

Caractérisation des trypanosomes chez le bétail N'Dama du ranch de Mushie en République Démocratique du Congo

E. TELAMANU-BAFWANGA¹, W. KABAMBA MWAMBA¹, A. NGULU-NSASI³, A. ILAKA NZASHILUMENGU²

(Reçu le 13/12/2018; Accepté le 05/03/2019)

Résumé

Une étude transversale et descriptive a été menée du 3 Août au 5 Septembre 2014 et du 6 Février au 7 Mars 2015 au secteur Izeli du ranch de Mushie en République Démocratique du Congo, pour identifier les espèces de trypanosomes et déterminer la distribution des agents étiologiques dans les différents troupeaux et catégories zootechniques chez les bovins N'Dama. L'échantillon de 324 bovins a été obtenu selon la formule de Thrusfield (2005) et sélectionnés par la technique d'échantillonnage systématique dans 4 troupeaux dont Sélection, Nganzaka, Dwe et Wulu-Wulu. Le diagnostic parasitologique a été réalisé par la technique de buffy coat et confirmé par les analyses de biologie moléculaire (PCR). Les résultats montrent que *Trypanosoma congolense* (67,7 %) a été l'espèce dominante suivi de *Trypanosoma vivax* (16,1 %) et *Trypanosoma brucei brucei* (12,9 %). Quant à la distribution des trypanosomes par troupeau, *T. congolense* a été retrouvé dans tous les troupeaux de façon significative tandis que *T. vivax* révèle une présence remarquable dans la catégorie zootechnique de vaches de réforme et génisses de boucherie. Les données statistiques montrent une différence non significative entre les espèces de trypanosomes quant à leur distribution dans les troupeaux et catégories zootechnique ($p > 0,05$).

Mots-clés: Caractérisation, trypanosome, amplification, amorces.

Characterization of trypanosomes in N'Dama cattle of Mushie ranch in the Democratic Republic of the Congo

Abstract

A transverse and descriptive study was conducted from 3 August to 5 September 2014 and from 6 February to 7 March 2015 at the Izeli area of the Mushie ranch in the Democratic Republic of Congo, to identify trypanosome species and determine the distribution of etiological agents in different herds and zootechnical categories in N'Dama cattle. A sample of 324 cattle was obtained according to the formula of Thrusfield (2005) and selected by systematic sampling technique in 4 herds including Selection, Nganzaka, Dwe and Wulu-Wulu. The parasitological diagnosis was made using the buffy coat technique and confirmed by molecular biology analyzes (PCR). The results show that *Trypanosoma congolense* (67.7 %) was the dominant species followed by *Trypanosoma vivax* (16.1 %) and *Trypanosoma brucei brucei* (12.9 %). As for the distribution of trypanosomes per herd, *T. congolense* was found in all herds while *T. vivax* showed a remarkable presence in the category of cull cows and beef heifers. Statistical analysis reveal a non-significant difference between trypanosome species distribution in herds and zootechnical categories ($p > 0,05$).

Keywords: Characterization, trypanosomes, amplification, primers.

INTRODUCTION

Dans les zones infestées par les glossines, le secteur de l'élevage connaît de sérieuses difficultés pour son accroissement suite à l'impact des trypanosomes sur le bétail (Magalie, 2006). Ils constituent de ce fait un important facteur limitant pour le développement des exploitations pastorales en Afrique subsaharienne (Makumyaviri, 1987; D'Ieteren *et al.*, 1988; Duvallet *et al.*, 1994; Authie *et al.*, 1999). Les résultats de travaux réalisés dans les ranchs de la République du Congo ont démontré que les bovins de race N'Dama, posent aussi de graves problèmes de trypanosomose aux éleveurs. En effet, étudiant le cas du ranch de la Dihesse, Gouteux *et al.* (1990) attribuent la plupart des cas de mortalité aux trypanosomoses lesquels toucheraient 10 % du troupeau.

