ISSN 0378 – 9721

Volume 59 No 3

September/Septembre, 2011

African Union
Inter-African Bureau for Animal Resources

Bulletin of
Animal Health and Production
in Africa



Bulletin de la
Santé et de la Production Animales
en Afrique

Union Africaine
Bureau interafricain des Ressources Animales

ISSN 0378 - 9721

INTER-AFRICAN BUREAU FOR ANIMAL RESOURCES
BUREAU INTERAFRICAN DES RESSOURCES ANIMALES
P.O Box, NAIROBI, KENYA

BULLETIN

September
2011
Septembre

Volume 59

No. 3

AFRICAN UNION
UNION AFRICAINE

IBAR PUBLICATION
PUBLICATION DU BIRA

BULLETIN OF ANIMAL HEALTH AND PRODUCTION IN AFRICA
BULLETIN DE LA SANTE ET DE LA PRODUCTION ANIMALES EN AFRIQUE

A Quarterly journal of Original Article and Abstracts in English and French

Annual subcription: US$ 100.00

ISSN 0378-9721

Revue trimestrielle contenant des articles originaux et des résumés d'études en anglais et en français

Abonnement pour un an : 100$EU

BULLETIN OF ANIMAL HEALTH AND PRODUCTION IN AFRICA
VOL. 59 NO. 3 CONTENTS SEPTEMBER, 2011

ORIGINAL ARTICALS PAGE

1. Anthrax in Togo: Spatial Risk in the Savannah Region. *Kulo A E, Kada O*..... 281

2. Application of Mammalian Erythrocytes as Indicators for Newcastle Disease Virus Haemagglutination- Haemagglutination Inhibition Tests. *Oyekunle, Mufutau Atanda O N I, Oluwole Oyetunde OJO, Olufemi Ernest Oladunni, Sunkanmi Fatai and Amusa, Azeezat Oluwakemi*..... 289

3. Bovine Mastitis in Dairy Cows in Mekele, Northern Ethiopia. *Mohammodbirhan D, Tigre W, Tolosa T*..... 295

4. Molecular Epidemiology of Bovine Tuberculosis and most Common Strains of Mycobacterium Bovis in Plateau State, North Central Nigeria. *Damina M S, Owoludun O A, Ameh J A, Aliyu M M*. 303

5. Séroprévalence de la Néosporose et Conséquences sur la Fertilité des Vaches Laitières À Dakar – Sénégal. *Kamga – Waladjo AR, Mougang FJ, Diallo PM, Diop PEH, Tainturier D*..... 311

6. Caractérisation des Paramètres de Productivité des Poules Locales (Gallus Gallus Domesticus) de Côte D'ivoire Élevées en Conditions Semi Intensives. *Kouadio K E, Kouao B J, Fantodji Agathe, Yapi Aboussou Yrébé Léonie*. 319

7. Comparison of a 3ABC Elisa and the Liquid-Phase Blocking Elisa of Foot-and-Mouth Disease in an Area of Endemicity. *Raouf Y A, Ali B H, El Amin M A and El Rzag M A*..... 329

8. Ectoparasites of Chickens in North Gondar, Northwest Ethiopia. *Wudu T, Alemayehu M, Wassie M, Gizat A, Sefinew A*..... 339

9. Effets de Différents Niveaux de Supplémentation aux Feuilles de Manioc (Manihot Esculenta) sur tes Performances de Croissance, la Charge Parasitaire et Quelques Caractéristiques du Sang Chez la Chèvre Naine de Guinée. *Boukila B, Tendonkeng F, Lemoufouet J et Etienne Pamo T*..... 345

10. Essai de Substitution du Tourteau de Soja par la Farine de Feuilles de Moringa Oleifera dans la Ration Finition des Poulets de Chair. *Tendonkeng F, Boukila B, Beguidé A, Pamo T E*..... 357

11. Factors Influencing Conception Rates of Cameroonian Zebu Cattle (Bos Indicus) following Oestrus Synchronisation and Artificial Insemination. *Tebug S F, Kamga-Waladjo A R, Keambou T C, Ndambi O A, Ndukum J A and Thiam O*..... 365

12. Growth and Biomass Production of Brachiaria Ruziziensis under different levels of Nitrogen Fertilization and Phenological Stage. *Fernand Tendonkeng, Benoît Boukila, Etienne T. Pamo, Arsène V. Mboko, Férence N.E. Matumuini et Bienvenu F. Zoga ng*..... 371

SHORT COMMUNICATION

13. Investing in Livestock to Drive Economic Growth in Africa: Rationale and Priorities. *Nouala S, Pica-Ciamarra U, Otte J and N'guetta A*..... 383

ANTHRAX IN TOGO: SPATIAL RISK IN THE SAVANNAH REGION

Kulo A E, Kada O.
Ecole supérieure d'agronomie – Université de Lomé B.P. 1515 Lomé - Togo

Abstract

During the dry season in northern Togo, herds are led in search of water sources and natural pasture. These areas are often unfamiliar to the herdsmen and can also pose health risks to the herd. Additionally, migrating animals can spread diseases to other herds. The Savannah Region, in northern of Togo, has experienced recurrent anthrax outbreaks between 2007-2009. In this context, a study was undertaken from June-October 2009 regarding the spatial risk of anthrax in the Savannah Region of northern Togo. The principal objective was to identify the location of anthrax outbreaks in relation to the corridors along which animal movements occur, providing guidance about which areas should be avoided for grazing. The methodological approach was based on interviews of 147 people across 5 categories: 25 veterinarians from the public and private sectors, 84 livestock owners and herdsmen, 24 abattoirs, 3 transhumant herdsman originated from other countries, and 11 representatives of the human health sector. Data collection involved interviews using a pre-designed questionnaire. The results showed that: of the 35 animal outbreak sites of 1997-2008 identified during the interviews, 80% were first detected in the hot, humid period from March-June. Furthermore, 91% of the 35 outbreaks sites of 1997-2008 were situated along the actual transhumant corridors used by herdsmen, which differ from the officially designated corridors and are generally poorly marked out. Consequently, it is possible that livestock movements are a factor in the spread of anthrax and that there is a real and important risk posed by grazing contaminated pasture. The identified outbreak sites should be forbidden for grazing within the context of the regional anthrax control program.

Key words: livestock, transhumance, anthrax, Savannah Region, Togo.

ANTHRAX AU TOGO: RISQUE SPATIAL EN ZONE DE SAVANE

Résumé

Pendant la saison sèche dans le nord du Togo, les troupeaux se déplacent à la recherche de l'eau et de pâturages naturels. Ces zones sont souvent mal connues des bergers et peuvent également poser des risques pour la santé pour les troupeaux. En outre, les animaux migrateurs peuvent propager des maladies à d'autres troupeaux. La Région des Savanes, dans le nord du Togo, a connu des épidémies récurrentes d'anthrax de 2007 à 2009. Dans ce contexte, une étude a été menée de Juin à Octobre 2009 afin de déterminer les risques spatiaux de l'anthrax dans la région des savanes du nord du Togo. L'objectif principal était d'identifier les foyers d'anthrax dans les couloirs de transhumance, et fournir des conseils sur les aires de pâture à éviter. L'étude a consisté a des entretiens avec 147 personnes de 5 profiles différents: 25 vétérinaires des secteurs public et privé, 84 éleveurs et des bergers, 24 personnels d'abattoirs, 3 bergers transhumants originaire d'autres pays, et 11 représentants du secteur de la santé humaine. Les résultats montrent que: sur les 35 sites d'épidémies identifiés couvrant la période de 1997 à 2008, 80% des cas étaient détectée dans la période chaude et humide de Mars-Juin. Par ailleurs, 91% des sites étaient situés le long des couloirs de transhumances réelles utilisées par les bergers, qui diffèrent des couloirs désignés officiellement et sont généralement mal balisés. Par conséquent, il est possible que les mouvements du bétail soient un facteur dans la propagation de l'anthrax et qu'il ya un risque réel et important posé par l'alimentation sur les pâturages contaminés. Les sites identifiés épidémie devraient être interdits pour le pâturage dans le cadre du programme de contrôle régionale.

Mots clés: bétail, la transhumance, l'anthrax, Savane, le Togo.

Corresponding author: kulomathias@yahoo.fr

Introduction

In Togo, cattle production is based on natural pastures with seasonal movements (transhumance) during the dry season. The transhumance involved not only Togolese livestock farmers but also those of neighbouring countries of the Sahel. During the course of these movements, direct interactions between herds or their sequential passage through a given site can lead to local contamination and a transfer of microbiological agents. Due to a lack of familiarity of the local area, herds can become infected with anthrax by grazing contaminated pastures. The carcasses of anthrax cases are not always well managed, leading to further spread of the disease, economic losses, and even human deaths, due to the zoonotic nature of this disease. Transmission to humans particularly occurs following handling of animal carcasses for traditional purposes and the consumption of animals which have died.

Since 1997, there has been a notable increase in human and animal anthrax cases in the Savannah Region in the far north of Togo. Infectious diseases, therefore, pose a much more important constraint to the livestock production systems than technical or economic factors. Little is known about the prevalence, geographical distribution, temporal patterns, and factors favouring the spread of these diseases.

Togo is a signatory to the agreement relating to seasonal livestock movements, known as transhumance, between member countries of the Economic Community of West African States (ECOWAS). As a result, Togo opens its national borders during certain periods of the year to receive transhumant livestock from neighbouring countries (Hounkanli, 2000). As the Savannah Region is one of the entry points into Togo, there is substantial movement of livestock involving neighbouring countries. There is a recognised animal health risk linked to such livestock movements (Akakpo, 1994 ; Chantal *et al.,* 1994).

It is not clear why there has been a rapid and widespread increase in anthrax outbreaks noted in recent years. This region serves as a key zone for livestock rearing in Togo, with important transborder animal movements between neighbouring countries. The present study aims to assess the spatial risk of anthrax through investigation of the location of outbreaks and their relationship to the corridors of livestock transhumance in the Savannah Region of Togo..

Background

Study site

The Savannah Region of northern Togo covers approximately 800km² and is bordered to the north by Burkina Faso, to the west by Ghana, and to the east by Benin. The region consists of 4 provinces.

The vegetation in the savannah is significantly degraded by human impact and bushfires occurring during the dry season. The water network belongs to the Oti basin, which is a tributary of the Volta from Ghana. The average temperature ranges from 17-39°C in the dry season (November – March) and 22-34°C in the rainy season (April – October). The average annual rainfall is 1000-1100mm.

Human population

The population of the Savannah Region is approximately 600 000 of which 88% live in rural areas and 12% in towns. There is lack of recent data, although the rate of growth was estimated to be 3.8% in the late 1980s, posing problems relating to land ownership and overuse of natural resources (Cheaka *et al.,* 1989). The population is ethnically diverse. The low level of literacy poses a major barrier to development in the region. Additionally, deep-rooted traditional beliefs promote behaviour which increase the risk of disease spread and counteract disease control measures.

Animal population

The Savannah Region is the main livestock-raising zone of Togo. The animal population of interest in this study was all

domesticated herbivores in the region, i.e. Zebu cattle (*Bos indicus*), taurine cattle (*Bos taurus*), sheep, goats and donkeys.

Materials and Methods

The study was based on interviews using a structured questionnaire in order to identify outbreak sites and describe their location according to the transhumant corridors where seasonal animal movements occur.

Interviews were undertaken in 51 sites in the region from June-October 2009, distributed across 30 districts within the 4 provinces. The selection of sites was based on information provided by the local public and private veterinary services – sites where human or animal cases of anthrax had been recorded by human health or veterinary services. A list of locations where anthrax had been suspected was provided at least once during the years 1997-2008. The interviews were conducted at these sites to confirm the reports, to identify whether transhumant corridors existed at these sites, and to place them in relation to one another using a GPS device.

A Garmin GPS device (series Hc and HCx) was used for recording the geographic coordinates of each location visited. This included not only the interview sites, but also the official corridors of transhumance as marked out by authorities, as well as the routes actually followed by transhumant herdsmen.

The methodological approach involved interviews using questionnaires of 20-25 questions of open, semi-open, and closed design, tailored specifically to each sector interviewed. The questionnaires included questions addressing the interviewees' knowledge of risk factors and their adherence to disease control interventions. A question relating to the management of animal carcasses aimed to give idea of the risk of anthrax sporulation and spread. Questions relating to local cultural practices explored the traditional beliefs which could pose barriers to disease control measures. The management of livestock rearing was addressed with questions relating to pasture utilisation, the sites visited during the period of transhumance, and contact with other herds. Information relating to herd size, the proportion of animal deaths occurring amongst local herds and transhumant herds, the clinical signs observed before death, and the management of animal carcasses were also investigated.

One hundred and forty seven people across 5 categories were interviewed. Those involved in the animal health sector were the private veterinarians and their animal health workers in the four provinces, and four directors of the provincial government veterinary services. Within the human health sector, the directors of health centres in each site were interviewed, including those in provincial-level hospitals. All abattoir operators in the study zone were interviewed. Local livestock owners and their herdsmen, the latter usually of Fulani ethnicity, were selected by the local veterinary services for interviews. This selection was based on whether they grazed their animals in pastures around outbreak sites. Additionally, all transhumant herdsman originating from other countries who were encountered in the study zone were interviewed.

Regional rainfall data were obtained for the previous 10 years. Information regarding current disease control measures was sought from the veterinary authorities.

After data collection, Excel 2007 as used for entering and sorting the data and Arc GIS 9.2 was employed for geographic analysis. The analysis classified responses according to knowledge of the disease, outbreak site location, utilisation of the sites by transhumant animals, and their position in relation to pasture grazed by herds.

Results

The distribution of interviewees across the 5 categories was: 25 veterinarians and agents from the public and private sectors, 84 local livestock owners and herdsman, 24 abattoir operators, 3 transhumant herdsmen

originated from other countries, and 11 representatives of the human health sector.

Level of understanding of anthrax in the Savannah Region

Anthrax was known under a range of names in local dialects. Names used by different ethnic groups include - N'vréma by the Tchokossis ; Onato by the Ngam-Ngam ; Natoat by the Moba ; Onatoat by the gourma and Pidél by the transhumant Fulani. The population have been aware of this disease for a long time, but it only manifests rarely and sporadically.

According to local livestock owners, the diagnosis of the disease in a live animal is rare, except during an epidemic. Sudden death is more often the case, without clinical signs. Death due to anthrax is suspected when the carcass swells rapidly and discharges darkly coloured blood from the mouth, nose, and anus and sometimes from wounds. The blood is sticky and did not clot or attract flies.

Abattoir operators confirmed that this disease was seen at the abattoirs. The infected carcasses are removed, burned, and buried, with thorough disinfection of the area. The veterinarians emphasised the signs in the carcass of the animal, including congested muscles with ecchymoses and splenomegaly (sometimes very friable and irregular). On incision of the spleen during autopsy or meat inspection, it appears dark and muddy.

Understanding of human disease

Interviewees within the human health sector described the symptoms and lesions observed in infected people. They stated that pruritic and painful papules are noted externally on the stomach, neck, and arms. These lesions become circular ulcers. Sometimes, small vesicles appear which exude clear, blood-tinged fluid. The lesion becomes a black eschar which dries and falls off without forming a scar. The face and neck are often swollen. The internal forms of the disease (pulmonary and gastrointestinal) are often misdiagnosed and are sometimes confused with an advanced case of malaria, resulting in unfavourable outcomes.

Management of animal carcasses

According to interviewees, 132 animals died during 2008 due to suspected anthrax. The management of carcasses was handled in a variety of ways.

When an animal dies in the bush, the transhumant herdsmen stated that they left carcasses to be consumed by vultures and carnivores. Overall, 17% of animal carcasses suspected to be anthrax were discarded or abandoned whilst 20% were consumed. The management of carcasses in 2008 is shown in Table 1.

Human cases

A total of 217 cases of human anthrax (172 cases of illness and 45 deaths) were reported in the Savannah Region from 1997-2008. All of the 113 human cases reported in 2008 were in the same locations as the 35 reported animal outbreaks. Table 2 shows the distribution of human and animal cases by province in the Savannah Region from 1997-2008.

The results show that cattle and small ruminants are the species most often affected the region.

Disease control measures

In response to these anthrax outbreaks, the government has enforced the implementation of annual mass vaccination campaigns since 2009, as shown in Table 3. The campaigns are organised by private veterinarians under the supervision of local authorities. The costs of vaccinations are borne by the livestock owners.

Spatial distribution of contaminated sites

The outbreaks sites are named after the village where they were identified. Their spatial distribution across the region is presented in Figure 1. The circles represent the 35 identified sites, including a zone of risk of 5km around each site. In the four provinces, the sites were detected between February and June. Officially, the national period of transhumance is from 15 January – 15 May. In practice, however, transhumance takes

Table 1: Management of animal carcasses following Anthrax-suspected deaths in 2008 in the Savannah Region, Togo

Management	Number of cases	Proportion of total number of cases (%)
Burial	67	51
Cremation	16	12
Consumption	26	20
Abandonment	23	17
Total	**132**	**100**

Table 2: Suspected or confirmed cases of animal and human anthrax in the Savannah Region of Togo, 1997-2008

Province	Cattle	Small ruminants	Donkeys	Human illness	Human deaths
Oti	217	123	0	8	6
Tandjoaré	200	268	4	79	24
Tône	123	326	5	43	5
Kpendjal	174	78	0	42	10
Total	**714**	**795**	**9**	**172**	**45**

Table 3: Numbers of animals vaccinated against anthrax in the Savannah Region of Togo in 2009

Province	Cattle	Sheep	Goats	Donkeys
Oti	20769	5035	3839	1
Tandjoaré	7416	6418	8068	0
Tône	5740	2806	3045	30
Kpendjal	8830	1275	788	0
Total	**35342**	**15534**	**15742**	**31**

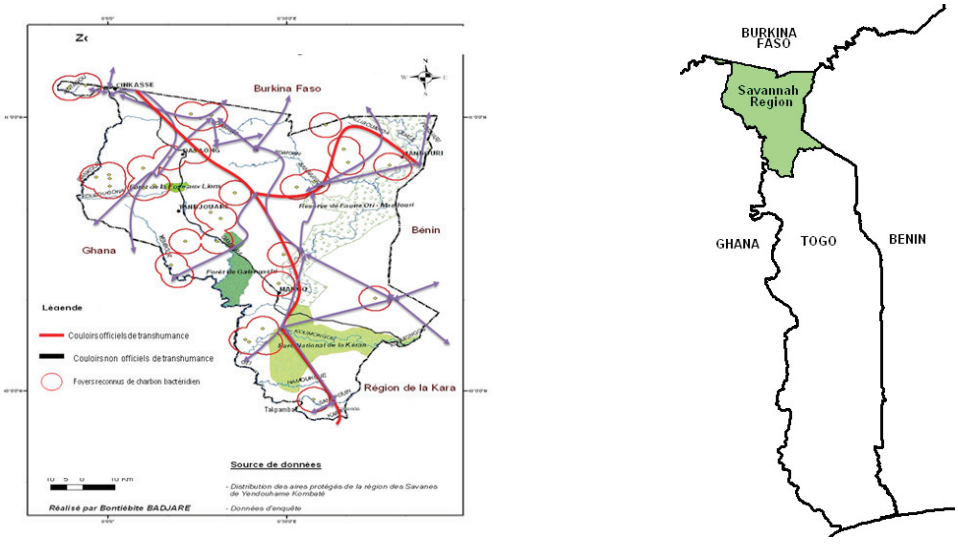


Figure 1 : Distribution of 35 animal anthrax outbreak sites identified in the Savannah Region of Togo from 1997-2008

place from December until June. Outbreaks of anthrax are noted to occur within the peak transhumance period, with 75% of animal outbreaks from 1997-2008 occurring between March-June. The number of cases increases with rainfall, with the greatest incidence being in June. Thus, the period of anthrax outbreaks corresponds with the hottest and most humid period.

A concentration of anthrax sites is along the following axes: Koundjoaré-Djapal and Naki-Tampialim. By province, the distribution is: 10 in Tône, 9 in Oti, 8 in Kpendjal and 8 in Tandjoaré. 91% of these 35 sites are situated on the corridors of transhumance of which 28.5% are along official corridors and 67.5% along unofficial corridors (Figure 1).

The incidence of infected sites began to increase from 2004, peaking in 2007. In 2007, three newly infected sites were detected with additional repeat outbreaks at 9 previously identified sites. By comparing the outbreaks with the number of days of rain per year, there is a suggestion that anthrax outbreaks occur in years following those of heavy rainfall.

Discussion

It is clear that anthrax is a disease that has been present for some time in the region, as noted by Badate in 1975. The disease re-emergence noted from 2003 onwards has resulted in loss of livestock and, most importantly, human lives. As anthrax is a disease linked to water and soil, its spread is favoured by conditions such as water channels in the soil, agricultural activities, and the movements of worms and necrophagic insects (Blancou, 1972). At the beginning of the rainy season (April), the grass is young and short, with animals grazing close to the soil leading to high a risk of infection. Ponds of muddy water also form from small streams, which can serve as a source of infection.

The present study was undertaken in order to identify sites of animal anthrax outbreaks in northern Togo, in relation to the corridors of transhumance along which cattle move seasonally. These sites pose a spatial risk for transhumant animals. Based on the findings of this study, access to certain corridors should be forbidden in order to minimise the risk of grazing in contaminated zones.

The results show that anthrax remains an important human and animal health problem in Togo. If measures to control the disease are not taken, there is a risk that the disease will spread to other areas. In 2008 in Togo, anthrax was reported only in the Region of Kara, the zone bordering the Savannah Region to the south.

The incubation period ranges from 8-60 days and the bacteria can thus spread across long distances. The Network of Epidemiological Surveillance of Animal Diseases in Togo (REMATO) estimates that, in general, only 31% of outbreaks are subject to a disease alert, due to a lack of knowledge of the disease or/and difficulties in accessing the sites by the veterinary services (Remato, 2009). In addition to the poor management of contaminated carcasses, the veterinary system is weak (7 private veterinarians and 4 provincial-level government veterinary services for an area of 800 km^2).

Some livestock owners find disease control measures such as the banning of certain grazing zones, the management of carcasses, and vaccination campaigns implemented by the veterinary services to be too restrictive. They refuse to allow their herds to be vaccinated, with economic factors often playing a role (Remato, 2009). The reduction in outbreaks observed during 2008-2009 can be assumed to be linked to disease control activities implemented by veterinary services (public education and animal vaccination).

However, livestock movements pose a challenge to vaccination. There are three types of movement in Togo: local transhumance, cross-border transhumance, and movements relating to sale (Dewa-Kassa, 2008, Hounkanli, 2000).

Although the transhumance period is officially fixed from 15 January – 15 May (N'tcha, 2001), transhumant herdsman often

enter into Togo in December and remain until June (Cedeao, 1998).

To facilitate movements of transhumant herdsmen, the regional authorities have defined two official corridors (N'tcha, 2001). The first is from Cinkassé-Dapaong –Naki Est-Koumbéloti-koumongou to Takpamba. The second is from Mandouri–Koundjoaré-Bombengou-Tanaga-Koumbéloti. This second corridor joins the first at Koumbéloti as shown in Figure 1. Animal movements along transhumant corridors traverse areas of risk, or even create new disease risks.

Conclusion

Anthrax remains a serious public health problem, in response to which Togo is implementing control measures such as animal vaccination campaigns and public education campaigns relating to the management of suspect or confirmed cases of anthrax. However, livestock owners and human and animal health workers need to be better equipped to recognise this disease in the field. There is also a need to reorganise the corridors of transhumance taking into account watering sources, pasture availability, and confirmed or suspected anthrax-contaminated sites. Forbidding the usage of pasture in known contaminated sites should reduce animal deaths, disease spread, and the risk to the human population.

Acknowledgements

We sincerely thank the FAO representation in Togo for their financial support for the purchase of the GPS device, the Togolese Minister for Agriculture, Livestock, and Fisheries for his assistance in the field surveys, Mr B. Badjaré (data manager, FAO) for his help in spatial data analysis and Dr A. Dean from the Swiss Tropical and Public Health Institute in Switzerland for her editorial assistance.

References

Akakpo A.J. 1994: Mode d'élevage, épidémiologie de maladies infectieuse animales et santé publique en Afrique au Sud du Sahara. Cahiers Agricultures 1994 : 3 : 361-368.

Anonyme : Fièvre charbonneuse en France – Chaire des maladies contagieuses – ENV – France 1ère édition 1980 - Fascicule, 35 p

Badate A. T., 1975 : Contribution à l'étude de la fièvre charbonneuse au Togo, thèse de doctorat vétérinaire – EISMV – Dakar, 121 p.

Blancou J., 1972 : Note sur rôle vecteur des rapaces dans la propagation de certaines maladies bactériennes, - IEMVT – Paris 197p.

Cedeao, 1998 : Décision A/DEC 5/10/98 relative à la règlementation de la transhumance entre les Etats membres de la CEDEAO, Abuja, 16 p.

Chantal J. Dorchies Ph. et Legueno B., 1994, Enquête sur certaines zoonoses en République de Djibouti I. Chez les ruminants à l'abattoir de Djibouti. Revue de Méd. Vét., 145, 8-9, 633-640

Cheaka A.T. 1989, Etude socio-économique sur l'élevage traditionnel au Togo. 177p.

Dewa-Kassa K. A., 2008 : Transhumance Inter Etat entre le Togo et les pays du Sahel : causes organisation et conséquence au Togo UL/ESA Lomé, 94 p.

