of Tanzania. *Vet. J.*, 2007, **174**, 390 – 396.
- Swai E.S., Karimuribo E. D., Kambarage D. M., Moshy W. E. A longitudinal study on morbidity and mortality in youngstock smallholder dairy cattle with special reference to tick borne infections in Tanga region, Tanzania. *Vet. Parasitol.*, 2009, **160**, 34-42.
- Tawite M., Kanyamanda M., Tozi L., Katungo S. Mémoire de l'association culturelle Nande / Kyaghandu sur les événements du Nord-Kivu adressé au secrétariat Général des Nations Unies. *Graben*, 1993, **4**, 29 Pages.
- Taylor M.A., Coop R.L., Wall R.L. *Veterinary Parasitology*. 3th Ed. 2008, 874 pages.
- Theiler G. East Coast fever. *Transv. Agric. J.*, 1904, **3**, 421-438.
- Thrusfield M.V. *Veterinary Epidemiology*. 3th edition, Blackwell Science Ltd, Cambridge,

- 1997, 626 Pages
- Todorovic R.A., Vizcaino O.G., Gonzalez E.F., Adams L.G. Chemoprophylaxis (Imidocarb) against *Babesia bigemina* and *Babesia argentina* infections. *Am. J. Vet. Res.*, 1973, **39**, 1153-1161.
- Toma B., Dufour B., Sanaa M., Bénét J.J., Ellis P., Mouton F., Louzâ A. Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures, Ed. Association pour l'étude de l'épidémiologie des maladies animales, Maison-Alfort, France, 2001, 551 pages.
- Tomlin C.D.S. (Ed.). Pesticide Manual, a world compendium. 12th Ed., British Crop Protection Council, 2000. 828 pages.
- Toye P.G., Goddeeris B.M., Iams K., Musoke A.J. Morrison W.I. Characterization of a polymorphic immunodominant molecule in sporozoites and schizonts of *Theileria parva*. *Parasite Immun.* 1991, 13, 49-62.
- Troupin G. Flore des plantes ligneuses du Rwanda. Publication n°21. Institut National de Recherche scientifique, Butare, Rwanda, 1982, 747 pages.
- Uddin A., Khanna P. Rotenoids in tissue cultures of *Crotalaria burhia*. *Planta Med.*, 1979, **36**, 181-183.
- Uilenberg G., Jongejan F., Perié N.M., Franssen F.F.J. Chimiothérapie des theilérioses bovines par un anticoccidien, l'halofuginone. Note préliminaire. *Rev. Elev. Méd. Vet. Pays Trop.*, 1980, **33**, (1), 33-41.
- Uilenberg G. Heartwater (*Cowdria ruminantium* infection): current status. *Adv. Vet. Sc. Comp. Med.*, 1983, **27**, 427-480.
- Uilenberg G. Integrated control of tropical animal parasitoses. *Trop. Anim. Hlth. Prod.*, 1996, **28**, 257-265.
- Uilenberg G. Immunization against diseases caused by *Theileria parva*: a review. *Trop. Med. Int. Hlth.*, 1999, **4**, (9), A12-A20.
- Van Puyvelde L., Ngaboyisonga M., Rwangabo P.C., Mukarugambwa S.P., Kayonga A. Enquêtes ethnobotaniques sur la médecine traditionnelle rwandaise. Tome 1 : Préfecture de Kibuye. *Univ. Nat. Inst. Nat. Rech. Sc.*, Butare (Rwanda), 1977, 147 pages.
- Van Saceghem, R. Propagation de *Theileria parva* par les tiques. *Bull. Agric. Congo Belge*, 1925, **16**, 582-591.
- Van Soom A., Imberechts H., Delahaut Ph., Thiry E., Van Roy V., Walravens K., Roels S.,