La morbidité et la mortalité consécutives aux infections

trypanosomiennes contribuent à l'insuffisance de la productivité du bétail élevé dans les zones infestées de glossines (Hursey, 1985; Makumyaviri, 1987; Makumyaviri et Ndamukenze, 2006; Mekata, 2008; Akodab *et al.*, 2009). La République Démocratique du Congo, pays de la zone intertropicale de l'Afrique centrale n'échappe pas à l'emprise de cette maladie qui présente diverses répercussions. La trypanosomose des animaux se répercute, par ailleurs, sur la santé humaine car elle constitue un frein essentiel à l'alimentation protéique des populations. En effet, chez les animaux malades, on observe un amaigrissement important et la baisse de la production, qu'elle soit laitière ou bouchère. Les besoins alimentaires en protéines d'origine animale ne sont donc pas forcément couverts pour toute la population. Or, ces derniers pourraient être satisfaits si le bétail était moins soumis à la pression parasitaire des trypanosomes (Magalie, 2006).

¹ Université Pédagogique Nationale, Faculté de Médecine Vétérinaire, Kinshasa, R D Congo. Correspondance: drtelamanuedo@gmail.com

² Université de Kinshasa, Faculté de Médecine Vétérinaire, Kinshasa, République Démocratique du Congo

³ Université de Lumumbashi, Faculté de Médecine Vétérinaire, République Démocratique du Congo

Le secteur Izeli du ranch de Mushie qui est une propriété de la Société de Grands Élevages en Afrique Centrale, se trouve dans une zone où la présence de glossines et de réservoirs sauvages ne fait l'objet d'aucun doute, élève des bovins de race N'Dama et il enregistre, depuis plus d'une décennie une hausse consécutive, année par année, du nombre de mortalité dû à la trypanosomose bovine (Société de Grands Elevages en Afrique Centrale, 2014 ; Société de Grands Elevages en Afrique Centrale, 2015). Étant donné que les dernières études effectuées sur cette pathologie datent de plus d'une trentaine d'années, c'est dans ce cadre qu'a été menée cette étude dont les objectifs ont consisté à : (1) Actualiser les données sur la trypanosomose au secteur Izeli, (2) Identifier les espèces de trypanosomes que l'on y rencontrerait actuellement et, (3) Déterminer la répartition de ces agents étiologiques dans les troupeaux et catégories zootechniques.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Milieu d'étude

Izeli est l'un de quatre secteurs du ranch de Mushie localisé dans la province de Maï-Ndombe en RD Congo. Il se trouve à la longitude 16°55'20"Est, à la latitude 3°01'02" Sud et à une altitude de 307 m. Il est délimité au Nord et à l'Est par la rivière Leboma, au Sud par la rivière Mfimi et à l'Ouest par le secteur Ndana. Il a une superficie de 32.015 ha. Le climat est du type tropical humide Aw4. (Goubau, 2009). La texture du sol est sablonneuse en savane et argileuse le long des cours d'eau. La végétation est du type *Hyparrhenia rufa*, *Imperata cylindrica* et du *Panicum*. Le secteur compte au total 7.339 bovins (Société de Grands Élevages en Afrique Centrale, 2014).



Figure 1: Localisation de la Province Maï-Ndombe à l'intérieur de la carte de la République Démocratique du Congo
(http://www.congovirtuel.com/page_province_mai-ndombe.php)

Animaux

L'étude a concerné les bovins de race N'Dama élevés dans un système de ranching. L'abreuvement de bêtes se fait le long de rivières qui longent les pâturages lesquels constituent l'essentiel de l'alimentation du bétail. Les sels minéraux sont apportés en complément sous forme de blocs

à lécher. La chimioprévention contre les trypanosomes est effectuée, par moment, avec la molécule de Chlorure d'Iso-métamidium à la dose de 0,25 à 0,50 mg/kg de P.V. (Talaki *et al.*, 2013). Le secteur compte au total 7.339 bovins (Société des Grands Élevages N'Dama en Afrique Centrale, 2015).

Méthodes

L'étude a été transversale et analytique. Elle s'est déroulée en saison sèche du 3 août au 5 septembre 2014 et en saison des pluies du 6 février au 7 mars 2015. La taille de l'échantillon déterminée par la formule de Thrusfield (2005) a été de 162 bovins pour chaque saison pour une population d'études de 1.101 bovins en saison sèche et 793 en saison pluvieuse. Quatre troupeaux ont été sélectionnés sur base de quelques critères fixés à l'avance dont: (1) Sélection, constitué de vaches de reproduction, (2) Dwe, constitué de vaches de réforme et génisses de boucherie présumées tuberculeuses, (3) Wulu-Wulu, formé de vaches de réforme et génisses de boucherie et (4) Nganzaka avec de génisses au taureau. Le choix des bovins s'est fait par la technique d'échantillonnage systématique (Food and Agriculture Organisation, 2008). L'intervalle de sondage a été de 7 pour la saison sèche et de 5 en saison pluvieuse.