Hounkanli J., 2000 : Situation de la transhumance au Togo. Rapport présenté par la délégation Togolaise à la réunion de concertation de l'UEMOA sur la transhumance. Parakou (Bénin) du 04 au 05 décembre 2000, 5 p.

N'tcha B., 2001 : Atouts et contraintes socio-économiques de la production du lait de vache de races locales au Togo. Cas de la région des Savanes ; Mémoire de fin d'étude agronomiques ESA/UL, Lomé, 98 p.

Pagot J., 1976 : Manuel d'hygiène du bétail et de prophylaxie des maladies contagieuses en zone tropicale. – IEMVT - Manuel et précis d'élevage. 160 p.

Perreau P., 1976 : Maladies Tropicales du bétail :

Prophylaxie médicale et sanitaire des grandes épizooties en élevage tropical. Presse universitaires de France – 4e édition. , 216 p.

Remato, 2009 - Evaluation de la capacité de détection précoce du charbon par le Réseau d'Epidémiosurveillence des maladies infectieuses dans la Région des Savanes, Direction de l'Elevage Lomé, Togo 18 p.

APPLICATION OF MAMMALIAN ERYTHROCYTES AS INDICATORS FOR NEWCASTLE DISEASE VIRUS HAEMAGGLUTINATION-HAEMAGGLUTINATION INHIBITION TESTS

Oyekunle[1], Mufutau Atanda O N I[2], Oluwole Oyetunde OJO[1], Olufemi Ernest Oladunni[1], Sunkanmi Fatai and Amusa[2], Azeezat Oluwakemi
[1]Department of Veterinary Microbiology and Parasitology,
[2]Department of Veterinary Medicine and Surgery,
College of Veterinary Medicine, University of Agriculture, Abeokuta, Nigeria.

Abstract

In this study, the potential of heterologous erythrocyte indicator systems for detecting Newcastle Disease (ND) antibodies was investigated using donkey, horse, dog and pig erythrocytes while guinea pig erythrocyte served as the control for comparison. Previous research had shown that guinea pig erythrocyte is useful as an alternative indicator in Newcastle disease virus haemagglutination inhibition (NDV-HI) titre determination. The haemagglutination and haemagglutination inhibition tests were employed using a constant 1% concentration for all erythrocyte indicators. A total of 91 birds of different age groups (6, 9 and 12 weeks) were bled and their NDV antibody titer determined using erythrocyte from the mammals as indicator. Results showed that donkey erythrocyte is not useful as an alternative indicator in NDV-HI titre determination and its haemagglutination (HA) value or HA unit (HAU) is zero. Horse, dog, pig and guinea pig erythrocyte however gave varying haemagglutination (HA) and haemagglutination-inhibition (HI) titre. It is thus recommended that the horse erythrocyte be used as an alternative in HA test and is also suitable for HI test in birds up to 9 weeks of age. When birds are up to 12 weeks old, erythrocyte from guinea pig will serve as a better indicator. The potential of these indicators are discussed in this study.

Keywords: *Mammalian, erythrocyte* indicator, HA-HI, Newcastle disease

APPLICATION DE ERYTHROCYTES MAMMIFÈRES, COMME INDICATEURS POUR LES ESSAIS DE L'INHIBITION HÉMAGGLUTINATION-HÉMAGGLUTINATION DU VIRUS DE LA MALADIE DE NEWCASTLE

Résumé

Dans cette étude, le potentiel de systèmes d'indicateurs des érythrocytes hétérologues pour la détection de la maladie de Newcastle (ND) a été étudiée en utilisant des anticorps des érythrocytes d'âne, de cheval, de chien et de cochon avec les érythrocytes du cochon d'inde comme témoin pour la comparaison. Des recherches antérieures avaient montré que des érythrocytes du cochon d'inde est utile comme un indicateur alternatif au virus de la maladie de Newcastle dans les tests a inhibition de l'hémagglutination (NDV-HI). Les tests d'inhibition de l'hémagglutination et l'hémagglutination ont été employés en utilisant une concentration constante de 1% pour tous les indicateurs érythrocytaire. Un total de 91 oiseaux de différents groupes d'âge (6, 9 et 12 semaines) ont été saignés et leur titre d'anticorps de NDV déterminée à l'aide d'érythrocytes de mammifères comme indicateur. Les résultats ont montré que les érythrocytes d'âne n'est pas utile comme indicateur alternatif au titrage du NDV-IH et sa valeur d' hémagglutination (HA) ou unité HA (UHA) est zéro. Ceux du Cheval, chien, porc et cochon d'inde ont cependant donné des valeurs variants d'hémagglutination (HA) et d'inhibition de l'hémagglutination (HI) . Il est donc recommandé que les erythrocytes de chevaux soient utilisé comme une alternative au test HA et soit également adapté pour le test IH chez les oiseaux jusqu'à 9 semaines d'âge. Lorsque les oiseaux plus de 12 semaines d'âge, des érythrocytes du cochon d'inde serviront comme un meilleur indicateur.

Corresponding author: writewole@yahoo.com

Mots-clés: mammifères, l'indicateur des érythrocytes, Newcastle

Introduction

Newcastle Disease (ND) is an infectious, acute, highly contagious, viral disease of poultry and a wide range of non-poultry avian hosts characterized by variable clinical and pathological manifestations with variable morbidity and mortality rates. The Disease is endemic in Nigeria (Saidu *et al.,* 1998) and rated as one of the greatest constraints to the development of rural poultry production (Dipeolu *et al.,* 1998).

The *Haemagglutination* (HA) and *Haemagglutination-Inhibition* (HI) tests require the use of erythrocytes from disease-free or specific pathogen free (SPF) chickens as indicators. Unfortunately, SPF facility is non-existent in most developing countries due to very expensive and highly demanding nature of its operations. This inadequacy has posed serious constraints on experimentation and routine diagnostic work on Newcastle Disease. As a result, alternative indicator systems (*erythrocytes*) other than from chickens had to be sought *in lieu* of erythrocytes from SPF chickens (Adebayo, 2004).

The HI test is still the most widely used conventional serological method for measuring anti-Newcastle Disease Virus (NDV) antibody levels in poultry sera, and it is considered the standard laboratory test for this disease (Xu *et al.,* 1997).

Some avian and mammalian viruses agglutinate the erythrocytes of certain animals (Adair *et al.,* 1979, Lu *et al.,* 1985, Joklik *et al.,* 1992). This haemagglutination property reflects the fact that such erythrocytes possess receptors for certain surface components of the virus particle that function as cell attachment protein.

The fact that mammals are not natural hosts of ND in addition to their availability and easy management make them good candidates or substitutes for SPF chickens in the supply of indicator systems for HI titrations. However, Adebayo (2004) observed that some erythrocyte indicator systems differed in their sensitivity to the detection of ND antibody.

Consequently, this study was conducted to study the HA and HI activity of ND virus against different mammalian erythrocytes.

Materials and Methods

Sample collection

Ninety-one chicken serum samples were collected from two sources, namely the University of Agriculture, Alabata, Abeokuta, (UNAAB) Teaching and Research Farm (Poultry unit) and a private poultry farm located in Asero, Abeokuta.

A total of 20 six-week old and 29 nine-week old chickens, labeled 1 to 20 and 21 to 49, respectively, were randomly picked and bled from the pen containing about 300 birds at the UNAAB teaching and research farm, while 42 twelve-week old chickens, labeled 50 to 91, were bled from the poultry farm at Asero, Abeokuta. All the sampled birds were previously vaccinated with oral ND La Sota vaccine at 3 weeks of age. The birds were, therefore, divided into 3 categories A, B, C on the basis of their age and the interval between vaccination and HI test (Table 2).

The vaccination record of the birds included Marek's disease vaccine subcutaneously at day old, Hitchner B1 vaccine intra-ocularly at day 2 and Newcastle disease vaccine, La Sota strain orally at 3 weeks of age. 1ml of blood was collected from the jugular vein of each chicken using sterile 2ml syringe and 21G needle into labeled sterile bijou bottles. The blood was allowed to stand on the bench to clot. The serum was extracted into appropriately labelled sterile eppendorf tubes and stored in a freezer at -4°C until ready for use. Whole blood samples were collected from horses, donkey, dog, pig and guinea pigs into labeled EDTA bottles.

Five (5) ml of blood was collected from the jugular veins of the horse, donkey, dog and pig each with the use of sterile 19G hypodermic needles and 5ml syringes.

The guinea pigs were bled via direct cardiac puncture using 2ml syringes and 21G needles. The sera and blood samples were transported to the laboratory in coolers containing ice packs. The blood samples were stored in the refrigerator at 4°C until ready for use on the same day.

Serological tests

The serological test employed in this study was HA and H inhibition tests. Newcastle disease LaSota vaccine (National Veterinary Research Institute, VOM) was used as antigen. Sera with HI antibody of > 4 log_2 were considered positive based on OIE recommendation of 2000.

Washing and Standardization of erythrocyte Suspensions:

The blood samples obtained from the horse, donkey, dog, pig and guinea pigs were washed using fresh normal saline. This was done by centrifugation several times until the supernatant was clear. The erythrocyte concentration (packed cell volume) of the carefully washed blood samples were determined using the micro-haematocrit method. The values obtained were used in preparing the 1% erythrocyte suspensions that were used to determine the HA titers.

Haemagglutination (HA) and Haemagglutination inhibition (HI) tests

Newcastle disease vaccine virus La Sota strain produced by National Veterinary Research Institute, Vom, was used as antigen after reconstitution of 200-dose vial in 10ml of normal saline in order to get a 1ml of 20 doses. The HA test was done by micro test method as described by Adene and Njoku (1980). The micro-haemagglutination technique was used with the aim of determining the HA titre and thus calculating the 4HA units (4HAU) required for the determination of HI. The method employed followed standard micro-titration procedure using two-fold serial dilutions. The HI test was performed using the procedure (constant virus and varying serum) against 4HA units of the ND La Sota virus as described by Anosa and Adene (2007).

Results and Discussion

The horse red blood cells (RBCs) had the highest HA titre of 4log_2, while dog, pig and guinea pig had a titre of 2log_2. The donkey however had 0 HA titre as shown in Table I.

The HA titre values obtained for the erythrocyte from donkey, dog, pig, guinea pig and horse (Table 2) imply that horse erythrocyte has a better HA ability than the others (Table I).

Table I: Haemagglutination titre for the tests and control erythrocyte indicators

Erythrocyte Donor	HA TITRE (log_2)
Horse	4
Donkey	0
Dog	2
Pig	2
Guinea pig	2

Table 2 also shows that the donkey erythrocyte indicator gave no observable ND antibody titre (i.e 0) for all the age groups of birds that were tested. With the horse erythrocyte indicator, 11 out of 20 (55%) in category A, 19 out of 29 (65.5%) in category B and 12 out of 42 (28.57%) birds gave ND-HI titre equal to or greater than 4log_2 (Table II). The number of birds with ND-HI titre greater than 4log_2 was the highest for category A and B birds and lowest for category C birds with horse erythrocyte of all the tested mammalian erythrocytes. The number of birds (24 out of 42) with ND-HI titre of equal or greater than 4log_2 was highest (57.1%) with guinea pig erythrocyte in category C birds (Table 2).

With the horse erythrocyte 55% and 65.5% of birds aged 6 and 9 weeks respectively had ND-HI titre equal or greater than 4log_2. Erythrocyte from other animals including pig did not produce this level of sensitivity. These results suggest that horse erythrocyte will be more

Table II: ND antibody titre with reference to the interval between vaccination of birds and HI test using different mammalian erythrocyte indicators

Category	Age (weeks)	Interval between vaccination and HI titre (days)	Number of birds tested	Animal source of erythrocyte	Number of birds with ND antibody titre (%)	
					$< 2^4$	$>=2^4$
A	6	21	20	Donkey	20(100)	0
				Horse	9(45)	11(55)
				Dog	13(65)	7(35)
				Pig	16(80)	4(20)
				Guinea pig	11(55)	9(45)
B	9	42	29	Donkey	29(100)	0
				Horse	10(34.5)	19(65.5)
				Dog	23(79.3)	6(20.7)
				Pig	27(93.1)	2(6.9)
				Guinea pig	24(82.8)	5(17.2)
C	12	63	42	Donkey	42(100)	0
				Horse	30(71.4)	12(28.6)
				Dog	26(61.9)	16(38.1)
				Pig	24(57.1)	18(42.9)
				Guinea pig	18(42.9)	24(57.1)

suitable than other tested erythrocytes as indicator for ND-HI test for birds up to 9 weeks of age. When birds are up to 12 weeks, erythrocyte from guinea pig may be better than the others tested, since 24 out of 42 vaccinated birds showed ND-HI titre equal or greater than $4\log_2$.

Vaccination for ND is aimed at preventing future outbreaks of the disease. According to OIE (2000) adequate ND antibodies are titers that are $4\log_2$ or greater for vaccinated birds. However, SOPs (2005) defined adequate ND titre that is $3\log_2$ or greater for birds less than 18 weeks of age and $5\log_2$ or greater for birds 18 weeks or older. In this study, all the tested birds were below 18 weeks of age. Therefore, in order to obtain reliable result, ND-HI testing must be undertaken with the most suitable source of erythrocyte indicator.

The result described above was achieved using a constant 1% concentration for all erythrocyte indicators. These mammalian erythrocyte systems therefore offer potential tool which can be applicable in diagnostic laboratories. These erythrocyte donors are naturally free of Newcastle disease and many other diseases of poultry, easy to manage, and readily available, especially in Nigeria where it is difficult to get specific pathogen-free chicken in HA-HI analysis.

This however does not undermine the use of guinea pig erythrocyte in HA-HI tests as standardized by Adebayo (2004), but it implies that horse erythrocyte will give better results when used to determine HA-HI tests. The cost of procuring and maintaining a horse, as well as its limited availability in Nigeria especially the southern part of the country, are the factors that might

limit the use of its erythrocyte in HA-HI determination. However, in areas where horses are readily available and guinea pig is scarce, horse erythrocyte is indicated. In a report by Adebayo (2004) also showed that guinea pig erythrocyte was equal in efficiency as chicken erythrocyte in HA-HI titre determination of ND antibody.

Conclusion and Recommendation

In conclusion, a standard alternative erythrocyte indicator for Newcastle disease antibody titer determinants *in lieu* of erythrocytes from SPF chicken includes horse as well as guinea pig erythrocyte. The horse erythrocyte may also be used as an alternative for HI test in birds up to 9 weeks of age. However, when birds are up to 12 weeks, erythrocyte from guinea pig will serve as a better indicator. Hence, with increasing establishment of large and small scale poultry farms, with a corresponding need for analyzing ND status of birds, the use of other sources of erythrocyte such as the horse is recommended due to their availability and need not require hear for the maintenance of a SPF facility.

Acknowledgement

The authors are grateful to Mr. P.A. Akinduti of the Veterinary Microbiology and Parasitology laboratory for his laboratory assistance.

References

Adair MB, Mcferran JB, Cannor TJ, McNultry MS, Mckillop ER. 1979. Biological and Physical properties of a virus (strain 127) associated with egg drop syndrome, 1976. *Avian Path*. 8 (3): 249-264.

Adebayo IA. 2004. Application of Heterologous Erythrocyte Indicator Systems in the Differentiation of Vaccinal and Natural Newcastle Disease Induced Antibodies. *International Journal of Poultry Science* 3 (6): 411-414.

Adene DF, Njoku A. 1980. Vaccination of imported chicks against Newcastle disease. *Journal of Nigerian Veterinary Medical Association*, 8: 71-72.

Anosa GN, Adene DF. 2007. The comparative immunogenicity of three lentogenic brands of Newcastle disease vaccines in Nigeria. *Nigerian Veterinary Journal*, 28(2):1-5.

Dipeolu MA, Kenipe OM, Gbadamosi AJ. 1998. Chick Mortality in Indigenous Chicken under Free Range System in Abeokuta, Nigeria. Nig. Vet. J., 19: 5-11.

Joklik WK, Willet HP, Amos DB, Wilfert CM. 1992. Structures, Components and Classification of Viruses. In: Zinsser Microbiology (20th Ed.). Appleton and Lange, London. pp. 749-782.

Lu YS, Lin DF, Tsai HJ, Lee YL, Lee C. 1985. Outbreak of EDS '76 in Taiwan and isolation of the aetiological agents. J. Chin. Soc. Vet. Sci. 11:157-165.

OIE. 2000. Newcastle disease. Manual of standard for diagnostic tests and vaccines. Office

International des Epizootics, Paris. Pp.221 -232.

Saidu L, Abdu PA, Markus EL. 1998. Retrospective Studies on Newcastle Disease in Vaccinated Flocks in Zaria, Nigeria. Student Vet. 17:27-31.

SOPs. 2005. Standard operation procedures for Queensland Newcastle disease vaccination program, Stock Act 1915.

Xu H, Lohr J, Greiner M. 1997. The selection of ELISA cut-off points for testing antibody to Newcastle disease by two-graph receiver operating characteristic (TG-ROC) analysis. *J. Immunology. Methods* 208:61–64

BOVINE MASTITIS IN DAIRY COWS IN MEKELE, NORTHERN ETHIOPIA

Mohammodbirhan D[1], Tigre W[1], Tolosa T[1]*
[1]Jimma University, College of Agriculture and Veterinary Medicine, P.O.Box 307, Jimma, Ethiopia

Abstract

A cross-sectional study was conducted from October 2007 to April 2008 on Holstein and Holstein-Zebu cross breds lactating dairy cows in and around Mekele to determine the prevalence, major risk factors and major bacterial pathogens of bovine mastitis in the study area. Simple random sampling of dairy herds, clinical examination of udder and milk, White Side Test, and bacteriological culture were used. Based on clinical examination of udder, milk, and white side tests, prevalence of mastitis was found to be 61.5% (4.0% clinical and 57.5% sub clinical cases). The overall prevalence of mastitis was significantly affected by age (χ^2 = 22, P=0.000), breed (χ^2 = 7.9, P= 0.006), teat condition (with or without lesion) (χ^2 = 5.3, P= 0.025), parity (χ^2 =8.2, P=0.017) and sanitation status of the dairy environment and associated practices (χ^2 =19.0, P=0.000). Coagulase negative *staphylococcus* (50.2%), *Staphylococcus aureus* (22.9%), *streptococcusagalactia* (16.3%), *streptococcus dysagalactia* (7.3%) and E. coli (3.3%) were the major bacterial species isolated. In conclusion culling of old aged cows, improving the overall sanitation of farm, screening, early detection and treatment of mastitis, tick control and proper management of teat/udder injuries are recommended to combat the problem in the area.

Key words: Mastitis, Prevalence, Lactating Holstein Friesian and Holstein-Zebu cross breed cows, Bacteria, Mekele

MAMMITE BOVINE CHEZ LESVACHES LAITIERES A MEKELE DANS LE NORD DE L'ETHIOPIE

Résumé

Une étude transversale a été menée, d'octobre 2007 à avril 2008, sur les races croisées Holstein et Holstein-Zébu de vaches laitières en lactation dans et autour de Mekel, dans le but de déterminer la prévalence, les principaux facteurs de risque et les principaux agents pathogènes bactériens de la mammite bovine dans la zone d'étude. On a effectué un simple échantillonnage aléatoire des troupeaux laitiers, un examen clinique de la mamelle et du lait, une épreuve de WhiteSide et une culture bactériologique. Sur la base de l'examen clinique de la mamelle et du lait et des épreuves de WhiteSide, on a constaté que la prévalence de la mammite était de 61,5% (4,0% de cas cliniques et 57,5% de cas subcliniques). La prévalence globale de la mammite était significativement influencée par l'âge (χ^2 = 22, P=0.000), la race (χ^2 = 7.9, P= 0.006), l'état des trayons (avec ou sans lésion) (χ^2= 5.3, P= 0.025), la parité (χ^2 =8.2, P=0.017), l'état d'assainissement de l'environnement des vaches laitières et des pratiques associées (χ^2 =19.0, P=0.000). Les principales espèces bactériennes isolées étaient : le Staphylocoque à coagulase négative (50,2%), le staphylocoque doré (22,9%), le streptococcus agalactia (16,3%), le streptococcus dysagalactia (7,3%) et E. coli (3,3%). En conclusion, l'élimination de vieilles vaches, l'amélioration de l'assainissement global de la ferme, le dépistage, la détection précoce et le traitement de la mammite, le contrôle des tiques et la bonne prise en charge des blessures des trayons / mamelle sont recommandées pour combattre le problème dans la région.

Mots-clés: Mammite, Prévalence, Vaches laitières de race Holstein frizonne et croisées Holstein-Zebu, Bactéries, Mekele

*Corresponding author: tadeletolosa@yahoo.com or tadele.tolosa@ju.edu.et

Introduction

Many developing countries like Ethiopia are currently encouraging milk production through smallholder dairy schemes and intensification of animal production to fulfill the increased demand for milk and milk products. However, milk production often does not satisfy the country's requirements due to a multitude of factors. Mastitis is among the various factors contributing to reduced milk production.

Bovine mastitis is of rich economic importance to the dairy industry; due to reduced milk yields, changes in milk composition, discarded milk, increase culling rates, treatment costs, and deaths from severe infections (Radostits *et al.,* 2000).

In Ethiopia, bovine mastitis have been reported from different part of the country by a number of authors (Sori *et al.,* 2005; Getahun *et al.,* 2008; Lakew *et al.,* 2009; Tolosa *et al.,* 2009). However, information available on the prevalence of the disease and associated risk factors in Mekele and its surrounding area is inadequate. Therefore, the objectives of this study were to determine the prevalence and major bacterial pathogens of bovine mastitis and assess the associated risk factors for the problem in and around Mekele, northern Ethiopia.

Materials and Methods

Study Area and Dairy Husbandry Practices

The study was carried out in and around Mekelle, northern Ethiopia. Mekelle, the capital city of Tigray regional administrative state which is 783 km north of Addis Ababa at an altitude 2080 meters above sea level. It is located at latitude and longitude of 33024/30// to 13036 /52/ and 390 25/ 30// to 39038/33//, respectively. The area receives an average annual rainfall of 627mm. The mean annual temperature of the study area is 24^{0}C. The agricultural activity in the area is dominated by mixed crop live-stock production system. Dairy farms in and around Mekelle are managed mostly under intensive and/or semi- intensive management practices, while few of them are managed extensively. Holstein and Holstein-Zebu cross bred are the dairy breed found in most of the dairy farms in the area. The management systems of the farms were classified into intensive/semi-intensive and extensive system based on the criteria adopted from Richard (1993). Most intensive farms were owned by organization and managed under relatively modern system than other private farms. The dairy cattle in the study area were often provided with some supplementary diet in addition to the natural pasture and agricultural by products. Manual hand milking practices were conducted in the farms visited during the study. Hygienic practices such as pre and post milking hygienic procedures like teat washing, drying and using towels were poorly practiced and most of the farms have no towel to dry udder after washing, while the two large dairy farms (Kelamino and Agazi) were found to practice such hygienic procedures and use towels for drying of teats. Almost half of the dairy cows included in the current study were obtained from these two farms.

Study Design

A cross sectional study design was used to determine the prevalence and major bacterial causes of bovine mastitis and to assess the associated risk factors with the prevalence of the problem in and around Mekelee.

Study animals and sampling method

Holstein Friesian and Holstein Friesian-Zebu cross `bred dairy cows in dairy farms in and around Mekelle were considered as a study population. Twenty- one farms were selected by simple random sampling techniques and all lactating Holstein and crossbred dairy cows in the identified herd were included in the study or considered as study units. The sample size was determined according to Thrusfield (1995) assuming the expected prevalence of bovine mastitis to be 26 % (Temesgen, 1999), 5% desired precision and 95% confidence level. Accordingly, 301 lactating cows were included in the study.

Study methodology and data collection

The study was conducted on the basis of questionnaire survey, clinical examination of udder, teat and milk, screening test using the White Side Test (WST) and bacteriological investigation. A pre-designed semi-structured questionnaire was administered to farm owners or attendants or farm managers to obtain information at herd and individual animal level. Important information on possible risk factors was recorded.

All quarters were clinically examined for abnormalities in size, consistency and any inflammatory signs by visualization of udder and milk and palpation of the udder. Swelling of udder, pain reaction during palpation, change in consistency and color of milk were considered and registered as indicators of clinical mastitis (Quinn *et al.,* 1994).

In order to determine the prevalence of sub clinical mastitis, individual quarter milk samples from lactating cows were collected for screening test (WST). A quarter was considered to be sub-clinically affected when clinical signs were not present and the Somatic Cell Count (SCC) level was greater and become positive on screening with or without positive isolation of udder pathogens. Moreover, milk samples were also collected (from clinical and sub clinical cases) in aseptic ways and microbiological investigation (culture, stain, and biochemical tests on the pure isolate) were performed according to the National Mastitis Council (1999). The samples collected for determination of bacterial causes of mastitis were immediately transported to Mekelee Regional Laboratory in a cooler box with ice at 4°C and streaked within 24 hours. Milk samples from both clinical and sub-clinical cases (10 µl) were streaked on ovine blood agar plate. Incubated under aerobic conditions at 37°C and analyzed. The isolated microorganisms were analyzed according to National Mastitis Council (1999) by colony morphology, haemolysis, Gram stain and catalase tests. Animals included in the study were grouped according to their breed, parity, teat condition, clinical condition of mammary gland, hygienic status of the farms, milking activities and the management systems in practice.

Data Analysis

The collected data on breed, age, parity, sanitation, husbandry system, teat lesion and findings from clinical and laboratory examinations were entered into MS-Excel sheet and analysized using SPSS 11.5 software for statistical package. For all the analysis performed, 95% CI and $P < 0.05$ were set for significance.

