

## Identification de *Trypanosoma spp* chez la chèvre dans la province du Bas-Congo

Tshilenge M.G.<sup>1,2,3\*</sup>, Balowa K. L.<sup>1</sup>, Tshinguta L.C.<sup>1</sup>, Kazadi K.E.<sup>2</sup>, Bha Nsekene G.<sup>2</sup>, Ndadi N.V.<sup>2</sup>, Mukalakata N.T.<sup>2</sup>, Mpiana T.S.<sup>1</sup>, Madimba K.C.Y.<sup>2</sup>

### Abstract

Received  
March 7, 2015

Revised  
July 30, 2015

Published online:  
September 27, 2015

### Keywords:

*Trypanosoma*; Goat,  
buffy coat, PCR, Bas  
Congo, DRC

**Identification of *Trypanosoma spp* among goat in province of Bas Congo in Democratic Republic of Congo**

African Animal Trypanosomosis (AAT) constitutes a major constraint to livestock production in Africa. The disease is enzootic in an area covering 10 million Km<sup>2</sup> in Sub Sahara Africa and induces indirect and direct losses (low production, mortality, cost of treatment) which are estimated to range between USD 600 and 1200 million per year.

In Democratic Republic of Congo, a study was conducted in 1989 in province of Bas Congo which is endemic for African Human Trypanosomosis (AHT), to evaluate the infection of trypanosomosis in animals. Since then, data have not been actualized for AAT. The objective of this study is to actualize data for AAT by identification of different species of *Trypanosoma* circulating among goat population in Bas Congo.

The Polymerase Chain Reaction (PCR) is used for the characterization of species and sub species of *trypanosoma*. The objective of in this survey consists to identify the species of the *trypanosoma* among the goat bred in Bas Congo. The parasitological tests and PCR technic were used for diagnosis of collected blood samples. The buffy coat test revealed 18.4% (23/125) of positive cases as compared to 22.4% (28 /125) of positive cases by PCR (Nested-PCR and ITS-PCR). The results obtained showed that the prevalence of African Animal Trypanosomosis (AAT) of goat is 12.8% (16/125) for *T. congolense*, 5.6% (7/125) for *T. vivax* and 4%(5/125) for *T. brucei brucei*. The average hematocrite rate among animals detected positive by PCR was 21.2±4 % which is significantly lower to none infected animals (p <0.1)., Further studies need to be done to determine the implication of goat as reservoir of *T.b gambiense*, pathogenic for human.

<sup>1</sup>Laboratoire Vétérinaire Central, B.P. 8842 KISNAHSA I, Gombe, Kinshasa, République Démocratique du Congo

<sup>2</sup> Université de Kinshasa, Faculté de Médecine Vétérinaire, B.P. 814, KINSHASA XI, Kinshasa, République Démocratique du Congo

<sup>3</sup> Southern African Centre for Infectious Disease Surveillance, B.P. BOX 3297, Chuo Kikuu, Morogoro, Tanzania

\* To whom correspondence should be addressed: [cugeost@yahoo.fr](mailto:cugeost@yahoo.fr); [george.tshilenge@sacids.org](mailto:george.tshilenge@sacids.org)

### INTRODUCTION

La trypanosomiase Africaine est une affection parasitaire d'importance médicale et vétérinaire causée par un protozoaire flagellé du genre *Trypanosoma* [STIJLEMENS *et al.*, 2010]. C'est une pathologie généralement fatale en l'absence de traitement. Chez les animaux, la trypanosomiase

représente la maladie du bétail la plus importante du point de vue économique et demeure une contrainte majeure pour l'élevage des ruminants dans la plupart de régions d'Afrique [ROCQUE & CUISANCE, 2005 ; FERNANDEZ & WHITE, 2010].