L'identification de trypanosomes a été déterminée d'abord par le diagnostic parasitaire exécuté par la technique de buffy coat (Murray *et al.*, 1977) par la recherche au microscope des trypanosomes se trouvant dans l'interface globules blancs/plasma obtenu après centrifugation (Camus, 1983; Organisation Internationale des Epizooties, 2005; Tanenbe *et al.*, 2010). Le diagnostic a concerné tous les 324 échantillons de sang prélevés sur les bovins. Ensuite, les mêmes échantillons ont été soumis au diagnostic de biologie moléculaire. Cette technique a été utilisée pour la caractérisation des *Trypanosoma spp* et elle a permis de révéler la présence de l'ADN des trypanosomes chez l'hôte. Elle a consisté à amplifier sélectivement une séquence d'ADN parasitaire grâce à l'action d'une enzyme «Taq polymérase» et d'amorces spécifiques (Benkirane *et al.*, 1994; Duvallat, 1994; Cox *et al.*, 2005; Magalie, 2006; Acapovi *et al.*, 2009; Tanenbe *et al.*, 2010; Tshilenge *et al.*, 2015). L'étape de la biologie moléculaire a été précédée par l'imprégnation des papiers filtres avec des échantillons du sang provenant des bovins ciblés. Cette opération a concerné tous les 324 échantillons de sang et elle a été exécutée selon le protocole décrit par Tshilenge *et al.* (2015).

Les échantillons obtenus à partir des confettis provenant de papiers filtres imprégnés du sang, ont été soumis à deux types d'analyses moléculaires.

- La première dite «NESTED-PCR» a permis de mettre en évidence tous les cas positifs de *Trypanosoma spp* à partir du sang collecté sur papier filtre dont le protocole est décrit par Geysen *et al.* (2003) et comporte 5 étapes dont l'extraction d'ADN, le Pré-PCR ou Mix, l'Amplification, l'Electrophorèse et la Visualisation. Le NESTED-PCR fait usage de 3 amorces ciblant les gènes ribosomales pour une recherche de variation intraspécifique (Geysen *et al.*, 2003): (18STnF2: CAA CGA TGA CAC CCA TGA ATT GGG GA) (18STnR3 : TGC GCG ACC AAT AAT TGC AAT AC) (18STnR2 : GTG TCT TGT TCT CAC TGA CAT TCT AGT G).

• La seconde dite «PCR-ITS» est une PCR classique et elle permet la détection et l'identification simultanées des différentes espèces des trypanosomes du bétail à partir des positifs obtenus lors la première Nested-PCR, en utilisant une paire d'amorces spécifiques ciblant la région 18S et 5n8S rDNA. Il s'agit de Kin 1 (GCG TTC AAA GAT TGG GCA AT) et Kin 2 (CGC CCG AAA GTT CAC C) (Desquesnes *et al.*, 2001).

Analyse statistique et considérations éthiques

Les données ont été traitées avec le logiciel SPSS 21. Le seuil de confiance a été considéré à 95 %, la marge d'erreur à 5 % et $p < 0,05$ comme significatif. Le % a servi pour déterminer le taux d'infection trypanosomienne. Enfin l'aspect éthique a guidé le travail. Le prélèvement du sang sur les bêtes a tenu compte du principe du bien-être animal. Des précautions étaient prises pour ne pas stresser ou traumatiser les animaux pendant la prise de sang.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le tableau 1 montre qu'il y a une prédominance de *T. congolense* (67,7 %) par rapport aux autres espèces de trypanosomes, toutes prises ensemble (*T. vivax*, *T. brucei brucei* et l'infection mixte *T. congolense-T. vivax*) avec au total 32,24 %. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Tasew et Duguma (2012) qui ont trouvé une prédominance de *T. congolense* avec 84,5 % suivi de *T. vivax* avec 3,09 %. Quant à Tafese *et al.* (2012), ils ont obtenu 72,73 % pour *T. congolense* contre 27,3 % pour *T. vivax*.