Results

Prevalence

From the total of 301 dairy cows and 1,204 quarters examined, an overall prevalence of mastitis was recorded on 185 (61.5%) and 278 (23.1 %) at cow and quarter level, respectively. The prevalence of clinical and subclinical mastitis observed at cow level was 4.0% and 57.5%, respectively (Table1). Out of 1,204 quarters examined, 58 (4.8%) were blind teats. From the remaining functional teats (1,146 quarters) examined, 23.1% (n= 278) of them showed evidence of clinical or sub-clinical mastitis.

Risk factors

Age, parity, breed and teat health condition (with or without lesion) significantly ($P<0.05$) influenced the prevalence of mastitis both in Holstein and crossbred dairy cows. Significantly higher prevalence (72.5%) was obtained in farms with poor hygienic status than those managed at relatively good hygienic level (50.7%). Considerably higher prevalence of mastitis was observed in old aged (> 8 years) cows, 78.2% followed by those > 5 and < 8 years, 56.0% than in cows with < 5 years, 47.3% (Table 2).

Bacteriological Examination

From the collected and processed milk samples, a total of 245 (18 from clinical and 227 from sub clinical) bacterial isolates were obtained. Among the major bacterial pathogens isolated and identified, *Staphylococci spp*. was found the prominent bacteria isolate. Coagulase negative staphylococcus accounted

Table 1: Prevalence of clinical and sub-clinical mastitis in Holstein and Holstein-Zebu cross breed dairy cows in and around Mekele (N= 301 dairy cows and 1,204 quarters/teats)

Mastitis	Number of animals affected (%)	Number of quarters affected (%)
Clinical-mastitis	12 (4.0)	18 (1.5)
Sub-clinical- mastitis	173 (57.5)	260 (21.6)
Total	**185 (61.5)**	**278 (23.1)**

Table 2: Summary of the association of intrinsic and extrinsic risk factors with relative prevalence of mastitis in Holstein and Holstein-Zebu cross breed dairy cows in and around Mekele

Variable (risk factor)	Total number of animals examined	Number of animals affected (%)	χ^2	P-value
Breed				
Holstein	145	101 (69.7)	7.9	0.006
Cross	156	84 (53.9)		
Teat condition				
With lesion	59	44 (74.6)	5.3	0.025
Without lesion	242	141 (58.3)		
Parity				
≤ 3calves	137	76 (55.5)		
≥ 4 ≤ 7 calves	91	54 (59.3)	8.2	0.017
≥ 7calves	73	55 (75.3)		
Age				
≤ 5 year	91	43 (47.3)		
> 5 ≤ 8 years	100	56 (56.0)	22.0	0.000
> 8 years	110	86 (78.2)		
Sanitation				
Poor	149	108 (72.5)	19.0	0.000
Good	152	77 (50.7)		

to 50.2% of the major bacteria identified from sub-clinical mastitis, while the largest proportion (22.9%) of bacteria isolated from clinical mastitis was contributed by *staphylococcus aureus*. Summary of the relative prevalence of various bacterial species isolated from clinical and sub clinical mastitis is presented in Table 3.

Discussion

The overall prevalence of bovine mastitis (61.5%) obtained in this study is in agreement with the findings reported in other parts of Ethiopia (Lakew *et al.,* 2009). However, it is higher than reports from some other parts of the country (Getahun *et al.,* 2008; Tolosa *et al.,* 2009). Contrary to the present study, significantly higher findings on prevalence of bovine mastitis was also reported (Aregawi, 1992). These differences of bovine mastitis in different parts of the country might be attributed to differences in management practices of the farms, breeds of dairy cows considered and other factors. Bartett *et al.,* (1992) documented that the differences in the prevalence of bovine mastitis in dairy farms could be associated with different factors such as climatic condition of the geographical location, breed and level of production of the study animal and management practices. Moreover, such wider differences in the prevalence of bovine mastitis could also be attributed to variation

in availability, coverage and effectiveness of the veterinary services and awareness level of the dairy owners on bovine mastitis and risk managements.

Highest prevalence of mastitis was obtained in older cows than in the younger once. This finding is in agreement with the work of Smith Bradford (1996) who reported increased incidence of infected quarters with age greater than 7 years. Moreover, Quinn *et al.,* (1994) also documented that older cows especially after 4 lactations are more prone to mastitis. Similarly, higher prevalence was found in cows with increased parity numbers (Getahun *et al.,* 2008; Lakew *et al.,* 2009; Tolosa *et al.,* 2009).

In the current study, the prevalence of infection had strong significant variation ($P<0.05$) among cows with poor sanitation and those managed under good sanitary condition. This is in line with other authors in the region (Alemaw *et al.,* 2008; Lakew *et al.,* 2009; Tolosa *et al.,* 2009). The variability could also be attributed to genetic variation in diseases resistance among the breeds of dairy cows kept in addition to the variation in hygienic practices like milking conditions and other related factors. Statistically higher prevalence was found in Holstein Friesian than in their crosses with local zebu breeds ($P<0.05$) and this finding is in agreement with the previous reports (Alemaw *et al.,* 2008; Lakew *et al.,* 2009; Tolosa *et al.,* 2009). Quinn *et al.,* (1994) found higher yielding cows to be more susceptible to mastitis because of position of their teat and udder and anatomy of teat canal making them prone to injury. Moreover, the same authors also suggested that the less efficiency of phagocytic cells in the higher yielding cows as a result of dilution might also be the reason for higher prevalence of mastitis in higher yielding cows. Prevalence of mastitis in this study was statistically associated with udder or teat injuries ($\chi^2 = 5.329$, $P<0.05$) as also reported by previous workers (Lake *et al.,* 2009; Tolosa *et al.,* 2009).

In the current study, *Staphylococci* and *Streptococci species* accounted to 73.1 and 23.65 of the bacterial causes of mastitis. Atyabi *et al.,* (2006) obtained a proportion of streptococcal organisms to be 33.54% from mastitic cattle around Tehran in Iran. Lower percentage (14.18%) of *Staphylococci* and *Streptococcal species* were found in other works than in the current study (Sori *et al.,* 2005; Lakew *et al.,* 2009). In the current study *E. coli* accounted to the least proportion (3.3% overall, 11.1% from clinical mastitis 2.6% from clinical mastitis) of the bacteria isolated is in contrary to the report of Reetha *et al.,* (2006) who found 46.7% of E. coli from clinical mastitis. These variabilities might be due to the difference on the application and effectiveness of udder washing and drying, post milking teat dipping and drying, inter-cow hand washing and disinfection practices. Furthermore, it is also affected by the production status and productivity of the individual dairy cow. Moreover, animal management systems were also suggested as possible reasons for variation of prevalence of bacterial pathogens. Goldberg *et al.,* (1992) reported lower incidence of environmental pathogens on teat ends in pastured cattle

Table 3: Summary of bacterial species isolated from clinical and sub clinical mastitic quarters/ teats in Holstein and Holstein-Zebu cross breed dairy cows in and around Mekele

Bacteria isolates identified	Mastitis status		
	Clinical	Sub clinical	Total
	Number of isolate (%)	Number of isolate (%)	Number (%)
Staphylococcus aureus	8 (44.4%)	48(21.2%)	56(22. 9%)
CNS*	5(27.8%)	118 (52.0 %)	123 (50.2%)
Streptococcus agalactiae	3 (16.7%)	37(16.3%)	40 (16. 3%)
Escherichia coli	2 (11.1%)	6(2.6%)	8 (3.3%)
Streptococcus dysagalactie	0 (0%)	18(7.9%)	18 (7.3%)
Total	**18 (100%)**	**227 (100%)**	**245 (100%)**

than in confined cattle. This indicates an increased risk of exposure to environmental pathogens in confined herds, while in grazing systems bacterial contamination of teats is minimized.

Conclusion and recommendation

This study showed that mastitis is a major health problem of dairy cows in the study area and thus, definitely will have an adverse effects on productivity of the dairy cows in the area. The prevalence of mastitis is more common in old aged, pure exotic breeds, cows with teat lesions and with many parity than the young, cross bred, free of teat lesion and with few parity. The insufficient hygienic status of the dairy environment and associated practices were also found to be important predisposing factors of mastitis in the study area. The most predominant bacteria isolated from sub clinical mastitis is coagulase negative *staphylococcus* and *staphylococcus aureus*. Culling of old aged cows, improving the overall sanitation of farm and milking practices, screening, early detection and treatment of mastitis and proper management of teat/udder injuries are recommended to combat bovine mastitis in the area.

Acknowledgements

Authors would like to thank the support given by Mekelle regional diagnostic laboratory during the study period. Our special thanks go to Dr, Girmay G/silassie for his unreserved support during the study period and Jimma University College of Agriculture and Veterinary Medicine for research funding.

References

Alemaw G, Zerihun A, Asfaw Y. 2008. Bovine mastitis and its association with selected risk factors in smallholder dairy farms in and around Bahir Dar, Ethiopia, *Tropical Animal Health and Production,* 40(6), 427-432.

Aregawi M. 1992. Incidence of mastitis and its influence on milk yield and composition. DVM thesis. *Faculty of Veterinary Medicine*, Addis Ababa University, Ethiopia.

Atyabi N, Vodjgani M, Gharagozloo F and Bahonar A. 2006. Prevalence of bacterial mastitis in cattle from the farms around Tehran. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 7 (3)16: 76-79.

Bartett P, Joust V W, Devid J W, Charles D G. 1991. Temporal patterns of lost milk production following clinical mastitis in large Michigan Holstein herd, *Journal of dairy Science*, 74:1561-1572.

Getahun K, Kelay B, Bekana M and Lobago F. 2008. Bovine mastitis and antibiotic resistance patterns in Selalle smallholder dairy farms, central Ethiopia, *Tropical Animal Health and Production*, 40 (4), 261-268.

Goldberg J J, Wildman E E, Pankey J W, Kunkel J R, Howard D B, Murphy B M. 1992. The influence of intensively managed rotational grazing, traditional continuous grazing, and confinement housing on bulk tank milk quality and udder health, *Journal of dairy Science,* 75:96-104.

Lakew M, Tolosa T, Tigre W. 2009. Prevalence And Major Bacterial Causes Of Bovine Mastitis In Asella, South Eastern Ethiopia, *Tropical Animal Health and Production*, 41 (7):1525-1530.

National Mastitis Council, 1999. Protocol developed by the National Mastitis Council Research committe.

Quinn P J, Carter M E, Markey B and Carter G R. 1994 .Clinical veterinary microbiology, (Wolf publishing, London, England), 327 – 344.

Radostits O M, Blood D C, Gay C C and Hinchcliff K W. 2000. Veterinary Medicine: A text book of the disease of cattle, sheep, pigs, goats, and horses .9th edn., (W.B . Saunders, London), 603 – 700.

Reetha L, Babu M, Pugazhenthi T R, Johnson Rajewar J. 2006. Clinical mastitis in cow and their response to invitrosensetiviy. *Tamilnadu Journal of Veterinary & Animal Sciences,* 2(4): 140-141.

Richard W. 1993. Dairying. Tropical Agriculturalist. 1st edn., Macmillan press London, 43-48.

Smith Bradford, P., 1996. Large animal internal medicine. 2nd edn. Musby, U.S.A. 2: 1188-1193.

Sori, H., Zerihun, A., Abdicho, S., 2005. Dairy cattle mastitis in and around Sebeta, Ethiopia. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 3 (4): 332-338.

Tolosa T, Gebretsadik Z and Regassa F. (2009): Bovine Mastitis and its associated risk factors in Lactating Cows In Wolayta Soddo, Southern Ethiopia, *Bulletin of Animal Health and Production in Africa,* 57(4).

Temesgen W.1999. A study on Bovine Mastitis in and around Mekelle, DVM thesis, Faculty of Veterinary Medicine, Addis Ababa University, Debre zeit, Ethiopia.

Thrusfield M. 1995. Veterinary Epidemiology. 2nd Ed. Blackwell: Oxford, UK, 183

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF BOVINE TUBERCULOSIS AND MOST COMMON STRAINS OF MYCOBACTERIUM BOVIS IN PLATEAU STATE, NORTH CENTRAL NIGERIA.

Damina M S[1], Owoludun O A[1], Ameh J A[2], Aliyu M M[3]
[1]National Veterinary Research Institute, Vom, Nigeria.
[2]Department of Veterinary Microbiology and Parasitology, University of Maiduguri, Nigeria.
[3]Department of Veterinary Medicine, University of Maiduguri, Nigeria.

Abstract

Even though tuberculosis is endemic in Nigeria, information on the epidemiology of the disease especially bovine tuberculosis is still very scanty. Variable Number of Tandem Repeat (VNTR) was carried out on 113 tissue samples to have an idea of not only the epidemiology of bovine tuberculosis but also the most common strains of *Mycobacterium bovis* circulating in Plateau State. A total of twenty eight (28) different VNTR patterns were obtained from the analysis with genotypes 5 5 5 4 3; 5 5 4 4 3 and 5 5 3 4 3 being the predominant isolates. Out of 113 samples available for generating dendograms, 71 (51.8%) had complete VNTR patterns. Several other profiles which have not been reported from previous studies in Nigeria were observed in this study and it is evident that bovine tuberculosis is prevalent in Plateau State.

Key Words: Plateau, Tuberculosis, Molecular, Bovine, Epidemiology

L'EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE DE LA TUBERCULOSE BOVINE ET LES SOUCHES LES PLUS COURANTES DE MYCOBACTERIUM BOVIS DANS L'ETAT DU PLATEAU DANS LE CENTRE-NORD DU NIGERIA.

Resume

Même si la tuberculose est endémique au Nigeria, les informations sur l'épidémiologie de la maladie, en particulier la tuberculose bovine, sont encore très sommaires. Une répétition en tandem polymorphe (VNTR) a été réalisée sur 113 échantillons de tissus afin d'avoir une idée non seulement de l'épidémiologie de la tuberculose bovine, mais aussi des souches les plus courantes de Mycobacterium bovis qui circulent dans l'État du Plateau. Au total, vingt huit (28) modèles différents de VNTR ont été obtenus de l'analyse, les génotypes 5 5 5 4 3; 5 5 4 4 3 et 5 5 3 4 3 étant les isolats prédominants. Sur 113 échantillons disponibles pour générer des dendrogrammes, 71 (51,8%) avaient des schémas VNTR complets. Plusieurs autres profils qui n'ont pas été signalés dans les études précédentes au Nigeria ont été observés dans cette étude, et il est manifeste que la tuberculose bovine est répandue dans l'État du Plateau.

Mots-clés: Plateau, Tuberculose, Moléculaire, Bovine, Epidemiologie

Corresponding author: daminsak@yahoo.com

Introduction

Bovine tuberculosis is a zoonosis that not only causes huge economic losses but also poses a great risk to human beings. Bovine tuberculosis is present in almost all African countries, affecting both domestic and wild animals (Ayele *et al.,* 2004). The disease is not only causing huge economic losses but also a great threat to both animal and human health in many countries (Cobos- Marin *et al.,* 2003). Human tuberculosis of animal origin particularly that caused by *Mycobacterium bovis*, is becoming increasingly important in developing countries (Ameni *et al.,* 2007). There is a substantial lack of knowledge on the distribution, epidemiological patterns and zoonotic implications of bovine tuberculosis in developing countries especially in Africa (WHO, 1994). In rural areas, livestock farmers live in close contact with cattle which if infected with tuberculosis are sources of preventable infection (Cook *et al.,* 1996). Farmers, abattoir workers, butchers veterinarians and those who consume products from infected animals are especially at risk of acquiring the disease from animals (Milian-Suazo *et al.,* 2002 and Asiak *et al.,* 2007). Lack of quarantine and the smuggling of live animals across boundaries, which are very common in African countries, promote the transmission of *Mycobacterium bovis* (Ameni *et al.,* 2007). Microscopy and culture are still the major backbone for laboratory diagnosis of tuberculosis even though new methods including molecular diagnostic tests have evolved over the last two decades (Sang-Nae and Patrick, 2007). In countries with national bovine tuberculosis eradication programmes, clinical evidence of tuberculosis in cattle is seldom encountered because the intradermal tuberculin test enables presumptive diagnosis and elimination of infected animals before signs appear (Oloya *et al.,* 2007). The tuberculin test is the primary diagnostic test for tuberculosis in both cattle and humans (Ameni *et al.,* 2008). Post-mortem examinations followed by culture of suspected lesions in animals are important tools in confirming the presence of the disease (Oloya *et al.,* 2007). During the past two decades, a number of variable genetic markers have been uncovered that permit molecular typing of Mycobacterium tuberculosis complex organisms (Behr and Mostowy, 2007). These molecular techniques can differentiate between different mycobacterial species and notable among them are spoligotyping, variable number tandem repeat (VNTR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) using the insertion sequence 6110 (IS6110) (Oloya *et al.,* 2007). The VNTR typing technique is a recently developed PCR- based method which does not require large quantities of DNA and sequences used include exact tandem repeat (ETR), mycobacterial interspersed repetitive unit (MIRU), and 2 sets of Queen`s University Belfast (QUB) VNTRs (Hilty *et al.,* 2005). VNTR typing measures variation in the number of repeats at a series of loci dispersed throughout the Mycobacterium genome (Smith *et al.,* 2006). The development of PCR-based genotyping techniques offers promise for real time molecular epidemiological studies of tuberculosis and the techniques are faster and show more possibilities for automation (Hilty *et al.,* 2005). VNTR is a high resolution, automated typing method that involves multiple PCR assays and focuses on 12 defined regions of the Mycobacterium genome that contain variable number repeats of the genetic elements, known as MIRU. These units are 51 to 77 base pairs (bp), and the number of repetitive units in a locus is determined by the size of the PCR products, which have specific primers that hybridize to the contiguous MIRU regions (BTBC, 2008). The number of repeated units represent a specific allele for each locus and the variation at the 12 MIRU loci generates an allele profile for each strain of Mycobacterium, the resulting 12-digit output allows for easy comparison of results across laboratories. VNTR technique has shown that the same spoligotypes of Mycobacterium tuberculosis complex may be split into a number of VNTR types. The technique has also been shown to discriminate between *Mycobacterium bovis* isolates with the same spoligotype but from different geographical areas (Smith *et*

al., 2006). This study was conducted using variable number of tandem repeat (VNTR), a PCR-based molecular technique to determine the epidemiology of bovine tuberculosis as well as to examine the most common strains of *Mycobacterium bovis* circulating in the study area.

Materials and Methods

Tissue Sample Collection

Tissue samples from tuberculous organs (lung, liver, spleen, lymph node, kidney, mammary gland and muscle) were collected from 150 slaughtered cattle showing lesions typical of tuberculosis. The samples were collected from cattle slaughtered at Jos and Bukuru abattoirs and this was done following thorough post mortem examination of the animals after slaughter. Samples were collected using sterile scissors and forceps into clean, sterile and properly labeled plastic specimen containers with top screw caps. The samples were transported on ice packs to the laboratory for analysis while those that could not be processed immediately were stored in the refrigerator overnight. Abattoir records were also consulted in order to know the number of cattle slaughtered during the study period.

DNA Extraction from Tuberculous Organs

Tissue Homogenization

Using sterile forceps and blades, 2g each of all the tissues (n= 150) collected was transferred into sterile pestle and mortar containing sterile glass beads and ground together. 1.5 ml of phosphate buffer saline (PBS) was added to the ground tissue and mixed well to form a homogenate which was then transferred without sieving into 1.5 ml, clean microcentrifuge tubes that had been properly labeled. These were stored at -20°C until needed for DNA extraction.

DNA Extraction from Tissues

DNA extraction was carried out using kit extraction (Zymo Research®) according to manufacturer`s instructions. Samples stored at -20°C were removed and allowed to thaw at room temperature. This was followed by vortexing of the homogenate and incubation at room temperature for 5 minutes. Ninety five micro liters (95µl) of the supernatant, 95µl of 2X digestion buffer and 10µl of proteinase K were transferred into well labeled clean 1.5ml microcentrifuge tubes and the mixture vortexed and incubated for 3 hours at 55°C. Seven hundred micro liters (700µl) of genomic lysis buffer was added, mixed thoroughly by vortexing and followed by centrifugation at 10,000 rpm for one minute. The supernatant was transferred to a spin column in a collection tube and centrifuged at 10,000 rpm for one minute. Two hundred micro liters (200µl) of DNA pre-wash buffer was added to the spin column in a new collection tube and centrifuged at 10,000 rpm for one minute. This was followed by the addition of 400µl of g- DNA wash buffer to the spin column and centrifugation at 10,000 rpm for one minute. The spin column was then transferred to a clean microcentrifuge tube and 70µl of DNA elution buffer was added. The tubes were incubated at room temperature for 5 minutes and this was followed by centrifugation at 14,000 rpm for 30 seconds. The eluted DNA (70µl) was stored at -20°C until needed for molecular applications.

Variable Number of Tandem Repeat (VNTR)

This was performed using the method described by (Frothingham and Meeker-O`Connell, 1998). The reaction mixture for the five loci (ETR- A, B, C, D, and E) contained PCR buffer made up of $MgC_{l2,}$ dNTPs, and Tag DNA Polymerase, primer pairs and Mycobacterial DNA template in a final volume of 25µl. The reaction was carried out in a Thermal cycler (Applied Biosystems 2700) beginning with an initial denaturation at 94°C for 5 minutes followed by 40 cycles of 94°C for 1 minute, 62°C for 1 minute, and 72°C for 1 minute 30 seconds. This was followed by a final extension at 72oC for 10 minutes. PCR products were loaded in a 2%

Table 1: Primer sequences used for multilocus variable analysis (VNTR)

VNTR locus	Primer sequence	Repeat unit size (bp)
ETR A	CGAAGCCTGGGGTGCCCGCGATTT AAATCGGTCCCATCACCTTCTTAT	75
ETR B	GCGAACACCAGGACAGCATCATG GGCATGCCGGTGATCGAGTGG	57
ETR C	GTGAGTCGCTGCAGAACCTGCAG GGCGTCTTGACCTCCACGAGTG	58
ETR D	CAGGTCACAACGAGAGGAAGAGC GCGGATCGGCCAGCGACTCCTC	77
ETR E	CTTCGGGGTCGAAGAGAGCCTC CGGAACGCTGGTCACCACCTAAG	53

agarose gel stained with ethidium bromide and ran for 1 hour. The size of amplicons was estimated by comparison with the size of a 100bp DNA ladder and this was visualized under UV light.

3.7: Data Analysis

The data obtained from this study were analyzed using BioNumeric software 3.0 version.

Results

Out of a total of 3381 animals slaughtered during the study period, 150 (4.4%) had lesions typical of tuberculosis. One hundred and thirty seven (137) isolates were used for VNTR and gave varying allele profiles with 5 allele copy number being the most common using ETRs A, B, and C loci (Figures 1, 2 and 3). ETRs D and E had 4 and 3 allele copy numbers as the most predominant (Table 2). A total of twenty five (28) different VNTR patterns were obtained from the analysis with genotypes 5 5 5 4 3; 5 5 4 4 3 and 5 5 3 4 3 being the predominant of the isolates (Table 3).