La trypanosomiase animale est suspectée lorsqu'un animal, dans une zone endémique, présente la fièvre, l'

anémie, l'amaigrissement et l'ictère. Cependant, la présence des parasites devra être confirmée par leur mise en évidence dans le sang ou le liquide lymphatique [KOBAYASHI *et al.*, 1976]. Les techniques conventionnelles d'examen microscopique pour la mise en évidence de trypanosomes sont encore utilisées, mais certaines techniques plus sensibles, basées sur les méthodes moléculaires sont actuellement d'usage. La réaction de polymérase en chaîne (PCR) permet de révéler la présence de l'ADN des trypanosomes chez l'hôte ou le vecteur. Elle présente l'avantage d'indiquer une infection active car, après la mort de trypanosomes, la persistance de l'ADN libre dans la circulation du sang de l'hôte ne dépasse pas 1 à 2 jours [CHARTIER *et al.*, 2003]. Plusieurs tests, basés sur les sondes spécifiques et sur l'internal transcribed spacer 1 rDNA (ITS1), ont été développés pour la détection simultanée des infections dues au *T. vivax*, *T. brucei brucei* et *T. congolense* chez les ruminants domestiques [DESQUESNES *et al.*, 2001].

Dans la province du Bas Congo, endémique pour la Trypanosomiase Humaine Africaine (THA), des études antérieures ont permis de déterminer la prévalence des infections dues aux trypanosomes *spp* chez les animaux domestiques dans un foyer forestier (Boma) et dans un foyer de savane (Kimpese) [MAKUMYANVIRI *et al.*, 1989]. Depuis lors, les données relatives à la situation de la TAA dans cette province n'ont pas été actualisées. Dans ce travail, il sera question d'identifier les espèces des trypanosomes chez la chèvre élevée dans la province du Bas Congo.

## MATERIEL ET METHODES

### Aire d'études et échantillonnage

La Province du Bas-Congo s'étend entre 4° et 6° de latitude Sud et 12° et 16° de longitude Est. Elle est bordée au Nord par la République du Congo, au Sud par l'Angola, à l'Est par la ville province de Kinshasa et la région de Bandundu et enfin à l'Ouest par l'Océan Atlantique et l'enclave Angolaise de Kabinda. [DSRP, 2013].

L'étude a été menée auprès des éleveurs de caprins situés dans les villages de Kimpaka, Kimpungi, Sanda, Kisielele et Kasangulu. Dans chaque village, 25 animaux ont été retenus pour l'étude, à raison d'un prélèvement par sujet sélectionné de manière aléatoire dans chaque élevage. Des données supplémentaires sur le sexe, l'âge des animaux, la date et le lieu de prélèvement ont été enregistrées. L'âge des animaux a été déterminé de manière approximative sur base des connaissances des éleveurs. A partir de la veine jugulaire, le sang a été prélevé dans un tube contenant l'EDTA et sur papier filtre *Whatman* numéro 4. Ensuite, il a été placé dans un micro tube à hématocrite pour la détermination de

l'hématocrite. Les prélèvements sur papiers filtres ont été séchés à l'air libre en prenant soin d'éviter toute contamination, puis placés dans une enveloppe contenant le silicagel pour être conservés à 4° C dans l'attente des analyses.

### Examen Parasitologique

Après centrifugation en tube capillaire, l'interface globules blancs/plasma ou buffy coat a été récupéré pour observation microscopique directe des trypanosomes entre lame et lamelle, tel que décrit par Murray *et al.* [1977].

### Extraction de l'ADN

Un Harris micro punch a été utilisé pour couper les confettis (3mm) en suivant le protocole basé sur le Chelex tel que décrit par Geysen *et al.* [2003]. Après l'extraction, l'ADN a été conservé à -20°C.