Tableau 1: Espèces de trypanosomes rencontrés

Espèces de trypanosomes	Nombre d'animaux positifs	%
<i>T. congolense</i>	21	67,7
<i>T. vivax</i>	5	16,1
<i>T. brucei brucei</i>	4	12,9
<i>T. congolense et T. vivax</i>	1	3,2
Total	31	~100

La forte prévalence de *T. congolense* comparée à *T. vivax* démontre que la transmission cyclique par les glossines a été dominante par rapport à la transmission mécanique (Tshilenge *et al.*, 2015). Ceci conduit à dire qu'il existerait un contact réel entre les animaux hôtes et *G. fusca* et *G. palpalis*, principaux vecteurs cycliques qui transmettent plus le *T. congolense* que le *T. vivax* comme l'ont souligné Tanenbe *et al.* (2010) et Adale et Yasine (2013).

Le taux d'infestation par *T. brucei brucei* a été de l'ordre de 12,9 %, occupant la troisième position par rapport au *T. congolense* et *T. vivax*. Ces résultats corroborent avec ceux obtenus par Simukoko *et al.* (2007) qui dans leur étude, ont fait une même observation. Cela s'expliquerait par le caractère complexe du cycle évolutif du *T. brucei brucei* chez la glossine où seules les formes courtes des trypanosomes contenues dans le repas sanguin peuvent poursuivre leur développement chez le vecteur (Tanenbe *et al.*, 2010).

Les données du tableau 2 révèlent que *T. congolense* a été enregistré dans tous les 4 troupeaux avec une fréquence plus élevée à Wulu-Wulu (n=8 soit 38,1 %). Bizuayehu *et al.* (2012) justifie la prédominance de *T. congolense* comparativement à *T. vivax* par le nombre élevé de ses sous-espèces et aussi par le développement d'une meilleure réponse immunitaire vis-à-vis de *T. vivax* par les animaux infectés (Tasew et Duguma, 2012). *T. vivax* est enregistré dans les troupeaux Nganzala (n=1 soit 20 %), Dwe et Wulu-Wulu (n=2 soit 40 % pour chaque troupeau). *T. brucei brucei* n'a été enregistré que dans les troupeaux Dwe (n=3 soit 75 %) et Wulu-Wulu (n=1 soit 25 %). La statistique révèle une différence non significative ($p > 0,05$) dans la répartition de ces différentes espèces de trypanosomes dans les différents troupeaux.

La distribution de différentes espèces de trypanosomes par rapport aux différentes catégories zootechniques telles que présentées dans le tableau 3, révèle que *T. congolense* est enregistré dans toutes les trois catégories zootechniques: 14,3 % chez les Vaches, 14,3 % chez les Génisses aux taureaux et 71,4 % chez les Vaches et Génisses de réforme. Il est observé une prévalence élevée de *T. vivax* dans les

Tableau 2: Distribution de différentes espèces de trypanosomes par troupeau

Troupeaux	Nombre d'animaux positifs selon les espèces de Trypanosomes (%)			
	<i>T. congolense</i>	<i>T. vivax</i>	<i>T. brucei brucei</i>	<i>T. congolense et T. vivax</i>
Sélection	3 (14,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Nganzaka	3 (14,3)	1 (20)	0 (0)	1 (100)
Dwe	7 (33,3)	2 (40)	3 (75)	0 (0)
Wulu-Wulu	8 (38,1)	2 (40)	1 (25)	0 (0)
Total	21 (100)	5 (100)	4 (100)	1 (100)

Tableau 3: Distribution des différentes espèces de trypanosomes par catégorie zootechnique

Catégories Zootechniques	Nombre d'animaux positifs selon les espèces de Trypanosomes (%)			
	<i>T. congolense</i>	<i>T. vivax</i>	<i>T. brucei brucei</i>	<i>T. congolense et T. vivax</i>
Vaches de reproduction	3 (14,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Génisses aux Taureaux	3 (14,3)	1 (20)	0 (0)	1 (100)
Vaches de Réforme et Génisses de boucherie	15 (71,4)	4 (80)	4 (100)	0 (0)
Total	21(100)	5 (100)	4 (100)	1 (100)

troupeaux Dwe et Wulu-Wulu constitués de vaches de réforme et génisses de boucherie. Cela s'expliquerait par le fait que dans les sites de Dwe et Wulu-Wulu, on relève la présence de *G. fuscipes* et *G. tabaniformis* (Leak et al., 1988), plus connues comme vecteurs mécaniques dans les pâturages. La statistique révèle une différence non significative ($p < 0,05$) dans la répartition des espèces de trypanosomes dans les différentes catégories zootechniques.