Discussion

Information on the epidemiology of tuberculosis in Nigeria, especially bovine tuberculosis is still scanty and this may be due to lack of adequate laboratory facilities required for proper diagnosis. However, the presence of the disease is reported in most parts of the country (Cadmus et al, 1999; Dusai Abdullahi, 1994; and Aliyu *et al.,* 2009). Variable Number Tandem Repeat (VNTR) analysis was carried out on 137 tissue samples. From this study it is evident that tuberculosis is prevalent in cattle and possibly their owners in the study area and the trend may increase with the increased migration of herdsmen to the cities. Based on gross lesions suggestive of tuberculosis, an overall prevalence of 4.4% was recorded in this study. This is higher than the 2.8% reported in Borno and Yobe States in northeastern Nigeria. The 5 5 5 4 3; 5 5 4 4 3, and 5 5 3 4 3 being the predominant genotypes observed this study is in agreement with the findings of Muller *et al.,* (2009), who reported that genotype 5 5 3 4 3 3 is the most common in south western Nigeria even though this study did not include locus F in the VNTR analysis. The three most common strains observed in this study showed allele profiles previously reported for Mycobacterium bovis and common to the strains with the spoligotype pattern SBO944, a member of the African1 (Af1) clonal complex found only in west central Africa (Muller et al., 2009). Several other profiles which have not been reported from previous studies in Nigeria were observed in this study (Table 3). From a total of 113 samples (82.5%) available for generating VNTR dendograms, 71 (51.8%) had complete VNTR patterns. Large number of dropouts (incomplete patterns) was observed in the VNTR patterns and this may be connected with the fact that DNA was extracted directly from tissues without culturing of the organism. It may also be due to temperature effect on the DNA during

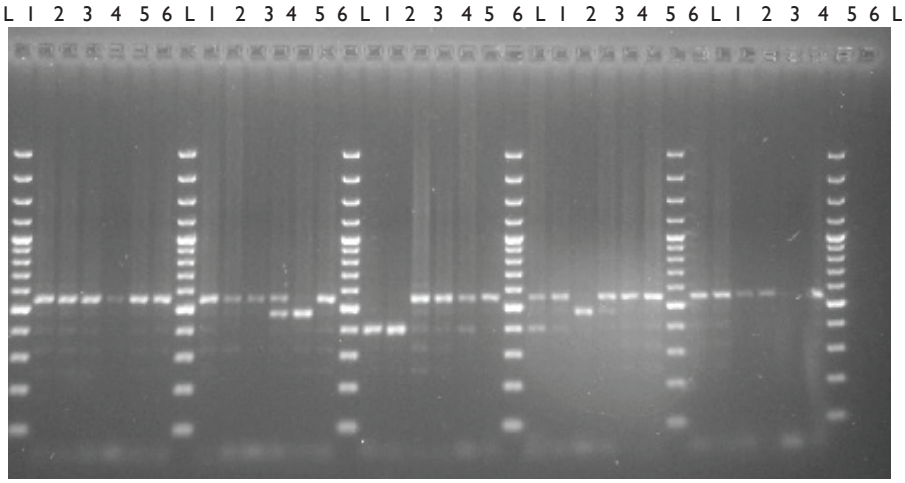


Fig. 1: VNTR of tissue samples, ETR A banding pattern L- 100bp DNA ladder, 1 to 6- different allele profiles of isolates

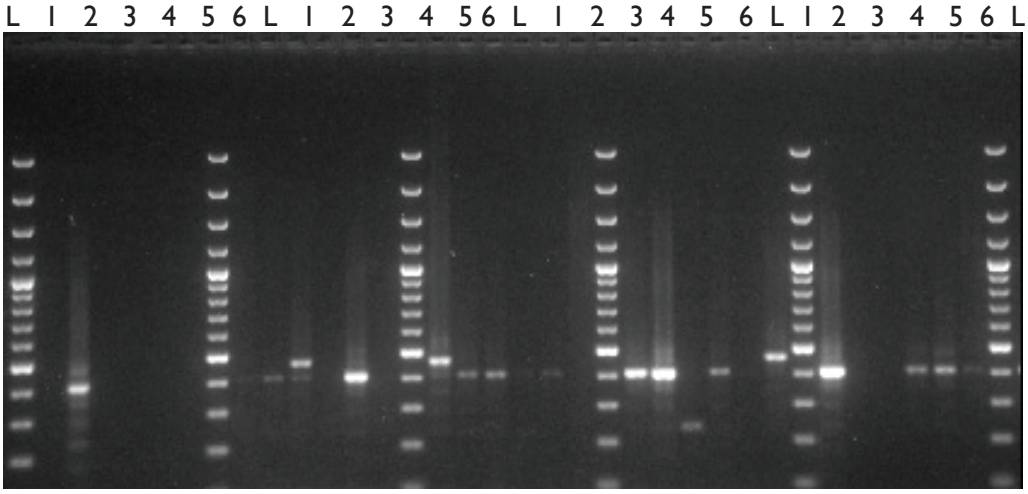


Fig. 2: VNTR, ETR B banding pattern L- 100bp DNA ladder,1 to 6- different allele profiles of isolates

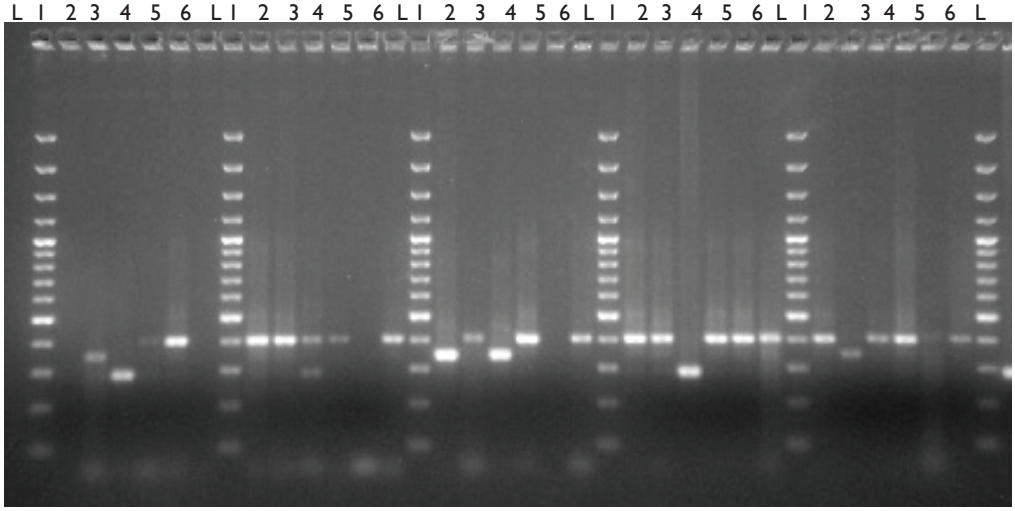


Fig. 3: VNTR, ETR C banding pattern L-100bp DNA ladder, 1 to 6- different allele profiles of isolates

Table 2: VNTR locus and allele profile of 137 Isolates

VNTR Locus	Repeat unit Length (bp)	Allele Copy numbers
2165 (ETR A)	75	2 6 16 108 1
2461 (ETR B)	57	5 4 4 89 10 1
0577 (ETR C)	58	1 26 24 85 1
580 (ETR D)	77	87
3192 (ETR E)	53	3 133

Table 3: VNTR Pattern of 71 isolates with complete patterns using five loci (ETR A, B, C, D, and E)

VNTR	FREQUENCY
5 5 5 4 3	25
5 5 4 4 3	7
5 5 3 4 3	11
5 6 5 4 3	1
3 5 3 4 3	3
4 4 5 4 3	1
4 3 4 4 3	1
4 5 5 4 3	2
4 5 3 4 3	2
5 5 4 3 3	1
4 2 5 4 3	2
3 5 5 4 3	2
5 5 6 4 3	1
3 6 3 4 3	1
5 4 4 4 3	1
2 2 5 4 3	1
2 5 5 4 3	1
5 3 5 4 3	1
5 9 5 4 3	1
5 2 5 4 3	1
5 6 3 4 3	1
4 6 5 4 3	1
5 5 3 3 3	1
5 5 5 4 2	1
5 5 2 4 3	1
Total	**71**

the course of transportation from Nigeria to South Africa. However 52 (73.2%) of the 71 belonged to one of nine clusters and the cluster size varied from 2 to 29 isolates per cluster. 14 isolates had unique patterns, thereby giving a total of 23 different patterns from all the samples. Cluster cases are usually part of a chain of transmission which means there could have been direct contact and transmission of the infection. In large clusters, the transmission may have occurred over time and there could be an ongoing infection. Unique cases on the other hand are considered isolated infections and there is no evidence of transmission, which may mean a new infection or a form of reactivated infection. Even though this study reveals the presence of different *M. bovis* strains in the study area. This may be connected to the fact that most cattle slaughtered in these areas come from different States of northern Nigeria and sometimes from neighboring countries like Cameroun, Chad and Niger in search of grazing pastures. Disease prevention and control especially bovine tuberculosis is usually minimal under this extensive system of management. This poses a major health threat not only to livestock but to the owners who live in close association with their animals. Seven (7) of the isolates produced multiple allele copy numbers on VNTR which may suggest mixed infection.

Conclusion

This study confirms the presence bovine tuberculosis in Plateau State, north central Nigeria. A total of 28 VNTR patterns were for the first time obtained from analyzed samples using DNA directly extracted from tissues. This is also the first study on the epidemiology of *M. bovis* in Plateau State that involves molecular studies. However, there is need for a more elaborate study that would give a detailed information on the different strains of Mycobacteria circulating and the threat posed by *M. bovis* to both human and

animal health in Plateau State and Nigeria as a whole.

References

Aliyu M M, Adamu J Y and Bilyaminu Y A (2009): Current prevalence of tuberculous lesions among slaughtered cattle in northeastern States of Nigeria, Revue Elevage Medicine Veterinaire Pays tropical: 62 (1): 13-15.

Ameni G A, Aseffa A, Engers H, Young D, Gordon S, Hewinson G and Vordermeier M. (2007): High prevalence and increased severity of pathology of Bovine Tuberculosis in Holsteins compared to Zebu breeds under field Cattle husbandry in central Ethiopia; Clinical and vaccine immunology 14 (10): 1356-1361.

Ameni G, Hewinson G Aseffa, Young A D and Vordermeier M. (2008): Appraisal of Interpretation Creteria for the Comparative Intradermal Tuberculin Test for Diagnosis of Tuberculosis in Cattle in Central Ethopia; Clinical and Vaccine Immunology 15 (8): 1272- 1276.

Asiak I E, Ohore O G, Emikpe B O, Abatan O O and Ockiya M A. (2007): The use of ELISA in the detection of Bovine Tuberculosis in Slaughtered Trade Cattle and Sedentary Herds in South West Nigeria; Journal of Animal and Veterinary Advances 6 (7): 883-886.

Ayele W Y, Neil S D, Zinsstag J, Weiss M G and Pavlik I. (2004): Bovine Tuberculosis: an old disease but a new threat to Africa; International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases 8 (8): 924-937.

Behr M A and Mostowy (2007): Molecular tools for typing and branding the Tubercle Bacillus; Current Molecular Medicine (7): 309- 317.
Bereau of Tuberculosis Control (2008): Tuberculosis, Clinical Policies and Protocols, Fourth Edition.

Cadmus S I B, Olu Gasa B O and Ogundipe G A T (1999): The prevalence and zoonotic importance of tuberculosis in Ibadan. In: Proceedings of the 36th annual conference of NVMA, Kaduna, Nigeria, 25- 31Oct. 1999.

Cobos-Marin L, Montes-Vargas T Rivera-Guteierrez S, Licea-Navarro A, Gonzalez-y-Merchand J A and Estrada-Garcia I. (2003): A novel multiplex- PCR for the rapid identification of Mycobacterium bovis in clinical isolates of both veterinary and human origin, Epidemiology of Infections (130): 485- 490.

Cook A J C, Tuchili L M, Buve A, Foster S D, Godfrey-Fausett P, Pandey G S and McAdam K P W J. (1996): Human and Bovine Tuberculosis in the Monze District of Zambia; a cross sectional study; British Veterinary Journal 1 (152): 37-44.

Dusai D H M and Abdullahi D A. (1994): Current status of bovine tuberculosis at Sokoto abattoir, Trop. Vet., 12: 134- 137.

Frothingham R and Meeker-O`Connell, W. (1998): Genetic diversity in the Mycobacterium tuberculosis complex based on Variable Numbers of Tandem DNA Repeat, Microbiology (144: 1189-1196.

Hilty M, Diguimbaye C, Schelling E, Baggi F Tanner M and Zinsstag J (2005): Evaluation of the discriminatory power of Variable Number Tandem Repeat (VNTR) typing of Mycobacterium bovis strains, Veterinary Microbiology (109): 217- 222.

Milian-Suazo F, Banda-Ruiz V, Ramirez- Casillas, C and Arriaga- Diaz C. (2002): Genotyping of Mycobacterium bovis by geographic location within Mexico, Preventive Veterinary Medicine (55): 255-264.

Muller B, Hilty M, Berg S Garcia-Pelayo, M C, Dale J, Boschiroli M L, Cadmus S, Ngandolo B N R, Godreuil S Diguimbaye-Djaibe C, Kazwala R, Bonfoh B, Njanpop- Lafourcade B M, Sahraoui N, Guetarni D, Aseffa A, Mekonnen M H, Razanamparany V R, Ramarokoto H, Djonne B, Oloya J, Machado A, Mucavele C, Skjerve E, Portaels F, Rigouts L, Michel A, Muller A, Kallenius G. Van Helden P D, Hewinson R G, Zinsstag J, Gordon S V and Smith N H. (2009): African 1, an Epidemiologically Important Clonal Complex of Mycobacterium bovis dominant in Mali, Nigeria, Cameroun, and Chad, Journal of Bacteriology, 191(6): 1951- 1960.

Oloya J, Kazwala R, Lund A, Opuda-Asibo J, Demelash B, Skjerve E, Johansen T B and Djonne B. (2007): Characterization of Mycobacteria isolated from slaughtered cattle in pastoral regions of Uganda, BMC Microbiology (7): 95

Sang-Nae Cho and Patrick J. Brennan (2007): Tubercuolosis: Diagnostics, Tuberculosis; 87: 514-517.

Smith N H, Gordon S V, Rua-Domenech R, Clifton-Hadley R S and Hewinson R G. (2006): Bottlenecks and Broomsticks: the molecular evolution of Mycobacterium bovis; Nature Reviews 4: 670-681.

WHO, (1994): Zoonotic Tuberculosis (Mycobacterium bovis); Memorandum from a WHO meeting (with the participation of FAO), Bulletin of the World Health Organization, 72 (6): 851- 857

SÉROPRÉVALENCE DE LA NÉOSPOROSE ET CONSÉQUENCES SUR LA FERTILITÉ DES VACHES LAITIÈRES À DAKAR – SÉNÉGAL

Kamga – Waladjo AR[1], Mougang FJ[1], Diallo PM[1], Diop PEH[1], Tainturier D[2].
[1]Service de chirurgie – Reproduction, Ecole Inter – Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV) de Dakar – Sénégal. BP : 5077 Dakar Fann – Sénégal.
[2]Service de Biotechnologies et Pathologies de la Reproduction, Ecole Nationale Vétérinaire, Agro-alimentaire et de l'Alimentation. Chantrerie – BP 40706 – 44307 Nantes Cedex 3 – France.

Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer les conséquences de la prévalence sérologique de N. caninum sur la fertilité des vaches laitières de la zone péri – urbaine de Dakar – Sénégal. Elle a été réalisée de janvier 2006 à décembre 2010 et a porté sur 400 vaches laitières (2 à 10 ans) en stabulation dans ces élevages. Les femelles identifiées par des boucles auriculaires ont été inséminées sur chaleurs naturelles et/ou induites. Le diagnostic de gestation a été réalisé par palpation rectale 60 jours après l'insémination. Un prélèvement sanguin a été effectué sur chaque vache. Les sérums obtenus ont été analysés pour la recherche des anticorps anti N. caninum avec le coffret ELISA compétitif multi – espèces (VMRD Inc, Pullman, WA 99163, U.S.A).

La séroprévalence de la néosporose, le taux de gestation et de mise bas ont été respectivement de 23,8%, 43,6% et 95,6% dans ces troupeaux. Les taux de gestation et de mise bas ont été respectivement de 33,1% et 92,1% chez les vaches séropositives contre 51,7% et 97,3% chez leurs congénères séronégatives ($p<0,05$). Les vaches séropositives ont nécessité plus d'inséminations pour obtenir une gestation par rapport aux séronégatives (3,0 vs 1,9 inséminations/gestation) ($p<0,05$). Un allongement de l'intervalle vêlage insémination fécondante de 22,1 jours a été observé chez les femelles séropositives comparées aux séronégatives ($p<0,05$).

Ainsi, cette protozoose a un impact économique en raison de l'augmentation du taux d'infertilité qu'elle est susceptible d'induire dans des troupeaux bovins.

Mots clés: Vaches laitières; Neospora caninum; Séroprévalence; fertilité ; Sénégal.

SÉROPRÉVALENCE OF NÉOSPOROSIS AND ITS EFFECTS ON DAIRY COWS FERTILITY, DAKAR, SÉNÉGAL

Résumé

The purpose of this study iswas to evaluate the effects of N. caninum serological prevalence oninfection on the fertility of dairy cows in the area surrounding Dakar, Senegal. This study was conducted from January 2006 to December 2010 and involved 400 dairy cows (aged 2 to -10 years old.) stabled on these farms. Females identified by ear tagsthe animals were inseminated on natural and / or induced oestrus. Pregnancy status was assessed by rectal palpation 60 days after insemination. A blood sample was collected from each cow and .The sera obtained were analyzed tested for N. caninum antibodies with the multi - species cELISA kit kit(VMRD Inc., Pullman, WA 99163, USA).. On average,

Tthe seroprevalence of neosporosis, the pregnancy rate and the calving rates were respectively 23.8%, 43.6% and 95.6% in those herdsrespectively. Pregnancy and calving rates were respectively 33.1% and 92.1% respectively in seropositive cows against compared to 51.7% and 97.3% in seronegative cows ($p <0.05$). Seropositive cows required more inseminations to get pregnant compared to seronegative cows (3.0 vs 1.9 inseminations / pregnancy) ($p <0.05$). A longer calving-fertilizing insemination interval of 22.1 days was observed in seropositive females compared to negative females ($p <0.05$). In conclusion, So, this protozoan disease has an economic impact due to increased infertility rate it is likely to induce in cattlecows herds.

Corresponding author: a.kamga@eismv.org; akwar2003@yahoo.fr

Keywords: Dairy cows; Neospora caninum; Seroprevalence; Fertility; Senegal.

Introduction

Les maladies d'élevage sont celles qui ont une répercussion sur la reproduction des animaux de rente. L'infertilité et les avortements qu'elles engendrent affectent les performances de reproduction des femelles. Parmi elles, la néosporose, protozoose cosmopolite due à Neospora caninum, suscite un intérêt de plus en plus grandissant en reproduction animale en raison des pertes fœtales et des symptômes nerveux du nouveau – né qu'elle est susceptible d'induire chez de nombreux mammifères domestiques et sauvages. Les avortements sont causes de perte des produits de la gestation avec pour conséquence, l'allongement de l'intervalle entre vêlage, la réforme précoce des femelles et la réduction de la production laitière (Dubey *et al.,* 2007). Ainsi, l'importance de la néosporose en élevage est médicale, mais surtout économique (Reichel et Ellis, 2008) car les avortements peuvent se produire sur des gestations successives chez un même animal. En absence d'avortements, le fœtus peut naître mort - né ou vivant avec ou sans signe clinique (Dubey et Lindsay, 1996 ; Williams *et al.,* 2000). Protozoose décrite pour la première fois en 1988 par Dubey *et al.,* la néosporose pourrait s'associer aux autres causes pathologique, alimentaire, génétique et socio - économique responsables de l'infertilité chez la vache. Ces facteurs démeurent des obstacles pour tous les projets d'intensification de la production laitière en Afrique.

Ainsi, bien que l'utilisation à grande échelle d'outils biotechnologiques notamment l'insémination artificielle bovine en milieu paysan soit réelle au Sénégal, les taux de conception et de vêlage sont relativement faibles.

Il est opportun d'identifier les agents pathogènes responsables des troubles de la reproduction dans des élevages sédentaires où la gestion de l'alimentation est maîtrisée.

L'objectif de cette étude est d'évaluer les conséquences de la prévalence sérologique de N. caninum sur la fertilité des vaches laitières dans les élevages péri – urbains de Dakar – Sénégal.

Matériel et Méthodes

Milieu d'étude

L'étude a été réalisée dans les élevages péri-urbains de Dakar, située entre les isohyètes 400 et 600 mm. Le climat est de type sahélien. Il est caractérisé par une saison des pluies d'une durée variable (Juillet - Octobre) et d'une saison sèche (novembre à juin). Les températures les plus basses (15° - 20°C) sont enregistrées entre janvier et mars. Le reste de l'année, elles oscillent entre 20 et 40°C. Les précipitations sont très variables d'une année à l'autre et la pluviométrie moyenne annuelle est de 400 mm. La végétation est constituée de savane boisée, arbustive et herbacée. Le pâturage naturel est abondant en saison pluvieuse et se compose de graminées et de légumineuses.

Animal et gestion des troupeaux

L'étude a été réalisée de janvier 2006 à décembre 2010 sur 400 vaches âgées de 2 à 10 ans dont 300 de races exotiques et 100 métisses (produit de l'insémination artificielle des vaches locales avec la semence de taureaux de race exotique) en stabulation libre dans des fermes péri – urbaines de Dakar. (Tableau I). Toutes les femelles sont inséminées sur chaleurs naturelles et/ou induites (Spirale vaginale – $PGF_{2\alpha}$ – PMSG) avec de la semence de races équivalentes importées d'Europe.

Les animaux ont été nourris toute l'année à l'enclos avec une ration de base composée de la paille de riz et d'ensilage. Du concentré à base de maïs grain, de tourteau d'arachide et de complément minéral vitaminé, a été distribué en plus aux femelles en production. Les autres animaux ont été complémentés avec une ration d'équilibre à base de drèche de brasserie, de tourteau d'arachide, de mélasse, de graine de coton et de complément minéral vitaminé. La

Tableau I: Description de l'échantillon et séroprévalence de *Neospora caninum*.

		Statut sérologique des vaches (N. caninum)		
	Race	Positif (%)*	Négatif (%)	Total
Exotique	Girolando	13 (18,6)	57 (81,4)	70
	Jersiaise	15 (20)	60 (80)	75
	Holstein	34 (21,9)	121 (78,1)	155
Total race exotique		**62 (20,7a)**	**238 (79,3)**	**300**
Exotique X Locale	Métisse	33 (33[b])	67 (67)	100
TOTAL		**95 (23,8)**	**305 (76,2)**	**400**

*Les chiffes de la même colonne indexés de lettres différentes sont significativement différents

composition de ces concentrés a parfois varié en fonction de la disponibilité des intrants. L'eau potable est distribuée ad – libitum. Des chiens de fermes sont présents dans les exploitations ; des animaux sauvages notamment le chat tigré, des chiens errants et des volailles en divagation séjournent occasionnellement dans ces élevages.

Les animaux sélectionnés ont été identifiés à l'aide de boucles auriculaires et toutes les informations les concernant ont été enregistrées sur des fiches individuelles. Les vaches ont régulièrement été suivies par le vétérinaire responsable de l'exploitation et le Service de Reproduction de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV) de Dakar. Par ailleurs, les registres de gestion des différents troupeaux nous ont permis de nous imprégner de l'historique de chaque vache. De l'analyse de ces registres, il en ressort que les différents troupeaux ont été régulièrement vaccinés contre les principales maladies de la région notamment la fièvre aphteuse, le charbon et la pasteurellose. Les troupeaux sont indemnes de brucellose. Un programme de prophylaxie a été mis en œuvre dans tous les troupeaux sélectionnés notamment le déparasitage interne, externe et la lutte contre les trypanosomoses.

Diagnostic de gestation et suivi des vaches

Le diagnostic précoce de non - gestation a été réalisé par observation des chaleurs entre le 18ème et le 25ème jour post-insémination. La gestation a été confirmée par palpation transrectale 60 jours après l'insémination. Les vaches gestantes ont été suivies jusqu'à la mise bas et les non - gestantes ont été re-inséminées.

Prélèvement de sang

Au cours du suivi, un prélèvement de sang sur tube sec a été réalisé sur chaque femelle à la veine jugulaire. Le sang total prélevé a été conservé 1 à 2 heures à température ambiante, puis centrifugé à 3500 tours par minute pendant 10 minutes. Ainsi, 400 sérums ont été conservés à -20°C jusqu'à l'analyse sérologique. La recherche des anticorps anti N. caninum a été réalisée avec le coffret ELISA compétitif multi – espèces (VMRD Inc, Pullman, WA 99163, U.S.A) dont le protocole a été décrit par Baszler *et al.,* (2001). Par ailleurs des anticorps responsables des avortements et/ ou de l'infertilité ont été recherchés dans ces troupeaux. Il s'agit des anticorps anti Candida guillermondi (ELISA non commercialisé), Coxielle burnetii et chlamydophila sp. (ELISA non compétitif : ELISACox - LSI, Lissieu - France). En outre, Toxoplasma gondii a été recherché (ELISA Indirect multi-espèces: ID ScreenND, ID VET, Montpellier-France) pour exclure la possibilité de réaction croisée avec N. caninum dans les différents sérums.

Collecte des données et analyses statistiques

L'âge des animaux, le mode de gestion des troupeaux et les performances de reproduction notamment le délai de mise à la reproduction après le vêlage, l'intervalle vêlage insémination fécondante et le nombre d'inséminations par gestation ont été

enregistrés sur des fiches individuelles. La fertilité dans les troupeaux a été évaluée par la détermination de l'index de fertilité, des taux de non - retour en chaleurs, de gestation et de mise bas.

Les résultats sérologiques et la relation entre le sérostatut des vaches et les différents paramètres de fertilité enregistrés ont été analysés respectivement par le test de khi – deux et l'ANOVA à un facteur avec le logiciel R-Commander (R version 2.6.2; Copyright (C) 2008). La différence est statistiquement significative lorsque la valeur de $p<0,05$ (Ancelle, 2006).

Résultats

Sérologie

La séroprévalence de N. caninum a significativement été plus élevée chez les vaches métisses (33%), produits de l'insémination artificielle entre vaches locales avec de la semence de taureau de races importés comparée aux vaches exotiques (20,7%) toutes conduites en mode intensif ($p<0,05$) (Tableau I). Quant à Candida guillermondi, Coxielle burnetii, chlamydophila sp. et Toxoplasma gondii, les prévalences sérologiques observées ont respectivement été de 3,25% (13/400), 2,25% (9/400), 2% (8/400) et 0,5% (2/400).

Sérologie et paramètres de fertilité

Le taux de gestation enregistré dans le troupeau de janvier 2006 à décembre 2011 a été de 43,6%. Ce taux a significativement été moins élevé chez les vaches positives à N. caninum (33,1%), en comparaison à leurs congénères négatives (51,7%) ($p<0,05$). En conséquence, les vaches positives ont nécessité plus d'insémination pour obtenir une gestation (Index IA : 3) par rapport aux séronégatives (Index IA : 1,9) (Tableau II).

Dans ces troupeaux, le taux de mise bas est moins élevé chez les vaches séropositives à N. caninum (92,1% vs 97,3% chez les séronégatives) et par conséquent, le taux d'avortement a été plus marqué chez ces vaches (7,9% vs 2,7% chez les séronégatives) durant les cinq années de suivi du troupeau ($p<0,05$) (Tableau II).

Quant à l'intervalle vêlage – insémination fécondante, il est plus long (supérieur à 3 mois) chez les vaches séropositives à N. caninum (65,4% vs 30,2% chez les séronégatives) et en conséquence, les vaches séronégatives au parasite sont plus fécondes (69,8%) que les séropositives (34,6%) ($p<0,05$).