### PCR et Nested PCR

La PCR dite « Nested PCR » fait intervenir une seconde PCR réalisée en utilisant des nouvelles amorces situées à l'intérieur du fragment nucléotidique obtenu avec le premier couple d'amorces. Le fragment à amplifier lors de la seconde PCR est plus court, ce qui réduit par conséquent les hybridations non spécifiques [VILJOEN *et al.*, 2005]. La présente étude a fait usage de 3 amorces: 18ST nF2 (CAA CGA TGA CAC CCA TGA ATT GGG GA), 18ST nR3 (GTC TCT TGT TCT CAC TGA CAT TCT AGT G) et 18ST nR3 (TGC GCG ACC AAT AAT TGC AAT AC) ciblant les genes ribosomales pour une recherche de variation intraspécifique [GEYSEN *et al.*, 2003]. La nested PCR a été effectuée en deux rounds : Le premier round a été exécuté avec un volume réactionnel de 25 µl dont 5µl de l'extrait ADN de l'échantillon, 1.6µl de MgCl<sub>2</sub> (25mM), 5µl de 5X colorless Go Taq® Flexi buffer (Promega®, USA), 0.5µl de chacun des 4 dNTP 200 µM, 0.4µl de 5 U Go Taq® DNA polymérase (Promega®, USA), 10.2µl d'eau de biologie moléculaire ; 0.4µl de chaque primer (20 pmol) 18ST nF2 et 18ST nR3 [GEYSEN *et al.*, 2003].

Les échantillons ont été amplifiés dans un thermocycler Master cycler gradient (Eppendorf ®) en suivant les étapes ci-après : dénaturation initiale à 94°C pendant 4 minutes, dénaturation à 92°C pendant 30 secondes, hybridation à 58°C pendant 45 secondes et une élongation à 72°C pendant 1 minute pour 39 cycles et une élongation finale à 72°C pendant 8 minutes.

Après le premier round, une semi nested amplification a été réalisée en utilisant les amorces 18ST nF2, et 18ST nR2 avec un volume réactionnel de 24,5µl auxquels on ajoute 0,5µl de produits PCR du premier tour [GEYSEN *et al.*, 2002]. L'ITS-PCR

développée par Desquesnes et collaborateurs [DESQUENES, 2001] permet la détection et l'identification simultanées des différentes espèces des trypanosomes du bétail, en utilisant une paire d'amorces spécifique ciblant la région 18S et 5n8S rDNA: Kin 1 (GCG TTC AAA GAT TGG GCA AT) et Kin2 (CGC CCG AAA GTT CAC C).

L'ITS-PCR a donc été réalisée dans un volume réactionnel de 25µl contenant 5µl de l'ADN de chaque échantillon, 50mM KCl, 10mM Tris-HCl (pH 8.3), 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 200µM de chaque dNTP, 20 pmol de chaque primer (Kin 1 et Kin 2) et 0.5 U de l'enzyme Taq polymérase (Goldstar, Eurogentec). 50µl d'huile minérale (Sigma) ont été ajoutés au volume réactionnel et placés dans le block de chauffage (Thermocycler, Eppendorf Inc.).

Après dénaturation pendant 4 minutes à 94°C, l'amplification a été faite pendant 40 cycles qui ont consisté à : 94°C pendant 30 secondes de dénaturation, 59°C pendant 45 secondes d'hybridation

et 1 minute d'élongation à 72°C suivi d'une élongation finale à 72°C pendant 5 minutes. Ensuite, 5µl de chaque produit PCR et 3 µl de tampon de charge (Loading Dye 6x) ont été déposés sur gel agarose 2% (Bromure Ethidium). La lecture a été faite sur une table UV.

## 2.5. Analyse Statistique

L'analyse statistique a été faite à l'aide du logiciel Epi info version 7. Le test de Chi-carré à 4 cases ( $p < 0,05$ ) a été utilisé pour comparer les différentes prévalences. Le Test de *Student* a été utilisé pour comparer les moyennes des hématocrites. En outre, nous avons procédé à la standardisation directe pour comparer les résultats entre les différents villages et différentes espèces de trypanosomes.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Le taux d'hématocrite moyen chez les animaux détectés positifs à la PCR était de 21.2±4.1 contre 25.1±4.1 chez les animaux sains.