CONCLUSION

L'étude a démontré que *T. congolense* a été l'espèce la plus répandue dans le secteur d'Izeli suivi par *T. vivax* et *T. brucei brucei*. Seul *T. congolense* a été enregistré dans tous les troupeaux et catégories zootechniques. Par rapport aux résultats obtenus, l'étude a permis d'actualiser les données sur cette pathologie aux conséquences désastreuses et aussi d'identifier les agents étiologiques responsables de la maladie.

REMERCIEMENT

Nos remerciements à Monsieur Samuel Okani Mbengi pour son apport financier grâce auquel cet article a pu voir le jour et aussi à l'égard du projet ALAPIC (AUF) pour son apport matériel.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Acapovi-Yao G. L., Desquesnes M., Hamadou S., N'goran E. (2009). Prévalence parasitologique et sérologique des trypanosomoses chez trois races bovines en zones à glossines et présumée indemne en Côte d'Ivoire, *Agronomie Africaine*, 21: 205-213.
- Adale E., Yasine A. (2013). Prevalence of bovine trypanosomosis in Wolaita Zone Kindo Koish District of Ethiopia School of Veterinary Medicine, *African Journal of Agricultural Research*, 8: 6383-6387.
- Akodab K., Van Den Abbeeleb J., Marcotty A.T., De Dekena R., Sadie I., Van Den Bossche P., (2009), Nutritional stress of adult female tsetse flies (Diptera : Glossinidae) affects the susceptibility of their offspring to trypanosomal infections, *Acta Tropica*, 111.
- Authie E., Brigaud F., Bakalara N., Tetaud E., Baltz T. (1999). Trypanosomoses humaines et animales: Maladie du sommeil et Nagana, *Annales de l'Institut Pasteur*, Paris /Actualités, 10: 27-50.
- Benkirane A., Rweyemanu M.M., Wojciechowski K.J., Cheneau Y. (1994). Apports de la biotechnologie au diagnostic des maladies animales, Edition AUPELF-UREF, Paris, pp. 7-17.
- Bizuayehu A., Basaznew B., Tewodros F., Mersha C. (2012). Bovine trypanosomoses: A threat to cattle production in Chena district, Southwest Ethiopia, *Open Journal of Animal Sciences*, 2: 287-291.
- Camus E. (1983). Diagnostic de la trypanosomose bovine sur le terrain par la méthode de centrifugation hématocrite, *Revue Sci. Tech. Off. In Epizootie*, 2: 751-769.
- Cox A., Tilley A., Mcodimba F., Fyfe J., Eisler M., Hide G., Welburn S. (2005). A PCR based assay for detection and differentiation of African trypanosome species in blood. *Exp. Parasitol.*, 111: 24-29.
- D'Ieteren G.D.M., Authie E., Wissoc H. And Murray M. (1988). Trypanotolerance options sustainable livestock production in areas at risk from trypanosomiasis, *Revue Sci. Tech. Off. In Epizootie*, 17: 154-175.
- Desquesnes M., Mclaughlin G., Zoungrana A., Dávila A.M. (2001). Detection and identification of Trypanosoma of African livestock through a single PCR based on internal transcribed spacer 1 of rDNA, *Int. J. Parasitol.*, 31: 610-614.
- Duvaillet G., Bengaly Z., Reifenberg J.M., Argiro L. (1994). De nouveaux outils pour le diagnostic et l'épidémiologie de la trypanosomose animale africaine, Edition AUPELF-UREF. Paris, pp. 19-29.
- Food and Agriculture Organisation, (2008), Manuel de statistique pour la recherche forestière in <http://http://www.fao.org/docrep/003/x6831f/X6831f14.htm#TopOfPage>, consulté le 15 mai 2015 à Kinshasa.
- 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.
- Goubau A. (2009). Etude des apports alimentaires et des possibilités de complémentation minérale de bovins N'Dama sur pâturages artificiels à *Brachiaria sp.* au ranch de Kolo (RD Congo), Gembloux Agro-bio tech, Université de Liège.
- Gouteux J.P., Okamba-Osseke F., Sinda D. (1990). Relation entre densité glossinienne et trypanosomose bovine: le cas d'un élevage en ranching de bétail N'Dama (Louboulou, Congo), *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays Tropicaux*, 43: 57-62.
- http://www.congovirtuel.com/page_province_mai-ndombe.php consulté le 15 mars 2015.
- Hursey B.S. (1985). Lutte contre les glossines en Afrique, *Revue Sci. Tech. Off. In Epizootie*, 4: 299-310.
- Leak S.G.A., Awoume K., Colardelle C., Duffera W., Feron A., Mahamat B., Mawuena K., Minengu M., Mulongo M., Nankodaba C., Ordner G., Pelo M., Sheria M., Tikubet G., Toure M., Yangari G. (1988). Determination of tsetse challenge and its relationship with trypanosome prevalence in trypanotolerant livestock at sites of the African trypanotolerant livestock network, ILCA, Addis Abeba, Ethiopia.
- Magalie L. (2006). La trypanosomose bovine africaine: Généralités et situation au Bénin, Thèse de doctorat, École Nationale Vétérinaire de Lyon.
- Makumyaviri A.M. (1987). Contribution à l'étude de la trypanotolérance: (i) Mise au point d'un modèle d'infection par trypanosomes métacycliques. (ii) Évaluation des paramètres cliniques, histologiques et immunologiques au cours de l'infection. Thèse D. Sc., Vrije Universiteit Brussel (VUB).
- Makumyaviri A.M., Ndamukenze M. (2006). Nagana chez les bovins élevés au ranch de la compagnie pastorale du Haut Lomami à Kyabukwa, Kamina, *Ann. Fac. Méd. Vét.*, 18: 38-40.
- Mekata H. (2008). Prevalence and Source of Trypanosome Infections in Field-Captured Vector Flies (*Glossina pallidipes*) in Southeastern Zambia, *J. Vet. Med. Sci.*, 70: 923-928.
- Murray M., Chifford D.J., Mc Intyre W.I.M. (1977). An improved parasitological technique for diagnosis of African Trypanosomosis, *Trans. Royal. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 71: 325-326.
- Organisation Internationale des Epizooties, (2005). Trypanosomoses transmises par les tsé-tsé, Manuel terrestre de l'OIE, (S.I.).