Un allongement de l'intervalle vêlage insémination fécondante de 22,1 jours a été observé chez les femelles séropositives comparées aux séronégatives ($p<0,05$). Néanmoins, le taux de reforme n'a pas significativement varié au sein des troupeaux de vaches positives (5,3%) et négatives (2,6%) à N. caninum (Tableau II) ($p>0,05$).

Discussion

Sérologie

Cette étude confirme la présence de N. caninum dans les troupeaux de vaches élevées en mode intensif au Sénégal avec une séroprévalence de 23,8%. Le suivi sérologique des troupeaux exclu toutes possibilités de réaction croisée entre Toxoplasma gondii (0,5%) et N. caninum (23,8%) dans les différents sérums, conformément aux normes du fabricant en raison d'une compétition entre le conjugué et les anticorps monoclonaux au cours de la réaction (Dubey *et al.,* 1997).

Les vaches métisses ont été les plus infectées (33% contre 20,7%), peut être en raison de l'origine de leurs mères principalement élevées en mode sémi – intensif caractérisé par l'alimentation et l'abreuvement sur parcours naturel pendant la journée. Ces observations rejoignent celles de Kamga-Waladjo *et al.,* (2010) obtenues dans des élevages péri – urbains de Dakar au Sénégal dans lesquels, des prévalences sérologiques de 25% et de 13,4% ont respectivement été révélées dans des troupeaux de vaches métisses et exotiques. Les résultats sérologiques de l'étude confirment que l'utilisation de femelles locales (fortement infectées) (71,43%, Kamga-Waladjo *et al.,* 2008a) pour la production de métisses demeure un facteur

Tableau II: Paramètres de fertilité dans les troupeaux de janvier 2006 à décembre 2010

	Résultat du diagnostic sérologique des vaches						
	Total		***Néospora caninum* Positif**		***Néospora caninum* Négatif**		
Moment de l'IA fécondante	Nombre de Gestation	Nombre d'IA	Nombre de Gestation	Nombre IA	Nombre de Gestation	Nombre d'IA	
1ère insémination	600	600	101	101	499	499	
2ème insémination	150	300	47	94	103	206	
3ème insémination	250	750	111	333	139	417	
4ème insémination	140	560	81	324	59	236	
5ème insémination	150	750	88	440	62	310	
Total	**1290**	**2960**	**428**	**1292**	**862**	**1668**	
Paramètres de reproduction enregistrés							**p**
Taux gestation	43,6%		33,1%		51,7%		<0,05
Index IA	2,3		3,0		1,9		
	Nombre (%)		**Nombre (%)**		**Nombre (%)**		
Mise bas	1233 (95,6%)		394 (92,1%)		839 (97,3%)		
Avortements	57 (4,4%)		34 (7,9%)		23 (2,7%)		
Intervalle V-IAF							
• ≤ **à 3 mois**	750 (58,1%)		148 (34,6%)		602 (69,8%)		
• **> à 3 mois**	540 (41,9%)		280 (65,4%)		260 (30,2%)		<0,05
Reforme des vaches	13 (3,3%)		5 (5,3%)		8 (2,6%)		>0,05

de risque d'infection à N. caninum en raison de la possibilité de transmission verticale du parasite.

Dans les pays de la zone inter – tropicale d'Asie et d'Amérique du sud où les conditions climatiques sont favorables à la sporulation des ookystes de *N. caninum* comme au Sénégal, la séroprévalence de la néosporose dans les troupeaux bovins laitiers varie de 5,5 à 70% (Dubey *et al.,* 2007; Kamga-Waladjo *et al.,* 2008b). En plus de ces conditions climatiques favorables à la persistance des ookystes de N. caninum dans l'environnement, la présence de chiens de fermes (Corbellini et al., 2006; Dijkstra *et al.,* 2002; Mainar - Jaime *et al.,* 1999; Paré *et al.,* 1998; Schares *et al.,* 2004; Von Blumröder *et al.,* 2006), le séjour occasionnel de vecteurs mécaniques des ookystes notamment la volaille, le faible taux de reforme (3,3%) et du renouvellement du cheptel (Bartels *et al.,* 2006), l'utilisation de la paille et de l'ensilage pour l'alimentation des animaux (Barling *et al.,* 2001) pourraient être des causes de la présence du parasite dans ces troupeaux. Ainsi, la transmission transplacentaire du parasite, l'alimentation des veaux au colostrum (Corbellini *et al.,* 2006) et l'auto production des génisses de remplacement (Barling *et al.,* 2001) contribueraient à la persistance de *N. caninum* dans ces zones géographiques.

Les faibles taux en anticorps anti Candida guillermondi, Coxielle burnetii, Chlamydophila sp. et Toxoplasma gondii indiquent qu'ils peuvent être à priori exclus des troubles de la reproduction observés dans ces troupeaux (Kamga-Waladjo *et al.,* 2010).

Effet de la séroprévalence de Neospora caninum sur la fertilité des vaches suivies

Les résultats de cette étude montrent que la séropositivité de N. caninum dans les élevages péri-urbains de Dakar est associée à une réduction du taux de conception et une augmentation du nombre moyen

d'inséminations par gestation.

Cette observation a été faite dans de nombreux élevages bovins laitiers notamment par Hobson *et al.,* (2005) qui notent une augmentation du taux de retour en chaleurs après insémination chez des vaches infectées par *N. caninum*. Hall *et al.,* (2005) remarquent une augmentation du nombre d'inséminations par gestation chez des vaches séropositives à *N. caninum* (4 inséminations) par rapport à leurs congénères séronégatives (2,2 inséminations). De telles observations ont été aussi faites chez des vaches qui présentent des troubles de la reproduction par Yusuf *et al.,* (2010). Elles confirment que les vaches séropositives nécessitent plus d'inséminations par gestation. Il en résulte un taux de conception moins élevé dans ces troupeaux.

Par ailleurs, des génisses positives à N. caninum ont 1,8 fois plus de chance de demeurer non - gestante après une insémination comparées aux séronégatives (Munoz-Zanzi *et al.,* 2004).

Le plus grand nombre d'inséminations requis pour concevoir peut s'expliquer par une augmentation du taux de mortalité embryonnaire chez ces vaches (Trees *et al.,* 1999). Ainsi, les femelles séropositives ont nécessité 22,1 jours supplémentaires pour concevoir par rapport à leurs congénères séronégatives, conformément aux observations de Hall *et al.,* (2005) et de Kamga-Waladjo *et al.,* (2008a et 2010). C'est ce qui pourrait expliquer un intervalle vêlage – insémination – fécondante plus long (supérieur à 3 mois) chez les vaches séropositives à *N. caninum* (65,4% contre 30,2% chez les séronégatives). L'allongement de l'intervalle vêlage – insémination fécondante a pour conséquence, une augmentation du taux de vaches infertiles dans les troupeaux. Par ailleurs, l'infécondité est d'autant plus grande en raison de l'absence de moyens de diagnostic précoce de gestation notamment l'échographie qui contraint la confirmation d'une gestation par palpation transrectale à partir du 45ème jour post insémination. En plus du moment du constat de gestation, l'avortement dont le taux a toujours été plus marqué chez ces vaches infectées par *N. caninum* (7,9% contre 2,7% chez les séronégatives) est un facteur qui contribue à l'augmentation de l'intervalle entre vêlages, bien qu'il n'affecte pas significativement le taux de réforme au sein des troupeaux de vaches positives (5,3%) et négatives (2,6%) à *N. caninum*.

Les troubles de la reproduction observés dans les troupeaux sont responsables de l'augmentation de l'intervalle vêlage – insémination fécondante, de l'infertilité et des pertes économiques dans les troupeaux (Inchaisri *et al.,* 2010).

Conclusion

La présente étude confirme la circulation de N. caninum au Sénégal avec pour conséquence, des répercussions sur la reproduction des vaches. Ainsi, la néosporose est cause d'un déficit économique énorme dans ces troupeaux en raison des pertes fœtales insidieuses, de la réduction de la fertilité, de la fécondité qu'elle est susceptible d'induire chez ces animaux d'élevage. L'efficacité des mesures de lutte, garante de l'amélioration du niveau de vie de l'éleveur et du développement élevage au Sénégal est conditionnée par la réorganisation et la modernisation du secteur de l'élevage.

En raison des similitudes morphologique et clinique entre Neospora caninum et Toxoplasma gondii, de la méconnaissance de la prévalence de la néosporose dans la population humaine, les médecins sont interpellés à réaliser un dépistage systématique chez les patients à risque notamment les femmes qui présentent des fausses couches à répétitions et les immunodéprimés. Cette épreuve sérologique reste l'outil essentiel, nécessaire pour anticiper la prise en charge des patients infectés par cette coccidiose opportuniste.

Bibliographie

Ancelle T, 2006. Statistique épidémiologique. 2nd édition. *Collection Sciences fondamentales*, Maloine Paris, – 300p.

Barling KS, Mc Neill JW, Paschal JC, McCollum FT, Craig TM, Adams LG, Thompson JA, 2001. Ranch-management factors associated with antibody seropositivity for Neospora caninum in consignments of beef calves in Texas; USA Prev. Vet. Med., 52:53–61.

Bartels CJM, Arnaiz-Seco JI, Ruiz-Santa-Quitera A, Björkman C, Frössling J, Von Blumröder D, Conraths FJ, Schares G, Van Maanen C, Wouda W, Ortega-Mora LM, 2006. Supranational comparison of Neospora caninum seroprevalences in cattle in Germany, the Netherlands, Spain and Sweden. Vet. Parasitol., 137:17–27.

Baszler TV, Adams S, Vander-Schalie J, Mathison BA, Kostovic M, 2001. Validation of a commercially available monoclonal antibody-based competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibodies to Neospora caninum in cattle. *J. Clin. Microbiol*., 39:3851–3857.

Corbellini LG, Smith DR, Pescador CA, Schmitz M, Correa A, Steffen DJ, Driemeier D, 2006. Herd-level risk factors for Neospora caninum seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. *Prev. Vet. Med.,* 74:130–141.

Dijkstra T, Barkema HW, Eysker M, Hesselink JW, Wouda W, 2002. Natural transmission routes of Neospora caninum between farm dogs and cattle. *Vet. Parasitol.,* 105:99–104.

Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A, 1988. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc*., 192:1269–1285.

Dubey JP, Jenkins MC, Adams DS, McAllister MM, Anderson-Sprecher R, Baszler TV, Kwok OCH, Lally NC, Björkman C, Uggla A, 1997. Antibody responses of cows during an outbreak of neosporosis evaluated by indirect fluorescent antibody test and different enzyme-linked immunosorbent assays. *J. Parasitol.,* 83:1063–1069.

Dubey JP, Lindsay DS, 1996. A review of Neospora caninum and neosporosis. *Vet. Parasitol.,* 67:1–59.

Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM, 2007. Epidemiology and control of Neosporosis and Neospora caninum. *Clin Microbiol Rev.,* 20:323–367.

Hall CA, Reichel MP, Ellis JT, 2005. Neospora abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Vet. Parasitol.,* 128:231-241.

Hobson JC, Duffield TF, Kelton D, Lissemore K, Hietala SK, Leslie KE, McEwen B, Peregrine AS, 2005. Risk factors associated with Neospora caninum abortion in Ontario Holstein dairy herds. *Vet. Parasitol.,* 127:177–188.

Inchaisri C, Jorritsma R, Vos PLAM, Van Der Weijden GC, Hogeveen H, 2010. Economic consequences of reproductive performance in dairy cattle. *Theriogenology* 74:835–846.

Kamga–Waladjo AR, Gbati OB, Kone P, Chatagnon G, Bakou SN, Boly H, Diop PEH, Akakpo JA, Tainturier D, 2008a. Séroprévalence de la neosporose et conséquences sur le taux de réussite de l'insémination artificielle dans les troupeaux bovins à Dakar -Sénégal. RASPA, 6 (1): 19 – 22.

Kamga-Waladjo AR, Gbati OB, Kone P, Lapo RA, Chatagnon G, Bakou SN, Pangui LJ, Diop PEH, Akakpo JA, Tainturier D, 2010. Seroprevalence of Neospora caninum antibodies and its consequences for reproductive parameters in dairy cows from Dakar - Senegal, West Africa. Trop. Anim. Health prod. 42:953-959.

Kamga-Waladjo AR, Kone P, Bakou SN, Chatagnon G, Boly H, Diop PEH, Akakpo JA, Tainturier D, 2008b. Epidémiologie de la néosporose. RASPA 6 (2):75-98.

Mainar-Jaime RC, Thurmond MC, Berzal-Herranz B, Hietala SK, 1999. Seroprevalence of Neospora caninum and abortion in dairy cows in northern Spain. Vet. Rec., 145:72–75.

Muñoz-Zanzi CA, Thurmond MC, Hietala SK, 2004. Effect of bovine viral diarrhea virus infection on fertility of dairy heifers. Theriogenology, 61:1085–1099.

Paré J, Fecteau G, Fortin M, Marsolais G, 1998. Seroepidemiologic study of Neospora caninum in dairy herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.,* 213:1595–1598.

Reichel MP, Ellis JT, 2008. Re-evaluating the economics of neosporosis control. *Vet. Parasitol*., 156:361–362.

Schares G, Bärwald A, Staubach C, Ziller M, Klöss D, Schroder R, Labohm R, Dräger K, Fasen W, Hess RG, Conraths FJ, 2004. Potential risk factors for bovine Neospora caninum infection in Germany are not under the control of the farmers. *Parasitology*, 129:301–309.

Trees AJ, Davison HC, Innes EA, Wastling JM, 1999. Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. *Int. J. Parasitol.,* 29:1195–1200.

Von Blumröder D, Stambusch R, Labohm R, Klawonn W, Dräger K, Fasen W, Conraths FJ, Schares G, 2006. Potential risk factors for the serological detection of Neospora caninum-infections in cattle in Rhineland-Palatinate (Germany). Tierärztl. Prax. G, 34:141–147.

Williams DJL, Guy CS, McGarry JW, Guy F, Tasker L, Smith RF, Maceachern K, Cripps PJ, Kelly DF, Trees AJ, 2000. Neospora caninum-associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitaemia during gestation determines foetal survival. Parasitology, 121:347–358.

Yusuf M, Nakao T, Ranasinghe RMSBK, Gautam G, Long ST, Yoshida C, Koike K, Hayashi A, 2010. Reproductive performance of repeat breeders in dairy herds. *Theriogenology* 73:1220–1229.

CARACTÉRISATION DES PARAMÈTRES DE PRODUCTIVITÉ DES POULES LOCALES (*GALLUS GALLUS DOMESTICUS*) DE CÔTE D'IVOIRE ÉLEVÉES EN CONDITIONS SEMI INTENSIVES

Kouadio K E[1]*, Kouao B J[1], Fantodji Agathe[2], Yapi Aboussou Yrébé Léonie[1].
[1]Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), Station de Bingerville BP 31 Bingerville (Côte d'Ivoire) Fax : (00225)22403032.
[2]Université d'Abobo-Adjamé, UFR/Sciences de la Nature, Laboratoire de Biologie et Cytologie Animales 02 BP 801 Abidjan 02 (Côte d'Ivoire), Fax : (00225)20304303.

Résumé

Une étude a été menée pour déterminer les paramètres de productivité des poules locales élevées en système semi intensif. Cette étude a porté sur 64 poules reparties en deux lots de 32 animaux. Un lot élevé en conditions semi intensives (lot expérimental) et l'autre lot (témoin) a été laissé en divagation totale. Les poules ont couvées elles-mêmes les œufs et élever les poussins jusqu'au sevrage. Après 365 jours d'étude, on a observé que le nombre d'œufs pondus par poule est de 87,69 ± 2,41 pour les poules expérimentales et de 41,41 ± 3,00 œufs pour les poules divagantes (témoins), le nombre de cycles de reproduction est respectivement de 5,82 ± 0,14 pour le lot expérimental et de 3,20 ± 0,21 pour les poules témoins, les poules en conditions semi intensives ont produit en moyenne 64,73 ± 1,38 poussins sur une moyenne de 74,14 ± 1,36 œufs couvés alors que les témoins en ont totalisé 28,95 ± 2,65 sur une moyenne de 40,86 ± 3,03 œufs couvés et que le nombre moyen de poussins sevrés en conditions semi intensives est de 56,50 ± 3,53 têtes contre 16,32 ± 3,03 poussins sevrés chez les poules divagantes. Le système d'élevage semi intensif a permis d'améliorer la productivité des poules locales.

Mots clés: Elevage semi intensif, élevage divagant ; paramètres de productivité, poules locales, Côte d'Ivoire

CHARACTERIZATION OF THE PRODUCTIVITY PARAMETERS OF LOCAL HENS (GALLUS GALLUS DOMESTICUS) IN CÔTE D'IVOIRE IN SEMI-INTENSIVE CONDITIONS

Abstract

A study was conducted to determine the parameters of productivity of local chickens raised in semi-intensive farming. This study involved 64 chickens divided into two groups of 32 animals. One group was raised in semi-intensive farming (test group) and the other group (control) was raised in free-range farming. The hens brood their eggs themselves and raised their chicks until weaning. After 365 days of study, it was noted that the number of eggs laid per hen was 87.69 ± 2.41 for the chickens in the test group, and 41.41 ± 3.00 eggs for free-range chickens (controls), the number of reproductive cycles was respectively 5.82 ± 0.14 for the test group and 3.20 ± 0.21 for control chickens. Hens under semi-intensive conditions produced on average 64.73 ± 1, 38 chicks for an average of 74.14 ± 1.36 eggs hatched, while controls totaled 28.95 ± 2.65 for an average of 40.86 ± 3.03 hatched eggs, and the average number of weaned chicks under semi-intensive conditions was 56.50 ± 3.53 heads against 16.32 ± 3.03 weaned chicks for free-range hens. The semi-intensive farming system improved the productivity of local hens.

Keywords: Semi-intensive farming, free-range farming, productivity parameters, local chickens, Côte d'Ivoire

Coresponding author: kouadiobah77@yahoo.fr

Introduction

L'aviculture occupe une place importante dans la production de viande en Côte d'Ivoire. Elle couvre environ 33 % de la production totale nationale en viande (MIPARH, 2008) et regroupe l'élevage moderne de poulet de chair, de poules pondeuses et l'élevage avicole traditionnel villageois. L'aviculture traditionnelle est largement pratiquée par les populations rurales. Celles-ci entretiennent environ 75 % du cheptel national avec approximativement 24 359 000 têtes en 2007 (MIPPARH, 2009). Cependant, bien que représentant la plus grande part de l'effectif total des volailles, l'élevage avicole traditionnel connaît une productivité très faible (Guèye, 2005). Dans ce système, les animaux, en perpétuelle divagation, sont exposés à divers dangers tels que les prédateurs, les intempéries et les maladies (Abubakar *et al.,* 2007). De plus, les poules ne pondent en moyenne qu'une quarantaine d'œufs par an. Néanmoins, les poulets locaux constituent une importante source de revenu pour les paysans (Fasina *et al.,* 2007 ; Sharma, 2007) et représentent une des rares opportunités d'épargne et d'investissement (Fasina *et al.,* 2007 ; Sharma, 2007). De plus, leur viande est mieux appréciée par les consommateurs qui reprochent au poulet de chair sélectionné le goût fade de sa viande et dont la chair, jugée trop molle, se sépare trop facilement des os après cuisson dans les sauces africaines (Sonaiya et Swan, 2004 ; Syfia International, 2004). Cependant l'élevage des poulets locaux a très rarement été pris en compte par le développement au niveau des programmes d'appui au secteur de l'élevage à cause de leur faible productivité. En effet par le passé, les principales initiatives proposées pour le développement de l'aviculture villageoise en Côte d'Ivoire ont mis l'accent sur l'amélioration génétique par le croisement de races locales avec des races exotiques en vue surtout de la production de viande (Sonaiya et Swan, 2004). De ce fait, la place de la volaille locale dans l'économie nationale reste mal connue et son importance a été pendant longtemps souvent mal perçue par les décideurs et bien des spécialistes de l'élevage (Guèye, 2005). Ainsi, les contraintes majeures auxquelles fait face cette aviculture (mortalité élevée, logement précaire, faible productivité, alimentation insuffisante, entre autres) (Ankers *et al.,* 1997 ; Guèye, 2005) nécessitent qu'on y prête une attention particulière, car actuellement, les mentalités changent et on prend de plus en plus conscience que la faible productivité des poulets locaux est due probablement à leurs mauvaises conditions de vie (Sonaiya et Swan, 2004).

C'est dans ce contexte que nous avons décidé d'élever ces animaux dans un environnement approprié. Dans cette étude, les poules ont été élevées en conditions semi intensives ; elles couvent cependant elles-mêmes leurs œufs et élèvent leurs poussins jusqu'au sevrage. L'étude vise à évaluer les paramètres de productivité des poules locales entretenues en conditions améliorées en présence de poules locales témoins laissées en divagation.

Matériel et méthodes

Matériel

L'étude s'est déroulée dans la localité de Bingerville à la Station de Recherche Technologique du CNRA. Située à 18 km de la ville d'Abidjan, Bingerville est en zone de forêt dense de climat tropical humide où la pluviométrie moyenne annuelle a été de 1653 mm avec une température moyenne annuelle de 26,27 ± 1,9 °C et une humidité relative de 81,5 ± 2,40 % durant la période d'étude. C'est un milieu où se pratiquent les cultures vivrières, d'où la disponibilité de produits agricoles. La proximité de la ville d'Abidjan facilite l'approvisionnement en intrants industriels et en sous produits agro-alimentaires.

Un bâtiment construit à l'aide de matériaux modernes et orienté Est-Ouest a servi à notre étude. Il a une longueur de 10 m sur une largeur de 6 m. Il est constitué sur ses côtés latéraux de murets de 40 cm de haut surmontés de grillage permettant une bonne aération et un éclairage naturel suffisant. A

l'intérieur de ce bâtiment, ont été aménagées des loges en grillage. Celles qui abritent les poules et les coqs reproducteurs au nombre de quatre, ont 2,2 m de long, 1,9 m de large et 2,45 m de hauteur chacune. Chaque loge est équipée de pondoirs de 35 cm de profondeur, 38 cm de haut et 30 cm de large et d'un perchoir. Deux autres loges de 1,6 m de long et 1,3 m de large chacune, sont destinées aux poules couveuses.

Un seul type d'aliment fabriqué sur la ferme est utilisé pour nourrir les animaux reproducteurs. Il est composé de 57,5 % de maïs, de 26 % de son de blé, de 10,5 % de farine de poisson, de 4,15 % de coquillage et de 1,25 % de phosphate bicalcique, de 0,25 % de compléments minéraux vitaminés, de 0,25 % de sel de cuisine, de 0,06 % de lysine et de 0,04 % de méthionine. Ces matières premières sont disponibles à tout moment dans le commerce. L'analyse bromatologique de cet aliment indique 89,35 % de matière sèche, 15,75 % de protéines, 2,20 de calcium, 0,96 % de phosphore et 2886 Kcal/kg d'énergie métabolisable.

Dispositif expérimental

64 poules de 250 jours d'âge, produites sur place sont réparties en 2 groupes (un groupe témoin et un groupe expérimental). Chaque groupe est subdivisé en 4 lots de 8 sujets. A chaque lot est attribué 1 coq de 280 jours d'âge. La répartition des animaux dans les lots est faite de manière à obtenir des lots homogènes. Ces poules sont choisies selon les critères de reconnaissance de bonnes pondeuses décrits par Van Eekeren *et al.,* (2006) ; en effet, une poule productive a le cloaque souple, large et humide, la distance entre les os du pubis est grande (5 cm) et la distance du bréchet aux os du pubis est autour de 8 cm. Les poules couvent elles-mêmes leurs œufs et sont aussi chargées d'élever leurs poussins jusqu'au sevrage. Les animaux du lot expérimental sont nourris et abreuvés à volonté et logés en permanence dans le bâtiment décrit ci-dessus avec une densité de 2 animaux au m2. Les témoins confiés à des paysans de la zone d'étude, sont entretenus dans les conditions habituelles c'est-à-dire en divagation. Nous n'avons procédé à aucune vaccination des animaux. Nous nous sommes limités seulement à un bon niveau d'hygiène en partant du fait que les paysans qui sont les principaux acteurs de l'élevage de la volaille locale n'accordent généralement pas beaucoup d'attention à la prophylaxie sanitaire soit par ignorance soit par manque de moyen financier. En effet, maintenir un bon niveau d'hygiène permet de réduire significativement le rythme d'apparition des maladies liées à l'hygiène d'élevage et de se contenter d'un programme minimum de prophylaxie et par conséquent de réduire le coût de production des animaux qui sont, de surcroît, très rustiques. Pour ce faire, la litière maintenue propre et sèche est changée deux fois par mois ; les alentours du bâtiment, balayés quotidiennement, sont gardés toujours propres. L'eau potable est servie chaque jour. Les abreuvoirs sont lavés quotidiennement à l'aide de savon en poudre. Les pondoirs sont désinfectés tous les mois et des vermifuges sont administrés tous les mois aux animaux de 0 à 3 mois d'âge. Avant les mesures proprement dites, les poules ont bénéficié d'une période d'adaptation de 30 jours au cours de laquelle aucune mesure n'a été faite. Après cette période, les poules préalablement identifiées à l'aide de boucles ont été individuellement suivies cycle après cycle sur une période de 365 jours. Chaque cycle part de la ponte des œufs jusqu'au sevrage des poussins. Cela a permis la détermination des paramètres de productivité suivants :

- Nombre d'œufs/poule/an (NOP) = Nombre total d'œufs pondus/Nombre de poules reproductrices
- Nombre de cycles de reproduction (NCR) = Durée d'observation (365 jours) / Durée moyenne d'un cycle de reproduction
- Nombre d'œufs par cycle (NOC) = NOP / NCR
- Nombre d'œufs couvés par cycle = (Nombre d'œufs couvés/poule/an) / Nombre de cycles de reproduction
- Nombre total de poussins par poule et par an = nombre total des poussins

- vivants ou morts qu'une poule a produits au cours de l'année d'étude.
- Nombre total de poussins sevrés/poule/an = NPc x C x (100 - TMs) / 100
- (NPc = nombre total de poussins par poule et par cycle de reproduction ; C = nombre de couvées complètes qu'une poule a effectuées dans l'année ; TMs = taux moyen de mortalités avant sevrage enregistré).
- Nombre de poulets exploitables par poule et par an = nombre total de poulets vivants et sevrés qu'une poule produit dans l'année.