**Tableau 1. Répartition par village des résultats de Buffy coat et PCR**

Village	Nombre éch.	Buffy coat (%)	Nested-PCR (%)	PCR-ITS (%)
Kimpika	25	5 (20 %)	8 (32 %)	8 (32 %)
Kimpungi	25	5 (20 %)	6 (24 %)	6 (24 %)
Kasangulu	25	6 (24 %)	6 (24 %)	6 (24 %)
Sanda	25	4 (16 %)	5 (20 %)	5 (20 %)
Kisiebele	25	3 (12 %)	3 (12 %)	3 (12 %)
<b>Total</b>	<b>125</b>	<b>23 (18.4 %)</b>	<b>28(22.4)</b>	<b>28 (22.4%)</b>

L'examen parasitologique des échantillons sanguins de caprins prélevés pour l'identification de trypanosomes par la technique de buffy coat a révélé 18.4% (23/125) cas positifs contre 22.4% (28 /125) cas positifs révélés par la technique de PCR moyennant la Nested-PCR et ITS-PCR (Tableau 1).

La prévalence de TAA chez le caprin est de 12.8% (16/125) pour *T. congolense*, avec des valeurs extrêmes 20% (5/25) et 4% (1/25) respectivement à Kimpika et à Sanda, 5.6% (7/125) pour *T. vivax*, dont 12% (3/25) à Sanda et 4% (1/25) à Kimpika et Kimpungi et enfin 4% (5/125) pour *T. brucei brucei*, avec 8% (2/25) à Kimpika et 4% (1/25) à Kasangulu, Kimpungi et Sanda (Tableau 2).

**Tableau 2. Prévalence par village des espèces de trypanosomes chez le caprin**

Village	Nombre d'éch.	<i>T. congolense</i>	<i>T. vivax</i>	<i>T. b. brucei</i>
Kasangulu	25	3 (12%)	2 (8%)	1 (4%)
Kimpika	25	5 (20%)	1 (4%)	2 (8%)
Kimpungi	25	4 (16%)	1 (4%)	1 (4%)
Kisiebele	25	3 (12%)	-	-
Sanda	25	1 (4%)	3 (12%)	1 (4%)
<b>Total</b>	<b>125</b>	<b>16 (12.8%)</b>	<b>7(5.6%)</b>	<b>5 (4%)</b>

Dans la détermination de la prévalence de la TAA et l'identification des espèces du parasite, le diagnostic au moyen des techniques moléculaires offre plus d'avantage que les techniques traditionnelles par sa sensibilité et sa spécificité. La PCR-ITS1 a permis d'identifier trois espèces de trypanosomes chez le caprin (Tableau 2). Les résultats obtenus dans cette étude démontrent que l'espèce caprine dans la province du Bas Congo est infectée par le *Trypanosoma spp.* Au total, 28 chèvres ont été détectées positives au *Trypanosoma spp.*, ce qui représente une prévalence de 22.4% (28/125) sur l'ensemble d'échantillons analysés par la ITS-PCR alors qu'au buffy coat seuls 18.4% (23/125) d'échantillons ont été positifs. En comparant ces deux tests diagnostiques avec le test de chi-carré à 4 cases, la valeur p obtenue est de 0,43 ( $P > 0,05$ ) et démontre qu'il n'y a pas de différence significative de performance. Néanmoins, nous estimons que si cette différence n'a pu être établie, cela s'expliquerait par la faible taille d'échantillon.

Dans cette étude, la prévalence la plus élevée a été obtenue avec le *T. congolense* 12.8% (16/125), suivi de *T. vivax* avec 5.6% (7/125) et 4% (5/125) pour *T. brucei brucei* (Tableau 2) ; aucun cas d'infection mixte n'a été détecté. La prévalence la plus élevée a été observée avec *T. congolense*, ceci pourrait s'expliquer par l'installation d'une infection initiée par le vecteur et par la facilité du trypanosome à s'adapter et à se multiplier dans l'hôte naturelle. Dans cette province les animaux vivent en mode élevage libre et vont à la recherche du pâturage dans les endroits les exposant au contact direct avec les vecteurs *Glossina palpalis palpalis* infestées. 5.6% (7/125) d'infestation sont dues au *T. vivax*, ce qui témoigne aussi la présence du vecteur cyclique ainsi que la possibilité de l'installation d'une infection initiée par les vecteurs mécaniques (Tabanidae, stomox) [DESQUESNES & DIA, 2004].