- Saegerman C. Sanitary control in bovine embryo transfer: how far should we go? *Veterinary Quarterly*, 2007, 29(1), 2-17.
- Van Wyk B.E. A broad review of commercially important southern African medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, 2008, **119**, 342-355.
- Vasileva B. Plantes Médicinales de Guinée Conakry, République de Guinée. Moscow University USSR, 1969, 23 Pages.
- Walker A.R., Sillans R. Plants used in Gabon. *Encyclopédie Biologique*. Paul Lechevalier (Ed.) vol 1: Paris, 1961.
- Walker J.B., Norval R.A.I., M.D. Corwin M.D. *Rhipicephalus zambeziensis* sp. nov., a new tick from eastern and southern Africa, together with a redescription of *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann, 1901 (Acarina, Ixodidae). *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1981, **48**, 87-104.
- Walker A.R., Bouatour A., Camicas J.L., Estrada-Peña A., Horak I.G., Latif A.A., Pergram R.G., Preston P.M. Ticks of Domestic Animals in Africa: a Guide to identification of species, Ed. Bioscience Reports, Scotland, 2003, 222 pages.
- Walker A.R. Theileriosis and the tick control conundrum: a better way forward? *Vet. J.*, 2007, **173**, 248-249.
- Wall R., Shearer D. *Veterinary Ectoparasites: Biology, Pathology and Control*. Blackwell science (Ed.), John Street, London, 2001, 262 Pages
- Watt D.M., Sparagano O., Brown C.G., Walker A.R. Use of the polymerase chain reaction for identification and quantification of *Theileria parva* protozoa in *Rhipicephalus appendiculatus* ticks. *Parasitol. Res.*, 1997, **83**, 359-363.
- Watt D.M., Walker A.R. Pathological effects and reduced survival in *Rhipicephalus appendiculatus* ticks infected with *Theileria parva* protozoa. *Parasitology Res.*, 2000, **86**, 207-214.
- Wichtl M., Anton R. (Eds). *Plantes thérapeutiques- tradition, pratique, science et thérapeutique* (2ème Ed.), Ed. TEC et DOC et EMI, 2003, 692 Pages.
- Willadsen P. Tick control: thoughts on a research agenda. *Vet. Parasitol.*, 2006, **138**, 161-168.
- Yeoman G.H., Walker J.B. *The Ixodid ticks of Tanzania*. Commonwealth Institute of Entomology, London, 1967, 215 pages.
- Yilma J., Adamu G., Zerbini E. Bioassay of acaricide resistance on three common cattle tick species at Holotta Central Ethiopia. *Rev. Méd. Vét.*, 2001, **152**, 385-390.
- Young A.S. The epidemiology of theileriosis in East Africa. In: *Advances in the Control of*

- Theileriosis. Proceedings of an International Conference held at ILRAD, Nairobi, 9-13 February 1981, Irvin A. D., Cunningham M. P. and Young A. S. (Eds), Martinus Nijhoff Publishers, *The Hague*, 1981, pp. 38-55.
- Young A.S., Leitch B.L., Newson R.M. The occurrence of a *Theileria parva* carrier state in cattle from an East Coast fever endemic area of Kenya. *In*: Irvin A.D., Cunningham M.P., Young A.S. (Eds.). *Advances in the Control of Theileriosis*. Martinus Nijhoff Publishers, *The Hague*, 1981, 60-62.
- Young A.S., De Castro J.J., Kiza-Auru P.P. Control of tick (Acari: Ixodidae) infestation by application of ear tags impregnated with acaricides to cattle in Africa. *Bill. Entomol. Res.*, 1985, **75**, 609-619.
- Young A.S., Leitch B.L., Newson R.M., Cunningham M.P. Maintenance of *Theileria parva* infection in an endemic area of Kenya. *Parasitology*, 1986, **93**, 9-16.
- Young A.S., Grocock C.M., Kariuki D.P. Integrated control of ticks and tick-borne diseases of cattle in Africa. *Parasitology*, 1988, **96**, 403-432.
- Young A.S., Kariuki D.P., Mutugi J.J., Haeth D.L., Long R.C. Economic losses in cattle due to tick control and effects of tick-borne diseases on selected farms in Nakuru District. *Kenya Prev. Vet. Medic.*, 1990 (In Press).
- Yong A.S., Dolan T.T. Morzaria S.P., Mwakima F.N., Norval R.A.I. Scott J., Sherriff A. Gettinby G. Factors influencing infections in *Rhipicephalus appendiculatus* ticks fed on cattle infected with *Theileria parva*. *Parasitology*, 1996, **113**, 255-266.
- Yusufmia S.B.A.S, Collins N.E, Nkuna R., Troskie M., Van den Bossche P., Penzhorn B.L. Occurrence of *Theileria parva* and other haemoprotozoa in cattle at the edge of the Hluhluwe-iMfolozi Park, KwaZulu-Natal, South Africa. *J. Sth. Afr. Vet. Ass.*, 2010, **81**, (1), 45-49.
- Zweygarth E., Josemans A.I., Van Strijp F.M., Lopez-Rebollar L., Van Kleef M., Allsopp B.A. An attenuated Ehrlichia ruminantium (Welgevonden stock) vaccine protects small ruminants against virulent heartwater challenge. *Vaccine*, 2005, **23**, 1695-702.