Traitement des données

Les valeurs recueillies ont été comparées en effectuant le test t de Student, au seuil théorique $\alpha = 0,05$ à l'aide du logiciel STASTISTICA version 7.1. La signification du test est déterminée en comparant la probabilité P associée à la statistique du test :

- $P<\alpha$ signifie qu'il y a une différence significative entre les paramètres comparés,
- $P>\alpha$ signifie qu'il n'y a pas de différence significative entre les paramètres comparés (Verssereau, 1998).

Résultats

Nombre de cycles de reproduction par poule et par an

Le nombre de cycles de reproduction dans l'année dépend de sa durée. Cette durée est de 62,99 ± 1,53 jours chez les animaux entretenus en conditions semi intensives et de 114,59 ± 7,55 jours chez ceux en divagation. La ponte dure 13,16 ± 0,62 jours chez les poules expérimentales et 16,67 ± 1,90 chez les témoins ; une durée de couvaison de 21 jours a été observée avec les deux groupes ; et il est noté une durée moyenne d'élevage des poussins de 28,82 ± 0,91 jours pour les poules en conditions semi intensives et de 77,06 ± 6,54 jours pour les individus divagants (tableau 1). Le nombre moyen de cycles de reproduction par poule et par an est respectivement de 5,82 ± 0,14 pour le lot expérimental et de 3,20 ± 0,21 pour les poules témoins. Une différence significative ($p < 0,05$) de près de 3 cycles a été observée.

Nombre d'œufs par cycle de reproduction

Le nombre moyen d'œufs par cycle enregistré chez les poules en conditions semi intensives est de 15,08 ± 0,60 et celui des poules divagantes est de 12,80 ± 0,98 (tableau 2). Une moyenne de 12,76 ± 0,52 œufs est couvée par les poules expérimentales par cycle. Le reste, qui varie de 1 à 3 œufs, est pondu pendant que la poule se trouve encore avec ses poussins. Ce phénomène se situe autour du 26ème jour d'âge des poussins ; cela occasionne le sevrage de ceux-ci à environ 1 mois d'âge puisque la poule s'en désintéresse désormais. Ces œufs non fécondés ne sont pas mis à la couvaison.

Nombre d'œufs par poule et par an

Le nombre total d'œufs pondus sur la période de 365 jours est respectivement de 2806 œufs pour les 32 poules élevées en conditions semi intensives et de 1325 œufs pour celles du lot témoin. Le nombre d'œufs par poule et par an est de 87,69 ± 2,41 pour les sujets expérimentaux et de 41,41 ± 3,00 œufs pour les poules divagantes (tableau 3). Une différence significative a été observée ($p < 0,05$).

Taux d'éclosion

La moyenne des œufs couvés par cycle est sensiblement égale dans les 2 systèmes d'élevage. Une moyenne de 12,76 œufs est couvée en conditions semi intensives contre 12,80 œufs chez les poules témoins. De ces œufs, sortent respectivement en moyenne 11,17 poussins chez les poules expérimentales et 9,35 poussins chez les témoins. Les taux d'éclosion varient de 66,66 à 100 % pour les poules élevées en conditions semi intensives avec une moyenne de 87,56 %. En milieu naturel, les taux d'éclosion varient de 0 à 100 % avec une moyenne de 73,05 % (tableau 3). Un gain significatif de 14 % est observé avec l'amélioration des conditions de vie des animaux.

Tableau 1: Cycles de reproduction des poules

Paramètres \ Système d'élevage	Divagant (n = 32) Moyenne ± Ecart-type	Semi intensif (n = 32) Moyenne ± Ecart-type
Durée de ponte (jours)	16,67a ± 1,90	13,16b ± 0,62
Durée de couvaison (jours)	21[a]	21[a]
Durée d'élevage des poussins (jours)	77,06a ± 6,54	28,82b ± 0,91
Durée du cycle de reproduction (jours)	114,59a ± 7,55	62,99b ± 1,53
Nombre de Cycles/poule/an	3,20a ± 0,21	5,82b ± 0,14

Les valeurs moyennes d'une ligne indexées de lettres différentes sont statistiquement différentes selon le test t de Student au seuil de 5 %

Tableau 2: Nombre d'œufs par cycle de reproduction

Paramètres \ Système d'élevage	Divagant (n = 32) Moyenne ± Ecart-type	Semi intensif (n = 32) Moyenne ± Ecart-type
Nombre d'œufs/cycle de reproduction	12,80a ± 0,98	15,08b ± 0,60
Nombre d'œufs couvés par cycle	12,80a ± 0,98	12,76a ± 0,52

Les valeurs moyennes d'une ligne indexées de lettres différentes sont statistiquement différentes selon le test t de Student au seuil de 5 %

Nombre total de poussins par poule et par an

Le nombre total de poussins par poule et par an est respectivement de 64,73 ± 1,38 poussins pour le lot expérimental sur une moyenne de 74,14 ± 1,36 œufs couvés et de 28,95 ± 2,65 pour le groupe témoin sur une moyenne de 40,86 ± 3,03 œufs (tableau 4). La différence observée est significative ($p < 0,05$).

Nombre total de poussins sevrés par poule et par an

Le nombre moyen de poussins sevrés chez les poules en conditions semi intensives est de 56,50 ± 3,53 contre 16,32 ± 3,03 chez les divagantes, soit moins du 1/3 de la moyenne enregistrée en conditions semi intensives (tableau 4). La différence observée est significative ($p < 0,05$). Notons que la totalité des poussins produits dans chaque lot n'est pas sevrée au cours de l'année car le dernier cycle entamé n'est pas achevé.

Nombre de poulets exploitables par poule et par an

Il s'agit du nombre total de poulets qui atteindront le stade consommable (6 mois) ; parmi ceux-ci, il y a les oiseaux de 6 mois ou plus et les sujets de moins de 6 mois. Sur un total de 54,68 ± 3,44 poulets exploitables produits par poule expérimentale, une moyenne de 31,31 ± 1,36 individus ont atteint un âge de 6 mois ou plus et le reste (23,37 ± 3,83 poulets) a moins de 6 mois durant la période d'étude. Dans le même temps, les poules divagantes ont produit une moyenne de 11,14 ± 2,85 poulets, soit moins du ¼ de la production en conditions semi intensives ; il est observé ici aussi une différence significative. En conditions divagantes, le nombre moyen de poulets adultes (oiseaux de 6 mois ou plus) est de 7,75 ± 1,95 et de 3,39 ± 1,49 pour les sujets de moins de 6 mois (tableau 4).

Discussion

La durée moyenne du cycle de reproduction est de 62,99 jours avec 5,82 cycles de reproduction par poule et par an, contre une moyenne de 114,59 jours avec 3,20 couvées par poule et par an chez les témoins. Des travaux effectués en milieu divagant ont montré que la durée du cycle est d'environ 119 jours en Asie du Sud avec 3 cycles de reproduction (Acharya et Kumar, 1984 et Huque, 1999), de 130 jours au Nigeria avec 2 à 3 cycles (Sarkar et Bell, 2006) et de 140 jours au Ghana avec 2 à 3 cycles (Van Veluw, 1987). La grande différence du nombre de cycles de reproduction entre le système semi intensif et le système divagant vient de ce que, dans le système semi intensif, les poules qui bénéficient de

Tableau 3: Performance de ponte des poules et taux d'éclosion

Systèmes d'élevage / Paramètres	Divagant (n = 32) Moyenne ± Ecart-type	Semi intensif (n = 32) Moyenne ± Ecart-type
Durées des observations (jours)	365	365
Nombre de poules reproductrices	32	32
Nombre total d'œufs pondus	1325	2806
Nombre d'œufs/poule/an	41,41a ± 3,00	87,69b ± 2,41
Nombre d'œufs couvés/poule/an	40,86a ± 3,03	74,26 b ± 3,03
Nombre d'œufs couvés/cycle/poule	12,80a ± 0,98	12,76a ± 0,52
Nombre total de poussins éclos	28,95a ± 2,65	64,73b ± 1,38
Nombre de poussins éclos/cycle	9,35a ± 1,00	11,17b ± 0,48
Taux d'éclosion (%)	73,05	87,56

Les valeurs moyennes d'une ligne indexées de lettres différentes sont statistiquement différentes selon le test t de Student au seuil de 5 %

Tableau 4: Performance de production des poules

Système d'élevage / Paramètres	Divagant (n = 32) Moyenne ± Ecart-type	Semi intensif (n = 32) Moyenne ± Ecart-type
Nombre de poussins/couvée	9,35a ± 1,00	11,17b ± 0,48
Nombre de poussins sevrés/cycle	5,67a ± 0,97	11,02b ± 0,43
Nombre de poussins exploitable/cycle	3,88a ± 0,98	10,87b ± 0,47
Nombre total de poussins/poule/an*	28,95a ± 2,65	64,73b ± 1,38
Nombre de poussins sevrés/poule/an*	16,32a ± 3,03	56,50b ± 3,53
Nombre de poulets exploitables/ poule/an	11,14a ± 2,85	54,68b ± 3,44
Nombre de sujets en croissance/poule/an	3,39a ± 1,49	23,37b ± 3,83
Nombre de sujets adultes/poule/an	7,75a ± 1,95	31,31b ± 1,36

* tous les poussins vivants produits par une poule ne sont pas sevrés car le dernier cycle de reproduction n'est pas achevé.

Les valeurs moyennes d'une ligne indexées de lettres différentes sont statistiquement différentes selon le test t de Student au seuil de 5%

conditions de vie adéquates (alimentation de qualité à volonté, abreuvement et logement convenable), sèvrent plus tôt leurs poussins et commencent même à pondre pendant qu'elles élèvent encore ceux-ci. Les poules divagantes, quant à elles, consacrent 65 à 72 % de la durée du cycle de reproduction à l'élevage de leurs poussins (Sarkar et Bell, 2006). Ceci s'explique par le fait que, dans les conditions traditionnelles d'élevage, au cours de la couvaison, la poule perd 27 à 35 % de son poids vif, faute d'une alimentation adéquate et il se passe plus de 2 mois avant qu'elle ne puisse reconstituer ses réserves ; or aussi longtemps qu'elle ne compense pas son poids perdu, elle ne peut entamer la couvée suivante (Sarkar et Bell, 2006). Le nombre de couvées par poule et par an est aussi influencé par la durée du temps d'élevage des poussins. Des travaux effectués en système intégré en Région Sud Pacifique (Asifo et Guèye, 2004) ont montré que la poule divagante produit au maximum 3 cycles de reproduction par an alors qu'en système d'exploitation intégrée, elle en produit au minimum 5. Asifo et Guèye (2004) expliquent cette différence par la réduction de la période d'élevage des poussins qui passe de 3 mois en milieu divagant à moins de 1 mois en système d'exploitation intégrée.

Le nombre moyen d'œufs par cycle de reproduction enregistré en milieu divagant n'est pas très différente des 11,50 œufs rapportés par Van Veluw (1987) et Asifo et Guèye (2004). La ponte observée chez les poules du système semi intensif pendant qu'elles sont encore avec leurs poussins s'explique par la disponibilité d'un aliment

riche à tout moment. En effet la disponibilité de l'aliment permet à la poule de compenser rapidement son poids perdu pendant la couvaison des œufs et de reprendre la ponte sans trop attendre.

Les données de production d'œufs enregistrées chez les témoins confirment les résultats obtenus par Tadelle et al. (2000) en Ethiopie dans les mêmes conditions. La production en conditions améliorées vaut environ trois fois la production moyenne de 30 œufs par poule et par an mentionnée au Ghana et au Nigeria, en milieu divagant (Van Veluw, 1987; Sonaiya, 2005; Sarkar et Bell, 2006; Bessei, 1987).

Un gain significatif de 14 % de taux d'éclosion est observé avec l'amélioration des conditions de vie des animaux. Cette différence vient de ce que la poule, dans un nid bien aménagé, dans un local approprié, se sent plus en sécurité (Sall, 1990). En effet, dans le système en divagation, les poules couveuses sont constamment perturbées par les autres poules ainsi que les parasites externes (Acharya et Kumar, 1984 ; Huque et al., 1990 ; AACMC, 1984); à cela s'ajoutent le manque de nid adéquat, la présence des passants et des prédateurs éventuels. Tous ces facteurs sont, selon le RDAPE (2004), à l'origine de stress responsable des faibles taux d'éclosion des œufs dans le système divagant. De plus, la disponibilité, en système amélioré, d'aliment et d'eau à tout moment permet à la poule couveuse de passer peu de temps en dehors du nid à la recherche de nourriture; cela permet un réchauffement permanent des œufs.

En condition semi intensives le nombre moyen de poulets adultes dépasse de très loin celui obtenu en conditions divagantes. Des travaux conduits au Ghana en système d'élevage divagant ont révélé un nombre moyen de 2 poulets exploitables par poule et par an (Van Veluw, 1987). Une étude du CIRAD (1989) a confirmé ce résultat. Cette faible productivité des poules locales divagantes est certes due à leur faible valeur génétique mais aussi au système d'élevage. C'est pourquoi nous nous accordons avec Sonaiya (1995) pour dire que la productivité des animaux divagants est conditionnée plus par le système de conduite et la variabilité dans la qualité et la quantité des provendes que par leur faible productivité inhérente.

Le système d'élevage semi intensif a permis d'augmenter significativement la productivité des poules locales ; cependant les valeurs enregistrées pourraient être améliorées en agissant sur la durée du cycle de reproduction par la diminution du temps d'élevage des poussins qui se situe actuellement à environ 1 mois.

Conclusion

Au terme de cette étude, il convient de retenir que l'élevage des poules locales en conditions semi intensives a permis d'accroître leur productivité. Le nombre d'œufs pondus par poule et par an a plus que doublé pour passer d'une quarantaine dans le milieu divagant à plus de 87 œufs en conditions semi intensives. Soit une amélioration de 112 % du taux de ponte. La durée du cycle de reproduction a été considérablement réduite ; ce qui autorise un plus grand nombre de cycles de reproduction par poule dans l'année. Le nombre de poussins produits par poule a augmenté par rapport au milieu naturel. L'amélioration des conditions d'élevage a permis d'augmenter sensiblement le taux d'éclosion. En conditions semi intensives, une poule produit en moyenne 54 poulets potentiellement exploitables dans la même année contre 11 en moyenne en milieu divagant. Un taux de productivité de 390 % est donc enregistré.

Impact

Les résultats obtenus avec les témoins montrent une faible productivité des poules divagantes. Vu l'augmentation de la productivité, le système d'élevage des poules locales en conditions semi intensives peut fournir de grandes opportunités pour l'aviculture traditionnelle africaine. Dans de bonnes conditions de pratiques, il peut contribuer à renforcer le développement de l'élevage du poulet local et à accroître

l'effectif de la volaille en Côte d'Ivoire. Cette technologie peut contribuer significativement à satisfaire les besoins croissants en protéines animales de la population humaine, créer des emplois et accroître les revenus des producteurs ruraux. Pour y parvenir il serait impératif de pousser les recherches en vue de maîtriser les contours de ce système d'élevage pour son éventuelle vulgarisation dans le monde paysan.

Références bibliographiques

AACMC (Australian Agricultural consultancy and Management Company), 1984. Livestock subsector Review 1: Annexe 3.

Abubakar MB, Ambali AG, Tamjdo T, 2007. Elevage de poulets villageois : contraintes limitant la production de poulets villageois dans certaines zones du Nigeria et du Cameroun. Aviculture Familiale, 17(1 et 2): 59-64.

Acharya RM, Kumar A, 1984. Performance of local birds in South Asia. Indian Poultry Industry Yearbook. 7th Edition. 255p.

Ankers P, Bonfoh B, Pangui LJ, Pfister K, 1997. Répertoire de quelques contraintes de l'aviculture villageoise en Gambie et propositions de solutions pour son amélioration. Proceeding INFPD workshop, December 9-13, 1997 M'Bour, Senegal: 135-147.

Asifo OA, Guèye EF. 2004. Approche à plusieurs fins pour l'aviculture familiale en zone péri-urbaine dans les petits pays insulaires de la région du sud Pacifique. Bulletin RIDAF 14 (2) : 13-22.

Bessei W, 1987. Tendencies of world productions. Proceedings of 3rd international DLG-Symposium on Poultry Production in Hot Climates, Hamelin, Germany, pp 8-34

CIRAD-EMVT, 1989. Développement de l'aviculture traditionnelle en Afrique Tropicale. Fiches techniques d'élevage. Fiche N° 2. 7p

Fasina FO, Mohammed SN, Onyekonwu ON, Wai MD, 2007. Contribution de l'aviculture aux revenus des ménages: le cas de la municipalité de Jos South (Nigeria). Aviculture Familiale 17 (1 et 2) : 30-34

Guèye EF., 2005. Gender aspects of family poultry management systems in developing countries. World's Poultry Science Journal 61 : 39-46.

Huque QME, 1999. Poultry research in Bangladesh: present status and its implication for future research. In: F. Dolberg & P.H. Petersen (eds.) Poultry as a Tool in Poverty Eradication and Promotion of Gender Equality: 151 - 164.

MIPARH, 2008. Production, Importation et Consommation de 1992 à 2007. Données statistiques, Côte d'Ivoire ; Communication personnelle.

MIPARH, 2009. Bilan de la production, des importations et de la consommation de viandes et abats de 2000 à 2007, Côte d'Ivoire ; Communication personnelle.

RDAPE (Réseau pour le Développement d'Aviculture à Petite Echelle), 2004. Elevage de volaille villageoise: un manuel technique sur la production avicole à petite échelle, 103 p.

Sall B, 1990. Contribution à l'étude des possibilités d'amélioration de la production en aviculture traditionnelle : mesure du potentiel de la race locale et des produits d'un croisement améliorateur. MSc. Thesis, Institut national de développement rural, St Louis, Sénégal. p32

Sarkar K, Bell JG, 2006. Potentiel du poulet indigène et son rôle dans la lutte contre la pauvreté et dans la sécurité alimentaire pour les ménages ruraux. Bulletin RIDAF 16 (2) : 16-28.

Sharma RK, 2007. Rôle et pertinence de l'aviculture familiale rurale dans les pays en voie de développement: cas particulier de l'Inde. Aviculture Familiale 17 (1 et 2) : 35-41

Sonaiaya EB, 1995. Feed resources for smallholder rural poultry in Nigeria. World Animal Review 82 (1): 25-33

Sonaiya EB, 2005. Research, development and outreach in family poultry in Nigeria. Proceedings of 4th International Poultry Show and Seminar, 2005, World's Poultry Science Association, Bangladesh Branch : 157-161.

Sonaiya EB, Swan SEJ, 2004. Production en aviculture familiale. FAO, Rome, 135p.

Syfia International, 2004. Impact des importations de volailles en Afrique de l'Ouest. Infosud. Belgique, Agence de Presse, 42p.

Tadelle D, Alemu Y, Peres KJ, 2000. Indigenous chicken in Ethiopia: genetic potential and attempts at improvement. World's Poultry Science Journal 56 : 45-54

Van Eekeren N, Maas A, Staatkamp HW, Verschuur M, 2006. L'élevage des poulets à petite échelle. Digigraphi, Wageninagen-Pays Bas, 97p

Van Veluw K, 1987. Traditional poultry keeping in Northern Ghana. ILEIA- Newsletter 3 (4) : 12-13.

Verssereau A., 1998. Méthodes statistiques en biologie et en agronomie. Techniques et documentation (Lavoisier), édit. Paris (France). 538p

COMPARISON OF A 3ABC ELISA AND THE LIQUID-PHASE BLOCKING ELISA OF FOOT-AND-MOUTH DISEASE IN AN AREA OF ENDEMICITY

Raouf Y A*[1], Ali B H[2], El Amin M A[1] and El Rzag M A[3]
[1]Central Veterinary Research Laboratories, P.O. Box 8067, El Amarat, Khartoum, Sudan.
[2]Sudan University of Science and Technology
[3]Admministration of Epidemic Diseases, Ministry of Animal Resources and Fisheries, Khartoum, P. O. Box 293, Sudan.

Summary

The performance of a modified liquid-phase blocking ELISA (LPBE) that revealed wide seroprevalence of type "A" and "SAT2", than previously reported, in non-vaccinated Sudanese cattle was compared with a 3ABC ELISA. Neither non-specific reactions nor discrepancy could be monitored. Excluding one serum, none of the 3ABC negative or borderline sera (n=19) showed significant positive reaction to any of both types in the LPBE, and all of them were negative for the moderately prevalent type "SAT2". All 3ABC positive sera (n=54) were positive for the predominant type "A" except two sera while only 57% of them (n=44) were positive for type "SAT2". In distinct test groups, increase of seroprevalence in the three test systems (3ABC, type "A" and type "SAT2" ELISAs) was concurrent. At the level of individual animals, the higher the PP of a given serum in 3ABC, the more likely it was positive to both types in the LPBE. Sera with higher positivity range values to 3ABC polyproteins showed higher average positivity values to SPs of both types. Good correlation between results of the two tests gave credibility to both of them.

In the test group, the predominance of type "A" (infection) antibody (88%) was distinguished from the medium prevalence (infection) of type "SAT2" (41%) by good correlation between the increase in positivity range values to SPs of the former, not the latter, with the positivity averages to 3ABC polyproteins. Among type "A" positive sera, highest positivity did not match that of 3ABC, while among type "SAT2" positive sera, highest positivity matched that of 3ABC distinguishing the likely repeated infection with the predominant type from the recent infection of juvenile cattle (fully susceptible to serotype "SAT2") with the medium prevalent one.

When discrimination of sera as positive or negative in the 3ABC test (not serotype specific) and the most predominant type "A" ELISA was compared, 76% of results were concordant and 24% were discordant. These figures are comparable to those obtained when comparing the performance of a competitive 3ABC ELISA with a combined virus neutralization test, as the "gold standard", in an area of endemicity. Almost the whole of the discordant results were negative or borderline cases for anti-3ABC antibodies that were marginally positive for anti-SP antibodies, likely because of different duration of antibody.

Keywords: FMD-Sudan-3ABC-LPB ELISA-types "A" and "SAT2".

COMPARAISON D'UN ELISA 3ABC ET DE L'ELISA AVEC BLOCAGE EN PHASE LIQUIDE DE LA FIEVRE APHTEUSE DANS UNE ZONE ENDEMIQUE

Résumé

La performance d'une épreuve ELISA avec blocage en phase liquide (LPBE) modifiée, ayant révélé une séroprévalence des types « A » et « SAT2 » plus importante que celle rapportée précédemment chez les bovins soudanais non vaccinés, a été comparée avec celle d'un test ELISA 3ABC. Ni les réactions non spécifiques ni la divergence n'ont pu être surveillées. A exception d'un sérum, les sérums négatifs ou limites (n = 19) pour 3ABC n'ont pas montré de réaction positive significative aux deux types dans la LPBE, et tous étaient négatifs pour le type « SAT2 » de prévalence moyenne. Tous les sérums positifs

*Corresponding author: ykhalliel@yahoo.com

(n = 54) pour 3ABC étaient positifs pour le type prédominant « A », à l'exception de deux sérums, tandis que seuls 57% d'entre eux (n = 44) étaient positifs pour le type « SAT2 ». Dans les groupes expérimentaux distincts, l'augmentation de la séroprévalence dans les trois systèmes de test (ELISA 3ABC, type « A » et type « SAT2 ») était simultanée. Au niveau des animaux pris individuellement, plus le PP d'un sérum donné était élevé dans la 3ABC, plus grande était la possibilité d'être positif pour les deux types dans la LPBE. Les sérums avec une série de valeurs de positivité élevées pour les polyprotéines 3ABC ont montré des valeurs de positivité moyennes élevées pour les SP des deux types. Une bonne corrélation entre les résultats des deux épreuves leur a conféré de la crédibilité.

Dans le groupe expérimental, la prédominance (88%) de l'anticorps de type « A » (infection) a été distinguée de la prévalence moyenne (infection) de type « SAT2 » (41%) par une bonne corrélation entre l'augmentation des valeurs de positivité aux SP du premier, pas du dernier, avec des moyennes de positivité aux polyprotéines 3ABC. Parmi les sérums positifs pour le type « A », la positivité la plus élevée ne correspondait pas à celle de 3ABC, tandis que parmi les sérums positifs pour le type « SAT2 », la positivité la plus élevée correspondait à celle de 3ABC, distinguant l'infection vraisemblablement répétée avec le type prédominant de l'infection récente de jeunes bovins (totalement sensibles au sérotype « SAT2 ») avec celle de prévalence moyenne.