La valeur de l'hématocrite est un indicateur pouvant servir de critère unique pour apprécier la résistance des animaux à la trypanosomose [PALING et DWINGER, 1993]. Nos résultats montrent que le taux d'hématocrite moyen des animaux trypanosomés est significativement inférieur à celui des animaux sains ( $p < 0.1$ ). La corrélation faite entre les valeurs des hématocrites montre que le résultat positif obtenu prouve bien que les animaux avec des valeurs des hématocrites inférieure à la moyenne 24.2 % étaient infestés de la TAA. Les valeurs sont inférieures à celles obtenues pour les chèvres sahéliennes, dont les hématocrites varient entre 39 % à 26 % [NDOUTAMIA et al., 2002]. Ce fait indique clairement que la présence des trypanosomes est nuisible à l'hôte. Nos résultats ne montrent pas une différence significative de prévalence entre les différentes tranches d'âge ( $p > 0.05$ ). La prévalence obtenue dans la présente étude est

inférieure à celle obtenue par Nimpaye H et al, [2011] chez les animaux domestiques (27,08 %) dont 20,91 % de *T. vivax*, 11,42 % des *T. congolense*. Elle est supérieure aux 7,4 % obtenus dans le Bas Congo par Makumyanviri et al. [1989] ; aux 14.1% et 20 % obtenus respectivement par Anyaegbunam et al. [2013] et Musa et al. [2005] chez les chèvres.

## CONCLUSION

Ces résultats confirment bien la présence de la TAA dans la province du Bas Congo par l'identification des différentes espèces de trypanosomes affectant les animaux mammifères. Ce qui rappelle le rôle majeur joué par la glossine et/ou les vecteurs mécaniques dans la transmission de la maladie. Le test parasitologique (buffy coat) et l'ITS-PCR utilisés dans la présente étude ont permis de déterminer la prévalence des trypanosomes dans les différents villages (Kimpika, Kimpungi, Kasangulu, Kisielele et Sanda). L'ITS-PCR présente l'avantage de caractériser les différentes espèces. Etant donné qu'il existe une similarité entre *T. b brucei* et *T. b gambiense*, des études plus approfondies doivent être conduites pour étudier le rôle que peut jouer la chèvre comme réservoir animal de *T. b gambiense*, pathogène pour l'homme.

## RESUME

### Identification de *Trypanosoma spp* chez la chèvre dans la province du Bas-Congo

La Trypanosomiase animale africaine (TAA) constitue une contrainte majeure au développement de l'élevage des ruminants en Afrique. Elle est enzootique dans une région couvrant plus de 10 million Km<sup>2</sup> au sud du Sahara et provoque des pertes indirectes et directes (faible production, mortalité, coût de traitement) estimées entre 600 et 1200 million de dollar US par an. En République Démocratique du Congo, la province du Bas Congo, endémique pour la Trypanosomiase humaine africaine (THA), avait longtemps fait l'objet d'une étude pour déterminer la prévalence des infections causées par les espèces de trypanosomes chez les animaux domestiques en 1989.

Dès lors, les données relatives à la TAA n'ont pas été actualisées. L'objectif poursuivi dans cette étude est d'actualiser les données relatives à la TAA en identifiant les différentes espèces de trypanosomes circulant chez la chèvre élevée au Bas-Congo. La Réaction de Polymérase en Chaîne (PCR) est utilisée pour la caractérisation d'espèces et sous espèces de trypanosomes. Les tests parasitologiques et la technique PCR ont été utilisés pour le diagnostic des échantillons sanguins prélevés respectivement en tube et sur papier filtre. L'examen parasitologique par la technique de buffy coat a révélé 18.4% (23/125) de cas positifs contre 22.4% (28 /125) de cas positifs par la technique de PCR (Nested-PCR et ITS-PCR). La prévalence de

Trypanosomiase Animale Africaine (TAA) chez le caprin est de 12.8% (16/125) pour *T. congolense*, 5.6% (7/125) pour *T. vivax* et 4% (5/125) pour *T. brucei brucei*. Le taux d'hématocrite moyen chez les animaux détectés positifs à la PCR était de  $21.2 \pm 4$ . Cette valeur obtenue est significativement inférieur à celle des animaux non trypanosomés ( $p < 0.1$ ). D'autres études portant sur le rôle de la chèvre comme réservoir de *T.b gambiense*, pathogène pour l'homme, doivent aussi être menées dans le futur.