► ANAPLASMOSE :

Médicaments	Utilisation	Disponibilité sur le marché		Efficacité habituelle	
Amicarbalide (Diampron®, Pirodia®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Buparvaquone (Butalex®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Cyclohexyloctylnaphtoquinone (Ménoctone®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Diminazène(Bérénil®,Ganasag®,Trypasen®,Veriben®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Halofuginone (Sténorol®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Imidocarbe (Carbesia ® ; Imizol®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Tétracyclines : oxytétracycline, chlortétracycline	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Trypaflavineet Acriflavine (Gonacrine®, Pirocrine®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Parvaquone (Clexon®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Pentamidine (Lomidine®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Phénamidine(Oxopirvédine®,Lomadine®,Pirolyse®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Quinuronium (Acaprine®, Zothélon®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Autre à préciser :	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante

► BABESIOSE:

Médicaments	Utilisation	Disponibilité sur le marché		Efficacité habituelle	
Amicarbalide (Diampron®, Pirodia®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Buparvaquone (Butalex®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Cyclohexyloctylnaphtoquinone (Ménoctone®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Diminazène(Bérénil®,Ganasag®,Trypasen®,Veriben®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Halofuginone (Sténorol®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Imidocarbe (Carbesia ® ; Imizol®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Tétracyclines : oxytétracycline, chlortétracycline	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Trypaflavine et Acriflavine (Gonacrine®, Pirocrine®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Parvaquone (Clexon®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Pentamidine (Lomidine®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Phénamidine (Oxopirvédine®, Lomadine®, Pirolyse®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Quinuronium (Acaprine®, Zothélon®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Autre à préciser :	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante

► THEILERIOSE:

Médicaments	Utilisation	Disponibilité sur le marché		Efficacité habituelle	
Amicarbalide (Diampron®, Pirodia®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Buparvaquone (Butalex®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Cyclohexyloctylnaphtoquinone (Ménoctone®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Diminazène(Bérénil®,Ganasag®,Trypasen®,Veriben®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Halofuginone (Sténorol®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Imidocarbe (Carbesia ® ; Imizol®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Tétracyclines : oxytétracycline, chlortétracycline	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Trypaflavine et Acriflavine (Gonacrine®, Pirocrine®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Parvaquone (Clexon®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Pentamidine (Lomidine®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Phénamidine (Oxopirvédine®, Lomadine®, Pirolyse®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Quinuronium (Acaprine®, Zothélon®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Autre à préciser :	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante

- Quel(s) produit(s) acaricide(s) utilisez-vous contre les tiques ? Qu'en est-il de la disponibilité sur le marché au Nord-Kivu et de l'efficacité ?

Acaricides	Utilisation	Disponibilité sur le marché		Efficacité habituelle	
Amitraz (Taktic®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Avermectine / Ivermectine	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Carbaryl (Baygon®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Coumaphos (Asuntol®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Deltaméthrine (Butox®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Diazinon (Dimpygal®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Fenvalenate (Arkofly®, Acadrex®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Fluméthrine 1% (Bayticol®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Hexachlorohexane (Lindane®)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Propétamphos (Blotic®),	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
Autre à préciser :	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> suffisante	<input type="checkbox"/> insuffisante	<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante

- Utilisez-vous les plantes médicinales contre les tiques? Oui Non.
- Si Oui, citez deux plantes médicinales. Qu'en est-il de l'efficacité ? (cochez ce qui convient).

Nom vernaculaire	Nom scientifique (espèce)	Efficacité habituelle	
		<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante
		<input type="checkbox"/> satisfaisante	<input type="checkbox"/> non satisfaisante

5. SOURCES D'INFORMATION

- Quelles sont les source(s) d'information que vous utilisez pour vous documentez sur l'anaplasmose, la babésiose et la theileriose bovines?

- | | |
|-------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| 1. Représentants de firmes pharmaceutiques <input type="checkbox"/> | 6 Journaux et périodiques agricoles <input type="checkbox"/> |
| 2. Information dispensée par une Faculté vétérinaire <input type="checkbox"/> | 7 Formation continue (séminaires, études) <input type="checkbox"/> |
| 3. Information dispensée par une école vétérinaire <input type="checkbox"/> | 8 Rencontres avec d'autres vétérinaires <input type="checkbox"/> |
| 4. Journaux scientifiques sous format papier <input type="checkbox"/> | 9 Autre source (préciser) |
| 5. Consultation Internet <input type="checkbox"/> | 10 Autre source (préciser) |

- Parmi ces sources d'information, indiquez le numéro de la source qui vous semble la plus importante?

6. VOTRE AVIS

- D'après votre expérience de terrain, quelle est l'évolution de la maladie (cochez la case qui convient) :

ANAPLASMOSE : en diminution en stabilité en extension

BABESIOSE : en diminution en stabilité en extension

THEILERIOSE : en diminution en stabilité en extension

Nom et signature du vétérinaire :