Lorsque les sérums distingués comme positifs ou négatifs dans l'épreuve 3ABC (non spécifique au sérotype) et l'ELISA pour le type prédominant « A » ont été comparés, 76% des résultats étaient concordants et 24% étaient discordants. Ces chiffres sont comparables à ceux obtenus de la comparaison de la performance d'un test ELISA 3ABC par compétition avec une épreuve de neutralisation virale combinée, comme « norme d'excellence », dans une zone endémique. La quasi-totalité des résultats étaient des cas discordants ou limites pour les anticorps anti 3ABC qui étaient marginalement positifs pour les anticorps anti SP, probablement en raison de la durée différente des anticorps.

Mots-clés: FA-Soudan-3ABC-LPB ELISA-types "A" et "SAT2".

Introduction

Foot-and-mouth disease (FMD) is a highly contagious viral disease of cloven-hoofed animals. The causative agent is a virus of the family *picornaviridea genus aphtoviruses* of which seven immunologically distinct serotypes are known. The serology of FMD is a useful tool for support of control programs, that in addition to its significant role in regulation of international trade of animals and animal byproducts.

In Sudan, 4 serotypes have been reported to cause clinical FMD in cattle; "O", "A", "SAT2" and "SAT1" (Abu Elzein, 1983). Prophylactic vaccination was not practiced to any appreciable level in the country. Recent sero-surveillances (Habiela *et al.,* 2010, Raouf et al, accepted for publication) showed wider than anticipated seroprevalences for type "A" (80%) and "SAT2" (40-60%) in cattle as compared with old reports (18% and 0.4%) (Abu Elzein *et al.,* 1987). Though seroprevalence of type "A" surpassed even that of type "O", most recent disease events were of types "O" and "SAT2" (Ferris, 2007, Habiella *et al.,* 2010 and Raouf *et al.,* 2010). The fourth type "SAT1" has not been reported in Sudan since 1976 and showed negligible seroprevalence rates (Raouf *et al.,* 2009). In these sero-surveys the liquid-phase blocking ELISA (LPBE) was used exclusively. The test is serotype specific and detects antibodies against structural proteins (SPs) of FMD virus (Hamblin *et al.,* 1986). It was modified in our laboratory (Raouf *et al,* 2006 and 2007) to avoid false positive results reported for its screening format (Mackay *et al.,* 2001; Alexandersen *et al.,* 2003; Susan Mouchantat *et al.,* 2005; Chénard *et al.,* 2003; Anon, 2000).

The use of the quantitative serum neutralization test, the golden standard, for backing of these findings requires time. Sudanese field isolates of FMDV are under adaptation in cell culture. On the other hand, the 3ABC tests are commercially available. They are a novel and recent development in FMD serology. In this work, and to give support to the fore mentioned findings, the results of screening cattle sera with the LPBE types "A" and "SAT2" were compared with that of a 3ABC-ELISA test (The SVANOVIRTM FMDV

3ABC-Ab ELISA). The 3ABC tests were used extensively in Argentina in conjuncture with the LPBE (Robiolo *et al.,* 2006) for support of an eradication campaign. Because of their applicability for trade regulation, they were evaluated in an area of endemicity (Cameron) with the virus neutralization test (Bronsvoort *et al.,* 2004). These tests, unlike the LPBE, detect antibodies to the non-structural proteins (NSPs), which are product of infection with any of the seven serotypes of FMD virus (Pinto and Garland 1979; De Digo *et al.,* 1997; Clavijo *et al.,* 2004).

Materials and Methods

Test sera:

A total of 75 sera were collected in 3 different occasions from AL Moilh animal trade market (one round) and abattoirs (two rounds). Sera were obtained from apparently healthy non-vaccinated cattle above one-year-old, collected in plain vaccutainers, separated by centrifugation and kept at –20°C till use.

The 3ABC ELISA:

The SVANOVIRTM FMDV 3ABC-Ab ELISA was used throughout the work. It is a solid phase indirect ELISA kit, commercially available, developed by Svanova Biotech AB (Uppsala, Sweden) in collaboration with CEVAN (Centro Virologia Animal), COREPRO Buenos Aires, Argentina.

The procedure was a single dilution test (spot test), applied as described by the manufacturer. Briefly, control (positive and negative) and test sera were pre-diluted to 1/40 in Sample Dilution Buffer, and added in duplicate to wells of a NSP 3ABC pre-coated microtitre plate; odd columns coated with 3ABC antigen and even columns with negative control antigen. Each well received 50 µl of the diluted serum and each serum duplicate included a well in the odd column and a well in the even column. The plate was sealed and incubated at 37 °C for 30 minutes. Antibody in positive test and control sera would bind to the 3ABC antigen in the odd wells. The plate was rinsed 3 times with PBS-Tween Bufffer to remove unbound antibody, then 50 µl of conjugate (horseradish peroxidase conjugated anti-bovine IgG antibodies reconstituted in PBS-Tween Buffer) was added to each well. The plate was sealed and incubated as before. Unbound conjugate was removed by rinsing in the described manner. Subsequently 50 µl of chromogen/substrate mixture ABTS/H2O2 (ABTS: 2,2'-azino-bis [3-ethylbemziazoline-6-sulfonic acid]) was added to each well. The test was incubated at room temperature in the dark for 30 minutes. The reaction was then stopped by addition of 50 µl of 0.2% NaF. The OD value was read at 405 nm using Elx808 plate reader (BIO-TEC).

The net OD value of control and test sera was calculated by subtracting OD values obtained in wells of the even column (coated with control antigen) from OD values obtained in the corresponding wells of the odd column (coated with the NSP antigen). To ensure validity the positive and negative control should have a corrected OD values above 0.8 and below 0.3, respectively. The final result was expressed as percent positive (PP) values calculated according to the formula:

$$\text{PP sample} = \frac{\text{net OD sample}}{\text{net OD control+ve}} \times 100.$$

The manufacturer recommends a cut-off value of negative PP<48. The cut-off value needs to be determined in 3ABC ELISAs according to the purpose of testing and the intended targeted population (OIE, 2008). The collaborating manufacturer compared this procedure with four other NSP ELISAs and determined a cut-off value of positive, PP > 20 and negative, PP < 15 (Robiolo *et al.,* 2006). The latter cut-off value was used in this work.

The LPB ELISA:

The LPBE (Hamblin *et al.,* 1986) with modification (Raouf *et al.,* 2006, Raouf *et al.,* 2007) was carried out. The assay was used as a screening test. The modification involved increasing the antigen dose so as to produce parallel titration curves of different positive serum groups. Such doses always lie at the upper part of the linear portion of the antigen

Table 1: Distribution of PP values of the 3ABC ELISA in different serum groups and at different levels of FMD virus activity

Serum group	FMD activity*	Percentage distribution of PP values			Positivity at threshold 15
		Less than 20	20-48	20-48**	
El Moilh	high	5%	25%	70%	95%
Abattoirs day 1	medium	27%	27%	46%	73%
Abattoirs day 2	low	45%	34%	21%	55%
Total		**28%**	**29%**	**43%**	**72%**

* As indicated by positivity to 3ABC, type "A" and "SAT2" antibodies
** Equal to positivity at threshold 48

Table 2: Seroprevalence´s in the three test systems and in different serum groups

Serum group	Positivity to 3ABC (Thershold 15)	Positivity to type "A"	Positivity to type "SAT2"
El Moilh	95%	100%	100%
Abattoirs day 1	73%	88.46%	23.8%
Abattoirs day 2	55.17%	79.31%	16%
Total	**72%**	**88%**	**41.27%**

titration curve between the OD values of 1.5 and the predefined limit of 1.9.

The results were expressed as percentage inhibition (PI) values. Values equal or above 50% were considered positive and those below 50% were considered negative.

All ELISA reagents used throughout the work were obtained from The World Reference Laboratory (WRL) for FMD in Pirbright UK.

Results

Fitness of the Cut-off value of the 3ABC ELISA to the purpose of the study:

Table 1 shows the distribution of PP values in the 3ABC ELISA at different levels of activity of FMD viruses (Table 2). It was evident that the fraction of sera with PP values above 48 and below 20 increased and decreased, respectively, with increase of FMD infection, while the fraction of sera between 20 and 48 remained fairly constant whether FMD infection increased or decreased. Accordingly, had the cut-off value been 48, the proportion of the latter fraction (between 20 and 48) in the negative sera would increase with increase of FMD infection, what fit more with false negative sera. On the other hand, when the cut-off value was considered 20, the proportion of this fraction in the positive sera will decrease with increase of FMD infection, what fit with weak positive sera. Fitness of the selected cut-off value for the purpose of the study is evident in figure (1: a and b). Sera with PP values between 20 and 48 showed significant positive reaction to the predominant type "A" or to both in this study types. Among this group, only two sera (n=22) were negative to SPs of both types. On the contrary, none of the sera with PP values below 20 showed significant reaction to the SPs of FMD virus with the exception of one serum. They were all negative to type "SAT2" (n=19) or showed PI values that just above or below the 50% test cut-off value for the predominant type "A" (n=21). These factors support choice of this cut-off value (15) for the purposes of this study.

Correlation between results of 3ABC ELISA and LPBE (type "A" and "SAT2"):

Results presented in Table 2 show that increase or decrease of seropositivity was concurrent in the three test systems. Table 3 is related to abattoir day 1 samples. It is of 15, type "A" and 3ABC positive, serum samples that were tested against type "SAT2". It shows that, the higher the PP for an individual serum in 3ABC, the more likely it became positive for type "A" and "SAT2" antibodies in the

Table 3: Type "A" and 3ABC positive serum samples of abattoirs day 1:Values of PP in 3ABC and distribution of "SAT2" positivity

PP (3ABC)	126	119	113	105	104	89	77	75	58	54	45	38	35	33	26
"SAT2"	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-

Table 4: Detailed ELISAs results

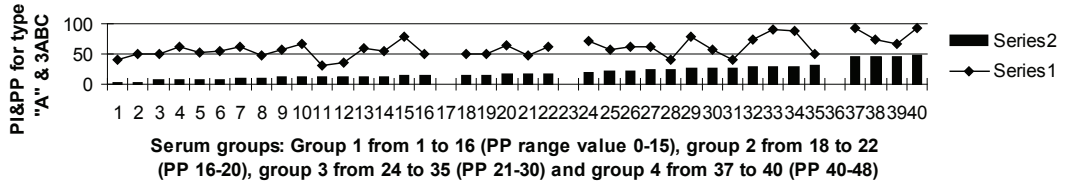
Serum group	3ABC	LPBE "A"			LPBE "SAT2"		
		+	+(-)	-	+	+(-)	-
El Moilh	+ 19	19	-	-	16	-	-
	BL -	-	-	-	-	-	-
	-ve 1	1	-	-	1	-	-
Abattoirs day 1	+ 19	19	-	-	5	-	10
	BL 2	1	1	-	-	-	2
	-ve 5	3	-	2	-	-	4
Abattoirs day 2	+ 16	14	-	2	4	-	9
	BL 3	2	1	-	-	-	3
	-ve 10	7	2	1	-	-	9
Total	+ 54	52	-	2	25	-	19
	BL 5	3	2	-	-	-	5
	-ve 16	11	2	3	1	-	13
	75	66	4	5	26		37

BL= borderline case

Table 5: Level of concordance and disconcordance between 3ABC and LPBE

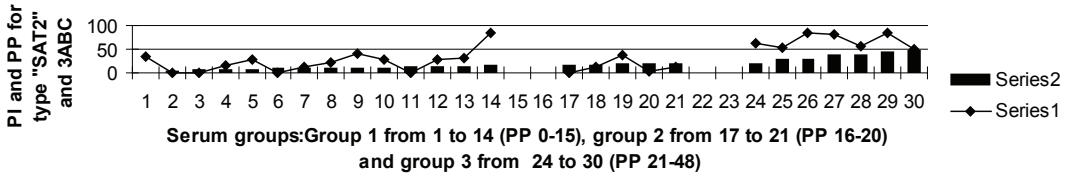
Type of LPBE	Total No. of results	No. agree with 3ABC	No. disagree with 3ABC	% concordant results	% disconcordant results
Type "A"	75	57	18	76%	24%
Type "SAT2"	63	38	25	60%	40%

Figure 1 a: Fitness of 3ABC and type "A" ELISA cutoff values



Series 1 = PI values in type "SAT2" ELISA.
Series 2 = PP in 3ABC.

Figure 1 b: Fitness of 3ABC and type "SAT2" ELISA cutoff values



Series 1 = PI values in type "SAT2" ELISA.
Series 2 = PP in 3ABC.

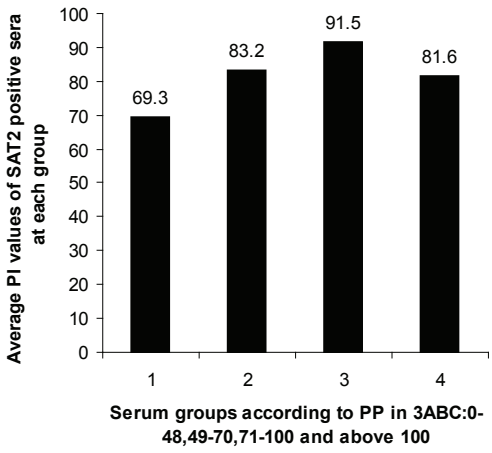


Fig. 2: Correlation between results of 3ABC and positivity to type "A"

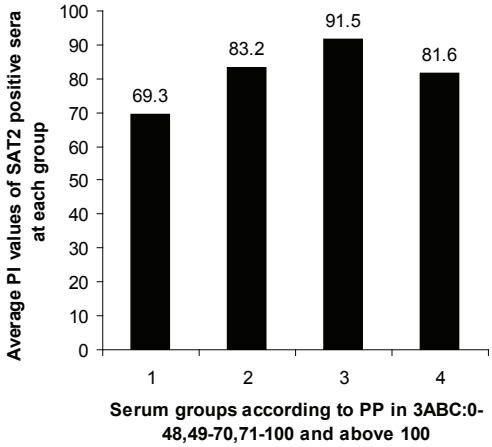
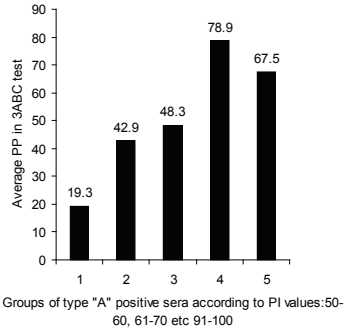
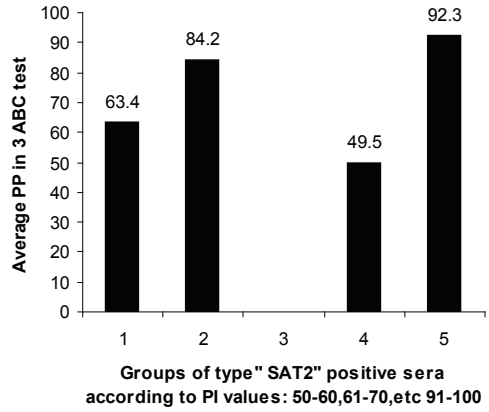


Fig. 3: Correlation between results of 3ABC and positivity to type "SAT2"



Increase in positive PI range values to SPs of type "A" was associated with increase in PP average values to 3ABC polyproteins, though immuity to NSPs is not serotype specific, indicating predominant type "A" (previous) infection.

Fig. 4: Correlation between positivity to SPs of type "A" and positivity to 3ABC polyproteins



Higher PP average values to 3ABC polyproteins were associated with type "SAT2" positive PI range values, in comparison to those associated with parallel type "A" positive PI range values (Fig. 4), was likely to be indicative of recent infection with "SAT2" virus (of fully susceptible cattle to the moderately prevalent serotype "SAT2").

Fig. 5: Correlation between positivity to SPs of type "SAT2" and positivity to 3ABC polyproteins

LPBE.

Fig. 2 and 3 show that, at the level of individual sera, the higher the PP of individual sera in 3ABC the higher was their average positive PI values for type "A" and "SAT2" in the LPBE. Fig. 4 shows, that the higher was type "A" positive PI range values, unlike "SAT2" (Fig. 5), the higher was the average values of PP to 3ABC polyproteins; what simulate the good correlation between seroprevalence´s of type "A" and anti-3ABC antibodies (Table 2), apart from type "SAT2" antibodies.

Agreement and disagreement between results of 3ABC and LPBE:

Agreement and disagreement in results of the three tests is detailed in Table 4. Level of concordance for type "A" and "SAT2" ELISA with the 3ABC was 76% and 60%

respectively, (Table 5). The 40% discordant results of type "SAT2", are all positive or borderline results in 3ABC (24 out of 25) that showed negative results for "SAT2" ELISA (Table 4) i.e. not negative 3ABC results showing positive"SAT2" results. On the other hand, the 24% discordant results of type "A" are negative or borderline results of 3ABC (16 out of 18) that showed positive reaction around the cut-off value (Fig. 1) to type "A" (Table 4) i.e. not positive 3ABC results showing negative type "A" results.

Discussion

Essentially, the 3ABC tests were developed to discriminate infected animals regardless of their vaccination history (Clavijo *et al.,* 2004). In countries seek to reclaim FMD-free status, they may need to substantiate absence of infection (Brocchi *et al.,* 2006). Likewise, in endemic areas they might be used for detection of FMD virus activity. Furthermore, in absence of FMD vaccination, association between 3ABC tests and combined tests for anti-SPs antibodies is to be expected. In this respect, only one animal showed complete disassociation between result of the 3ABC and results of the LPBE. It showed negative PP value but significant positive reaction to types "A" and "SAT2" (Fig.1a and b.). That could be attributed to vaccination. Vaccination against FMD is used in a limited manner in some intensive management systems in Central Sudan. On the other hand, considerable variability in the initiation, specificity and duration of immune response to NSPs was reported (Clavijo *et al.,* 2004). Concern was raised about non-specific cross reaction with the expression vectors antigens, used in 3ABC tests, particularly under field conditions and in the tropics (Clavijo *et al.,* 2004 and Bronsvoort *et al.,* 2004). In this work, the cutoff value of the 3ABC test was lowered from 48 to 15 and type "O", which was almost of similar prevalence to that of type "A", was not included in the study. Yet, when results of the two tests were compared, neither discrepancy nor non-specific reactions in the 3ABC results were observed. Only two sera had showed insignificant positive reaction in the 3ABC test (Fig 1a and table 4) and proved negative to the predominant type "A". The number of sera employed was relatively small. However, a similar study (Sorensen *et al.,* 1998a) has used even smaller number of animals; as high as 58.

Despite the fact that the two ELISAs detect different types of antibodies increase of seroprevalence as detected in the 3 test systems was concurrent (Table 2). The higher was the PP in the 3ABC test for a given serum, the more likely it showed positivity to both types in the LPBE (Table 3). Even at the level of individual animals, sera with higher positivity to the 3ABC polyproteins showed higher average positivity to type "A" and "SAT2" (Fig. 2 and 3). Similarly, sera with higher positivity to type "A" showed higher average positivity to the 3ABC polyproteins (Fig 4). This good correlation clearly gave credibility to results of both tests.

One of the main objectives of this work was to find additional evidence for the high prevalence of type "A" and the medium prevalence of type "SAT2" as detected by the modified LPBE. It is evident that, out of 66 sera proved to be positive to the predominant type "A", 52 sera (about 79%) were positive in the 3ABC ELISA (Table 4). They constituted almost all of 3ABC positive sera (96%), apart from 2 sera (n=54). On the other hand, out of 44 sera that proved to be positive in the 3ABC ELISA, only 25 sera (57%) were positive to the supposedly medium prevalent type "SAT2" (Table 4). Nonetheless, what gives credibility to these findings is the specificity of the positive reaction of the modified LPBE and the cut-off-value that determines positivity threshold in 3ABC test. Specificity of the positive reaction in the modified LPBE was confirmed by that all sera with PP below 20 in 3ABC were negative for the medium prevalent type "SAT2" (Table 4) with the exception of the aforementioned one serum (n=19). Moreover, all these sera were either negative or marginally positive for type "A" (Fig.1: a.). None of them (n=21) showed PI value above 65 in type "A" ELISA. As for the

positivity threshold in the 3ABC test, it was lowered from 48 (described in the commercial kit) to 15. The latter cutoff value has been used by the collaborating manufacturer in similar test procedure to this one (Robiolo *et al.,* 2006). It was used in this work to avoid the low sensitivity reported for the Svanovir kit at the cut-off-value of 48 (Brocchi *et al.,* 2006). These workers recognized two levels of sensitivity in detection of antibodies to NSPs in field samples from endemic areas; a superior level shown by the NCPanaftosa-screening which is the OIE index test, IZS-Brescia and Ceditest and a less sensitive level shown by the Svanovir, UBI and Chekit ELISAs. When the Chekit ELISA, was compared with virus neutralization test, as the gold standard, using cattle sera from endemic areas, it showed, as expected, a very low sensitivity of 23% (Bronsvoort *et al.,* 2004).

In the presented work, only 24% (Table 5) of results of type "A" LPBE (most predominant antibody) were discordant with the results of the 3ABC test (not serotype specific). The figure is similar to that obtained for the combined virus neutralization test (cVNT) and an experimental competitive 3ABC ELISA (*C-ELISA*) (Sorensen *et al.,* 1998b) in an area of endemicity, where discordant results were only 22% (Bronsvoort *et al.,* 2004). Comparable figures in this same work for the low sensitive 3ABC CHEKIT ELISA were 51%. Almost all of the discordant results, 18% in the first case and 50% in the second, were positive for the cVNT and negative for the 3ABC ELISA (Bronsvoort *et al.,* 2004). Similarly, in the presented work 21% (16 out of 18 sera) were negative or borderline results of 3ABC that showed positive reaction to the predominant type "A". Lower seroprevalence rates in 3ABC tests when compared with LPBE are to be expected because antibodies against the 3ABC polyproteins are short lived (De Diego *et al.,* 1997; Brocchi *et al.,* 1998; Chung *et al;* 2002; Clavijo *et al.,* 2004) in comparison to antibodies against SPs (Doel, 1996; Bronsvoort *et al.,* 2004) that are assayed in the LPBE.

The activity of types "A" and "SAT2" viruses and their predominant (type "A") and medium (type "SAT2") prevalence as detected by the LPBE were both reflected and distinguished in results of the 3ABC test. The positive correlation between PP range values of individual sera in 3ABC and their average positive PI values for types "A" and "SAT2" in the LPBE (Fig. 2 and 3) was a reflection of this activity. On the other hand, the positive correlation between positive PI range values to SPs of type "A" (Fig. 4), but not of type "SAT2" (Fig. 5), and the increase in PP average values to 3ABC polyproteins distinguished and confirmed the predominance of type "A" (previous) infection in the test group. The higher PP average values associated with type "SAT2" positive PI range values (Fig. 5), in comparison to those associated with parallel type "A" positive PI range values (Fig. 4), was likely to be indicative of recent infection with the moderately prevalent type "SAT2". Recent reports from Sudan indicated the clinical activity of types "O" and "SAT2", while type "A" was lastly reported in 2006 though it was the most prevalent by serology (Ferris; Habiela *et al.,* 2010; Raouf *et al.,* 2010). Also, in this respect it was striking to observe that, only the highest positivity to SPs of type "SAT2" (Fig. 5) matched that of 3ABC polyproteins, while at the highest positivity to the SPs of type "A" (Fig. 4) or to 3ABC polyproteins (Fig. 2 and 3), the described positive correlation was not maintained. It could largely be expected that the highest positivity in the 3ABC test is due to multi-serotype infection. Accordingly, it was quite consequent that the highest positivity to 3ABC polyproteins would not match the highest positivity to SPs of either serotype (Fig. 2 and 3). On the other hand, the highest positivity to SPs is likely to be due to recent or repeated (same serotype) infection. Whilst, it has been verified experimentally using 6 ELISAs for NSPs including the Svanovir kit (Brocchi *et al.,* 2006) that repeated infection (infection by the same serotype) would not boost immune response to NSPs as compared with immune response to SPs (due to limited virus multiplication). Repeated infection is more expected with the most prevalent type "A" (previous infection with type "A")

while recent infection of juvenile cattle (fully susceptible to serotype "SAT2") is more probable with the moderately prevalent type "SAT2". Accordingly, it was consequential that the highest positivity to SPs of type "SAT2", but not type "A", matched that of 3ABC polyproteins.

References

Abu Elzein E M E, 1983. Foot and mouth disease in the Sudan. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 2 (1): 177-188.

Abu El Zein E M E, Newman B J, Crowther J R, Barnett I T R and McGrane J J, 1987. The prevalence of antibodies against foot-and-mouth disease in various species of Sudanese livestock following natural infection. *Rev. Elev. Med. vet. Pays trop.* 40 (1): 7-12.

Alexandersen S, Zhang Z, Donaldson A I and Garland A J, 2003. The pathogenesis and diagnosis of foot-and-mouth disease. *J. Comp. Pathol.* 129: 1–36.

Anon, 2000. Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Borovets, Bulgaria, 5-8 September 2000, pp. 12-13, 224-240.

Brocchi E, Bergmann I E, Dekker A, Paton D J, Sammin D J, Greiner M, et al, 2006. Comparative evaluation of six ELISAs for the detection of antibodies to non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus. Vacc. 24(47/48): 6966-6979.

Brocchi E, De Diego M I, Berlinzani A, Gamba D and De Simmone F. 1998. Diagnostic potential of Mab-based ELISAs for antibodies to non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus to differentiate infection from vaccination. Vet. Q. 20(Suppl. 2): S20-S24.