Mots clés : Trypanosome, Chèvre, buffy coat, PCR

## REFERENCES ET NOTES

- ANYAEBUNAM L.C.** and **OKAFOR O.J.** [2013]. Trypanosomiasis in Red Sokoto and West African Dwarf Goats at Ikpa Abattoir, Nsukka, Enugu State, Nigeria. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 1 (5) : 35-37.
- CHRISTOPHE C., JACQUES I., PIERRE C.M., PIERRE M.T.** [2003]. Trypanosomes Animales africaines. In: Précis de parasitologie vétérinaire tropicale, éditions, Lavoisier, Paris, p.209-446.
- CONSTANTINE C. C., GUYA S., CROWTHER J., KIRAGU J.M., THOMPSON R.C.A., DAVILA A. M.R.** [2005]. The use of ITS1 rDNA PCR in detecting pathogenic African trypanosomes, *Parasitology Research*, 95(3) : 186-192.
- DESQUESNES & DIA** [2004]. Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by one of the african tabanid *Atylotus fuscipes.vet*. *Parasitol.* 119 : 9 - 19.
- DOKO A., VERHULST A., PANDEY V. S. et VAN DER STUYFTP** [1997]. Trypanosome expérimentale à *Trypanosoma brucei brucei* chez les taurins Holstein et les zébus Bororo blancs. *Revue Elev. Méd Vét. Pays. Trop.*, 50 : 23-28.
- FERNANDEZ P.J. & WHITE W.R.** [2012] : Atlas des maladies animales transfrontalières, OIE.
- GEYSEN D., DELESPAUX V. & GEERTS S.** [2003]. PCR-RFLP using Ssu rDNA amplification as an easy method for species specific diagnosis of *Trypanosoma* species in cattle. *Veterinary Parasitology* 110 : 171-180.
- KANWE A.B., BENGALY Z., SAULNIER D., DUVALLET C.** [1992]. Evaluation du test de détection des antigènes circulants de trypanosomes à l'aide d'anticorps monoclonaux. Infections expérimentales et naturelles. *Revue de Méd. Vét. Pays. Trop.* 45, (3-4) : 265-271.
- KOBAYASHI A., TIZARD I.R, AND WOO P.T.K.** [1976]. Studies on the anaemia in experimental African trypanosomiasis. II. The pathogenesis of the anemia in calves infected with *Trypanosoma congolense*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 25 :401- 406.
- MAJIWA PA, WEBSTER P.** [1987]. A repetitive deoxyribonucleic acid sequence distinguishes *Trypanosoma simiae* from *T. congolense*. *Parasitol.* 3:543-58.
- MAKUMYAVIRI A, MEHLITZ D., KAGERUKA P., KAZYUMBA G.L. & MOLISHO** [1989]. Le réservoir animal de *Trypanosome brucei gambiense* au Zaïre : Infections trypanosomiennes dans deux foyers du Bas Zaïre. *Tropical Medicine and Parasitology* 40 :258-262.
- MARC DESQUESNES, GERALD MCLAUGHLINC, ADRIEN ZOUNGRANAB, ALBERTO M.R. DAVILAD.** [2001]. Detection and identification of *Trypanosoma* of African livestock through a single PCR based on internal transcribed spacer 1 of rDNA, *Internat. Journ. for Parasit.* 31: 610-61
- MURRAY M., Clifford D.J and Mc Intyre W.I.M** [1977]. An improved parasitological technique for the diagnosis of African Trypanosomosis, *Trans. Royal. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 71, 325-326.
- MURRAY M., MURRAY P.K., MC INTYRE W.I.M.** [1977]. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 71 : 325-326.
- MUSA O NG'AYO, ZABLON K NJIRU, EUCHARIA U KENYA, GEOFFREY M MALUVI, ELLIE O OSIR and DANIEL K MASIGA** [2005]. Detection of trypanosomes in small ruminants and pigs in western Kenya: important reservoirs in the epidemiology of sleeping sickness? *Kinetoplastid Biology and Disease*, 4 :5