- Simukoko H., Marcotty T., Phiri I., Geysen D., Vercruyse J., Van Den Bossche P. (2007). The comparative role of cattle, goats and pigs in the epidemiology of livestock trypanosomiasis on the plateau of eastern Zambia, *Veterinary Parasitology*, 147: 231-238.
- Société des Grands Elevages N'Dama en Afrique Centrale, 2014. Rapport annuel.
- Société des Grands Elevages N'Dama en Afrique Centrale, 2015. Rapport annuel.
- Tafese W., Melaku A., Fentahun T. (2012). Prevalence of bovine trypanosomiasis and its vectors in two districts of East Wollenga Zone, Ethiopia, *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 79: 73-81.
- Tanenbe C., Gambo H., Musongong A.G., Boris O., Achukwi M.D., (2010), Prévalence de la trypanosomose bovine dans les départements du FARO et Déo, et de la Vina au Cameroun : bilan de vingt années de lutte contre les glossines, *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays Tropicaux*, 63: 63-69.
- Tasew S., Duguma R. (2012). Cattle anemia and trypanosomiasis in western Oromia State, Ethiopia, *Revue Méd. Vét.*, 163: 581-588.
- Thrusfield M. (2005). *Veterinary Epidemiology*, 3rd Edition, Blackwell science ltd, Oxford, UK, 233 pages.
- Tshilenge M.G., Balowa K.L., Tshinguta L.C., Kazadi K.E., Bha Nsekene G., Ndadi N.V., Mukalakata N.T., Mpiana T.S., Madimba K.C.Y. (2015). Identification de *Trypanosoma* spp chez la chèvre dans la province du Bas-Congo. *Congo Sciences*, 3: 114-119.