- NDOUTAMIA G., MBAKASSE R.N., BRAHIM A. et KHADIDJA A.** [2002]. Influence de la Trypanosome à *T. Congolense* sur les paramètres hématologiques, minéraux et protéo-énergétiques chez les chèvres sahéliennes du Tchad, *Revue Méd. Vét.*, 153 :6, 395-400.
- NIMPAYE H., NJIOKOU F., NJINE T., NJITCHOUANG G.R., CUNY G., HERDER S., ASONGANYI T. SIMO G.** [2011]. *Trypanosoma vivax* , *T. congolense* "forest type" and *T. simiae*: prevalence in domestic animals of sleeping sickness foci of Cameroon. *Parasite* 18 : 171-179.
- NYEKO J.H.P., OLE MOIYOI O.K., MAJIWA P.A.O., OTIENO L.H., and OCIBA P.M.** [1990]. Characterization of trypanosome isolates from cattle in Uganda using species-specific DNA probes reveals predominance of mixed infections. *Insect Sci. Applic.* 11: 271-280.
- OMS** [2007]. Rapport d'une consultation informelle de l'OMS sur la lutte durable contre la trypanosomiase humaine africaine, Genève, Suisse, p61
- PALING R.W. & DWINGER R.H.** [1993]. Potential of trypano tolerance as a contribution to sustainable livestock production in tsetse affected areas in Africa. *Vet. Q.*, 15 :60-67.
- PARIS J., MURRAY M., MCODEMBA F.** [1982]. A comparative evaluation of the parasitological techniques currently available for the diagnosis of African trypanosomiasis in cattle. *Acta Tropica*, 39 : 309-316.
- PETIT J.P.** [1968]. Détermination de la nature des hémoglobines chez 982 bovins africains et malgaches (taurins et zébus) par électrophorèse sur acétate de cellulose. *Revue. Elev. Méd. Vét. Pays trop.* 21 : 405-413.
- PINDER M., LIBEAU G., HIRSCH G., TAMBOURA I., HAUCK-BAUER R. et ROELANTS C.E.** [1984]. Anti-trypanosome specific immune responses in bovids of differing susceptibility to African trypanosomiasis. *Immunology* 51 : 337-341.
- ROELANTS C.E., TAMBOURA I., SIDIKI D.B., BASINGA A. & PINDER M.** [1983]. Trypanotolerance and individual note a breed character. *Acta Trop.*, 40 : 99-104.
- ROCQUE S & CUISANCE D.** [2005]. La Tsetse ...Une mouche singulière et dangereuse. *Insectes*.136 : 27-30.

- STEPHEN H.G & PEARSON R.D.** [2001]. African trypanosomiasis. In: Principales and Practice of Clinical Parasitology. editors, JohnWiley & Sons LTD, England, p. 315-34.
- STIJLEMENS B., VAN KRUNKELSEVEN A., CALJON G., BOCKSTALV ., GUILLIAMS M., BOSSCHAERTS T., BESCHIN A., RAËS G., MAGEZ S. and de BACTSELIER P.** [2010]. The central role of macrophages in trypanosomiasis-associated anemia; rationale for therapeutical approaches. *Endocrine, Metabolic & Immun Disorders-Drug Targets*, 10 (1) :
- TRONCY P.M., ITARD J., MOREL P.C.** [1981]. Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Maisons-Alfort, France, IEMVT, 717 p.
- UILENBERG G.** [1998]. A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of African Animal Trypanosomosis., Rome, Italie, FAO, 158p.
- VILJOEN G.J., NEL L.H., CROWTHER J.R.** [2005]. Molecular diagnostic PCR Handbook. IAEA/FAO, Springer, Netherland.



This work is in open access, licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in the credit line; if the material is not included under the Creative Commons license, users will need to obtain permission from the license holder to reproduce the material. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>