Bronsvoort B M de C, Sorensen K J, Anderson J, Corteyn A, Tanya V N, Kitching R P and Morgan K L 2004. Comparison of two 3ABC enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of multiple-serotype foot-and-mouth disease in a cattle population in an area of endemicity. *J. Clin. Microbiol.* 42: 2108-2114.

Chénard G, Miedema K, Moonen P, Schrijver R and Dekker A, 2003. A solid-phase blocking ELISA for detection of type O foot-and-mouth disease virus antibodies suitable for mass serology. *J. Virol. Methods,* 107: 89-97.

Chung W B, Sorensen K J, Liao P C, Yang P C and Jong M H, 2002. Differentiation of foot-and-mouth disease virus infected from vaccinated pigs by enzyme-linked immunosorbent assay using nonstructural protein 3AB as the antigen and application to an eradication program. *J. Clin. Microbiol.* 40: 2843-2848.

Clavijo A, Wright P, and Kitching P, 2004. Development in diagnostic techniques for differentiating infection from vaccination in foot-and-mouth disease. Vet. J. 167: 9-22.

De Diego M, Brocchi E, Mackey D and De Simone F, 1997. The non-structural polyprotein 3ABC of foot-and-mouth disease virus as a diagnostic antigen in ELISA to differentiate infected from vaccinated cattle. *Arch. Virol.* 142: 2021-2033.

Doel T, 1996. Natural and vaccine-induced immunity to foot-and-mouth disease: the prospects for improved vaccines. Rev. sci. tech. *Off. int. Epiz.* 15: 883-911.

Ferris N P, 2007. Personal communication.

Habiela M, Alamin M A G, Raouf Y A and Ali Y H, 2010. Epizootiological study of foot and mouth disease in the Sudan: the situation after two decades. Veterinarski Arhiv. 80 (1): 11-26.

Hamblin C, Barnett I T R and Hedger R S, 1986. A new enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus. I. Development and method of ELISA. *J. Immunol. Methods*. 93: 115-121.

Mackay D K J, Bulut A N, Rendle T, Davidson F and Ferris N P, 2001. A solid-phase competition ELISA for measuring antibody to foot-and-mouth disease virus. *J. Virol Methods*. 97: 33–48.

OIE 2008 manual of Standard Diagnostic Tests and Vaccine for Terrestrial Animals. 2008. Foot-and-mouth disease. Pp.190-217.

Pinto A A and Garland J M, 1979. Immune response to virus-infection associated (VIA) antigen in cattle repeatedly vaccinated with foot-and-mouth disease virus inactivated by formalin or acetylethyleneimine. *J. Hyg. Camb*. 82:41-50.

Raouf Y A, Ali B H, El Amin M A and Abd alla S, (in press). Prevalence of antibodies against three active types of foot-and- mouth disease virus in cattle in Khartoum state at central Sudan: epidemiological significance. *Bull. Anim. Hlth. Prod. Afr.*

Raouf Y A, Ali B H, El Amin M A, Al shallali A M, Hiba Hashim and Habiela M, 2010. Laboratory investigation of three outbreaks of foot-and-mouth disease at central Sudan and the disease type situation. *Bull. Anim. Hlth. Prod. Afr*. 58 (4). 308-314.

Raouf Y A, Ali B H, El Amin M A, Habila M and Nur Eldien H, 2007. The liquid-phase-blocking ELISA for the detection of antibodies against foot-and-mouth disease virus: selection of antigen dose for the spot test. *The Sudan J. Vet. Res.* 22: 25-36.

Raouf Y A, Ali B H, Khair S M and El Amin M A, 2009. The Prevalence of Antibodies against SAT1 Foot-and-Mouth Disease Virus in Cattle in Khartoum State: epidemiological significance. *Bull. Anim. Hlth. Prod. Afr.* 57: 339-347.

Raouf Y A, El Amin M A, Salih M M, Mahasin El Nur, Ali B H, El-Eragi A M S, Mhagoup M I, Habila M, and Nur Eldien H, 2006. Some observations on the performance of the liquid-phase-blocking sandwich ELISA for the detection of anti-foot-and-mouth disease virus antibodies. The Sudan J. Vet. Res. 21, 35-47.

Robiolo B, Seki C, Fondevilla N, Grigera P, Scodeller E, Periolo O, La Torre J and Mattion N, 2006. Analysis of the immune response to non-structural proteins in cattle in Argentina by the combined use of liquid phase and 3ABC-ELISA tests. Vacc. 24: 997-1008.

Sorensen K J, Hansen C M, Madsen E S and Madsen K G, 1998b. Blocking ELISAs using the FMDV nonstructural proteins 3D, 3AB, and 3ABC produced in the baculovirus expression system. Vet. Q. 20: S17-S20.

Sorensen K J, Madsen K G, Madsen E S, Salt J S, Nqindi J and Mackay D K J, 1998a. Differentiation of infection from vaccination in foot-and-mouth disease by the detection of antibodies to the non-structural proteins 3D, 3AB and 3ABC in ELISA using antigens expressed in baculo-virus. *Arch. Virol.* 143: 1461-1476.

Mouchantat Susan, Haas B, Lutz W, Pohlmeyer K and Frölich K, 2005. Absence of Antibodies to Foot-and-Mouth Disease Virus in Free-ranging Roe Deer from Selected Areas of Germany (2001–2002). *J. Wildl. Dis*. 41 (3): 599-605.

ECTOPARASITES OF CHICKENS IN NORTH GONDAR, NORTHWEST ETHIOPIA

Wudu T[1]*, Alemayehu M[1], Wassie M[1], Gizat A[2], Sefinew A[1]
[1]Faculty of Veterinary Medicine, University of Gondar, Gondar, Ethiopia, P.O. Box 196
[2]National Animal Health Diagnostic and Investigation Center, Sebeta, Ethiopia, P.O.Box 04

Abstract

A cross sectional study on ectoparasites of chickens was conducted in North Gondar zone, northwest Ethiopia, from October 2010 to February 2011 with the objectives of determining prevalence, fauna and associated risk factors. A total 350 chickens, 260 from backyard system and 90 from intensive poultry farm were randomly sampled. Parasites were detected by thorough physical examination of different parts of the chickens' body and identified by using stereo and light microscope. Out of the total 260 backyard chickens examined, 39.23% (95%CI= 32.25% - 45.20%) were found to harbor ectoparasites. No ectoparasite was detected in chickens sampled from the intensive poultry farm. The most abundant group of ectoparasites detected in the back yard chickens were lice with prevalence of 30 %(95%CI = 24.35% - 35.60%). The lice species identified include *Menacanthus stramineus* (5%), *Goniocotes gallinae* (6.9%), *Goniodes species* (10%), *Cuclotagaster heterographus* (1.5%), *Lipeurus caponis* (1.2%), *Menopon gallinae* (1.2%) and 4.2 % mixed species of lice. Other ectoparasites identified were *Knemidocoptes mutans* (11.9%) and ticks of genera *Amblyomma* and *Argas* (1.9%). Sex of birds and agroecology of the source area were found significantly associated with lice infestation ($p < 0.05$). Lice infestation was found higher in male birds and in mid altitude areas. Generally the prevalence of ectoparasites on backyard chickens in the study area was relatively moderate compared with reports from other parts of Ethiopia. However, the magnitude was still sufficiently high to warrant attention in the development effort of the backyard poultry production. Therefore, practice of good hygiene and use of treatment against ectoparasites are recommended.

Key words: Backyard, Chicken, Ectoparasite, North Gondar, prevalence

ECTOPARASITES DE POULET DANS LA ZONE GONDAR NORD AU NORD-OUEST DE L'ETHIOPIE

Résumé

Une étude transversale a été menée sur les ectoparasites de poulet dans la zone Gondar Nord, au nord-ouest de l'Ethiopien, d'octobre 2010 à février 2011, avec l'objectif de déterminer la prévalence, la faune et les facteurs de risque associés. Au total, 350 poulets, dont 260 poulets de basse-cour et 90 poulets de ferme avicole intensive ont été choisis de façon aléatoire. Les parasites ont été détectés par un examen physique approfondi des différentes parties du corps des poulets et identifiés en utilisant des microscopes stéréo et classiques. Sur le total des 260 poules de basse-cour examinés, on a constaté que 39,23% (95% CI = 32,25% - 45,20%) avaient des ectoparasites. Aucun ectoparasite n'a été détecté chez les poulets choisis dans la ferme avicole intensive. Les ectoparasites les plus abondants détectés chez les poulets de basse-cour étaient les poux, avec une prévalence de 30% (95% CI = 24,35% - 35,60%). Les espèces de poux détectés comprenaient Menacanthus stramineus (5%), Goniocotes gallinae (6,9%), des espèces de Goniodes (10%), Cuclotagaster heterographus (1,5%), Lipeurus caponis (1,2%), Menopon gallinae (1,2%) et 4,2% d'espèces mélangées de poux. Les autres ectoparasites identifiés étaient Knemidocoptes mutans (11,9%) et des tiques des genres Amblyomma et Argas (1,9%). On a constaté que le sexe des oiseaux et l'agro-écologie de la zone source étaient significativement associés à l'infestation de poux ($p < 0,05$). L'infestation de poux était plus élevée chez les oiseaux mâles et dans les zones d'altitude moyenne. En général, la prévalence des ectoparasites sur les poulets de basse-cour

*Corresponding author: temesgenha@yahoo.com

dans la zone d'étude était relativement modérée par rapport à la prévalence signalée précédemment dans d'autres parties de l'Ethiopie. Cependant, l'ampleur reste suffisamment élevée pour justifier une attention - dans l'effort de développement - à la production avicole artisanale. Par conséquent, Il est recommandé de pratiquer une bonne hygiène et de recourir à un traitement contre les ectoparasites.

Mots-clés: basse-cour, poulet, ectoparasite, Nord Gondar, prévalence

Introduction

In Ethiopia, chickens are widespread and provide a valuable source of protein and income (Tadelle *et al.,* 2003, Moges *et al.,* 2010). The total poultry population of Ethiopia is estimated at 38.1 million, and about 99.5% are local chickens under the traditional backyard system with little or no inputs for housing, feeding or health care (CSA, 2009).

Disease, among other things, is the major constraint in village poultry production in Ethiopia (Tadelle and Ogle, 2001, Moges *et al.,* 2010). Poultry can easily be infected with several types of bacterial, viral, fungal and parasitic pathogens (Soulsby, 1982). Chickens in backyard production are at constant risk of infestation by both ecto and endo parasites since they get little to no feed supplementation; thus, resorting to scavenging and foraging to meet their nutritional requirements (Mungube *et al.,* 2008).

In Ethiopia little attention is given to diseases of backyard chickens in general and parasitic disease in particular because parasitic diseases are not usually total. Few studies conducted on ectoparasite of backyard chicken in Ethiopia revealed high prevalence in the Central. (Tolossa *et al.,* 2009; Belihu *et al.,* 2009) and Southern part of the country (Mekuria and Gezahagn, 2010). The present study was carried out to evaluate condition ecotoparasitism in chickens in north Gondar zone, North West Ethiopia. The study had specific objectives of determining of the prevalence, fauna and associated risk factors of chicken ectoparasites in the study area.

Materials and Methods

Study area and study animals

North Gondar zone is divided into three main agro-climatic zones, highland, midland and lowland. The altitude ranges from 550m to 4600m above sea level. The zone is characterized by two seasons; the wet seasons from June to September and dry seasons from October to May. The zone has a total chicken population of 3,286,769 (CSA, 2009). The study birds were local chickens kept in backyard production system sampled from three districts of the zone namely Wegera, Gondar Zuria, and Dembia and exotic breeds (Bovan Leghorn/ brown) chickens kept at Gondar university intensive poultry farm in Gondar town district. Wegera district has altitude range of 2300-3200 meters above sea level (masl); Gondar town, Gondar zuria and Dembia districts have altitude range of 1500- 3200 masl (Hurni,1998).

Study design and sampling

The study was cross-sectional conducted on a total 350 chickens. Wegera district representing highland part of the zone, and Gondar Zuria and Dembia districts representing midland part of the zone were purposively selected. From the backyard system, 260 chickens (Gondar Zuria = 80, Dembia = 90 and Wegera = 90) and 90 chickens from Gondar University intensive poultry farm (cage sytem) were randomly sampled.

Parasitological examination

The chickens frpm each study site were bought from local markets and brought to the Veterinary parasitology laboratory of Faculty of Veterinary Medicine of Gondar University and kept in separate boxes until they were examined. The chickens from intensive poultry farm at Gondar University were examined at the farm *in situ.* Before examination of chickens for ectoparasites the general physical appearance, growth of spur and comb were observed and brids were weighted. The chickens were classified as

young and adult. The age of the chickens were determined subjectively based on the size of crown, length of spur with general physical appearance and voice of chicken as indicated by Damerow (2001). Body conditions of chickens were determined based on body weight; for adult ≥800grams and young ≥ 565 grams were considered as good body condition and poor when less than that.

Different parts of the body of the chickens: head, wing, thigh, breast, vent and leg region were examined systematically and thoroughly for presence of mobile or attached parasites (lice, mite, tick and flea). Gross lesions (crustation) on legs and other featherless areas were also noted. Any ectoparasites found on body was brushed into a petridish and transferred into vial containing 70% ethanol for preservation. The legs with crustation were scraped until oozing of blood occurs, into a petridish using surgical blade. Scraped materials were transferred into microscopic slide and a drop of 10% KOH was added to dissolve the scraping and facilitate microscopic examination. Collected parasites were examined under stereomicroscope for general appearance and light microscope under lower objective for detail morphological examination. Identification of parasites was done based on the morphological features described by Wall and Shear (2001) and Taylor *et al.,* (2007). Degree of infestation for lice was determined by counting the lice collected from various body sites and classified as low (≤5 lice), medium (6-10) and high (>10).

Data management and analysis

The collected data were entered and stored into MS-Excel. Prevalence of ectoparasites was calculated and associations between ectoparsite infestation and potential risk factors (age, sex, body condition and agroecology) were analyzed by chi-square test. Statistical significance was considered at P <0.05%. Intercooled Stata 7(Stata corporation 1985-2001) software was used for the statistical analysis.

Results

Diverse species of external parasites of poultry were detected from chickens in the backyard production system in all the districts. But no ectoparasite was detected from intensively managed chickens from Gondar University poultry farm. Out of the total of 260 local chickens examined, 39.23% (95%CI= 32.25 - 45.20%) were found to harbor one or more species of ectoparasites. The most abundant group of ectoparasites detected were lice with a prevalence of 30 %(95%CI = 24.35- 35.60%). The different species of lice and their frequency of recovery are indicated in Table 1. Other ectoparasites found were scaly leg mite (*Knemidocoptes mutans*) with prevalence of 11.92% (95%CI = 7.9 - 15.88%) and two ticks (from genera of *Amblyomma* and *Argas*) (1.9%).

Out of all the chickens examined, lice were collected at frequency of 13.8%, 9.6%, 8%, 4.6%, 0.38% from breast, wing, vent, thigh and head of chickens respectively. On other hand, in about 6.9% of the chickens lice were found in two or more sites of chicken body. Low degree of infestation was common (19.6%). Medium and high degrees of infestation were found in 6% and 5.4% of chickens, respectively.

The possible associations of lice and mites, which were frequently detected ectoparasites in the study, with potential risk were analyzed, and Sex and agro ecology were significantly associated with lice infestation (P< 0.05) (Table 2 and Table 3).

Discussion

The results of this study revealed a wide range of parasitic infestations among backyard chickens but no ectoparasites were detected in chickens sampled from the intensively managed poultry farm at Gondar University. The observed 39.23% prevalence of ectoparasites in backyard production system chickens was relatively lower compared with those reported in studies on backyard chickens in other parts of Ethiopia like 91.5% by Belihu *et al.,* (2009) and 84 %

Table 1: Species of lice and their prevalence in backyard chickens

Species of lice	frequency of detection	Prevalence (%)
Menacanthus stramineus	13	5
Goniocotes gallinae	18	6.9
Goniodes species	26	10
Cuclotagaster heterographus	4	1.5
Lipeurus caponis	3	1.2
Menopon gallinae	3	1.2
Mixed	11	4.2
Total	**78**	**30**

Table 2: Association of chicken lice infestation with different potential risk factors.

Potential Risk factor		Number of examined	frequency of detection	Prevalence (%)	P-value
Sex	Male	123	45	36.58	0.02
	Female	137	33	24.08	
Age	Adult	213	61	28.63	0.30
	Young	47	17	36.17	
Body condition	Poor	110	28	25.45	0.17
	Good	150	50	30.00	
Agroceology	Midland	170	60	35.29	0.01
	Highland	90	18	20.00	

Table 3: Association of chicken scaly leg mite infestation with different potential risk factors.

Risk factor		Number of examined	frequency of detection	Prevalence (%)	P-value
Sex	Male	123	16	13.00	0.60
	Female	137	15	10.94	
Age	Adult	213	27	12.7	0.30
	Young	47	4	8.51	
Body condition	Poor	110	11	10.00	0.40
	Good	150	20	13.33	
Agroecology	Midland	170	22	12.94	0.48
	Highland	90	9	10.00	

Tolossa *et al.,* (2009) and some African countries such as, in Kenya 95% by Sabuni *et al.,* (2010), in Tanizania, 83.9% by Swai *et al.,* (2010). Relatively lower prevalence seen in the present study compared with other studies in Ethiopia could be due to more highland nature of the study area. Ectoparasites are thought to be more abundant in lowland areas compared with highlands (Mekuria and Gezahagn, 2010). The present study has also showed the ectoparasitism was higher in warmer than in cooler agroecological zones. The study did show not only lower prevalence but also lower degree of lice infestation in which 50 (64.1%) of the total 78 lice infested chickens showed low degree of infestations.

This study revealed absence of ectoparasites in intensively farmed chickens. Similar results were observed in other studies where chickens kept in the intensive farms were free of ectoparasites (Mekuria and Gezahagn, 2010, Abebe *et al.,* 1997). This may be directly related to improved hygienic management in intensive farm systems. High

prevalence is directly associated with poor hygienic management practices such as infrequent cleaning of chickens litter, keeping all age groups together, type of housing and others.

When ectoparasites were disaggregated by species, lice were the most prevalent ectoparasites (30%) followed by scaly leg mite (11.9%). Generally 6 genera of lice were observed including the most pathogenic chewing lice of poultry, *Menacanthus stramineus* (Sychra *et al.,* 2008). All these chicken lice were previously documented in Ethiopia by previous works (Abebe et al., 1997). Among the putative risk factors (sex, age, body condition and agroecology) assessed for their association with lice infestation only sex and agroecology were found statistically significant. Higher prevalence of lice was observed in male birds and this has been similarly reported in other studies (Mungube *et al.,* 2008; Belihu *et al.,* 2009; Mekuria and Gezahagn, 2010). The difference is hypothesized to be due to management factors, in which males mate several hens in the backyard system which increases their chance of infestation with ectoparsites, rather than intrinsic sex differences. A higher prevalence was also observed in the midlands compared with the highland. The higher prevalence of ectoparasites in the midlands could be attributed to the temperatures conducive for the development of parasites. The relatively warmer temperatures of midland as compared with highland areas provides favorable conditions for survival, propagation and life cycle progression of diverse ectoparasites fauna and similar effect of temperature was also observed in other studies (Salam *et al.,* 2009; Mekuria and Gezahagn, 2010). Although a higher prevalence of parasitism is a rule in young and animals in poor body condition (Wall and Shearer, 2001; Taylor *et al.,* 2007), no significant difference were observed in prevalence of lice between young and adult, and good and poor condition birds in this study. This could probably be due to subjectivity of classifying birds with respect to these parameters.

The only mite species observed in the present study was scaly leg mite, *Knemidocoptes mutans*. It has been reported in most chicken ectopatasite studies in Ethiopia showing that there is endemicity of the parasite in backyard chicken production in the country. Analysis of different risk factors with respect to prevalence of *Knemidocoptes mutans* showed no statistically significant association with any one of the factors considered (Table2).

In conclusion, the study revealed diverse ectoparasites in backyard chicken. The most prevalent ectoparasites were lice. The lice infestation was seen to be more prevalent in the midland areas which indicated the problem is more important in warmer areas.

Compared with previous studies in other parts of Ethiopia, a relatively moderate prevalence of ectoparasite infestation was observed in this study. The degree of infestation was also in most cases low. However, the presence of different lice species including the pathogenic ones warrants attention in development effort of backyard poultry production. Practice of good hygiene and use of treatment against ectoparasites are recommended to reduce infestation. Further studies on the exact effect of these ectoparsites in the backyard chicken production system are required.

Impact

This study showed the situation of ectoparasites of chicken for the first time in the study area, North West Ethiopia. The backyard poultry, especially in warmer climate in the midlands are affected by lice and scaly leg mites. A variety of lice species including the most pathogenic of the chewing lice *Menacanthus stramineus* were observed. Practice of good hygiene and use of treatment against these ectoparasites should be considered to improve productivity of backyard chickens.

References

Abebe W, Asfaw T, Genete B, Kassa B, Dorchies P,

1997. Comparative studies of external parasites and gastro-intestinal helminthes of chickens kept under different management system in and around Addis Ababa (Ethiopia). Rev. Med. Vet. 148: 497–500.

Belihu K, Mamo A, Lobago F, Ayana, D, 2009. Prevalence of ectoparasites in backyard local chickens in three agro ecological zones of East Showa, Ethiopia. Revue, Med. Vet., 160(11): 537-541

CSA, 2009. Federal democratic republic of Ethiopia Central statistical agency. Agricultural sample survey 2008/09. Volume II. Report on Livestock and livestock characteristics. Addis Ababa, Ethiopia.

Damerow G, 2010. Storey's Guide to raising chickens. 3rd edition. USA: storey publishing LCC. p. 262

Hurni, H. 1998. Agroecological Belts of Ethiopia. Explanatory notes on three maps at a scale of 1:1,000,000: A research report. Centre for Development and Environment Institute of Geography University of Berne Hallerstrasse 12 3012 BERNE Switzerland.

Mekuria S, Gezahegn E, 2010. Prevalence of External parasite of poultry in intensive and backyard chicken farm at Wolayta Soddo town, Southern Ethiopia. Veterinary World, 3(12): 533-538

Moges F, Tegegne A, Dessie T, 2010. Indigenous chicken production and marketing systems in Ethiopia: characteristics and opportunities for market oriented development. IPMS (improving productivity and market success) of Ethiopian farmers project working paper 24. Nairobi, Kenya, ILRI.

Mungube EA, Bauni SM, Tenhagen AB, 2008. Prevalence of parasites of local scavenging chickens in a selected semi-arid zone of eastern Kenya. Tropical Animal Health Production, 40: 101-108

Sabuni ZA, Mbutia PG, Maingi N, Nyaga PN, Njaga LW, Bebora LC, Michiel N, 2010. Prevalence of ectoparasites infestation in indigenous free-ranging village chickens in different agro ecological zones in Kenya. Research for rural development, 22(11).

Salam ST, Mir MS, Khan AR, 2009. Prevalence and seasonal variation of ectoparasites load in free-range chicken of Kashmir valley. Tropical Animal Health Production, 41:1371-1376

Soulsby EJL, 1982. Helminthes, arthropods and protozoa of Domesticated animals London: Bailliere Tindall. p. 452-455, 366-369.

Stata Corporation, 1985-2001. Stata Corporation, 702 university drive east, college station, TX 77840 USA.

Swai ES, Kessy M, Sanka P, Bwange S, Kaaya JE, 2010. Survey on ectoparasites and heamoparasites of free-range indigenous chickens of Northern Tanzania. Veterinary investigation center: Arusha, Tanzania. 1, 5-6

Sychra O, Harmat P, Litera´k I, 2008. Chewing lice (Phthiraptera) on chickens (Gallus gallus) fromsmall backyard flocks in the eastern part of the Czech Republic. Veterinary Parasitology 152, 344–348 (short communication).

Tadelle D, Million T, Alemu Y, Peters KJ, 2003. Village chickens production system in Ethiopia: Use patterns and performance evaluation and chicken products and socio-economic functions of chicken. Livestock Research for Rural Development. Available from http://www.lrrd.org/lrrd15/1tadeb151.htm) (Accessed on 23 July 2011).

Tadelle D, Ogle B, 2001. Village poultry production system in the central highlands of Ethiopia. Tropical animal health and production, 33(6) 521-537

Taylor MA, Coop RL, Wall RL, 2007. Veterinary parasitology. 3rd edition. USA: Black well publisher. P.520-535

Tolossa YH, Shafi Z D, Basu A K, 2009. Ectoparasites and gastrointestinal helminthes of chickens of three agro-climatic zones in Oromia Region, Ethiopia. Animal Biology, 59 (3): 289-297

Wall R, Shearer D, 2001. Veterinary ectoparasites: biology, pathology and control, 2nd Ed. London: Black well science. 236-239

EFFETS DE DIFFÉRENTS NIVEAUX DE SUPPLÉMENTATION AUX FEUILLES DE MANIOC (MANIHOT ESCULENTA) SUR LES PERFORMANCES DE CROISSANCE, LA CHARGE PARASITAIRE ET QUELQUES CARACTÉRISTIQUES DU SANG CHEZ LA CHÈVRE NAINE DE GUINÉE

Boukila B[2], Tendonkeng F[1], Lemoufouet J[1] et Etienne Pamo T[1]
[1]Laboratoire de Nutrition Animale, Département des Productions Animales, FASA, Université de Dschang, B.P. 222 Dschang, Cameroun pamo_te@yahoo.fr
[2]Institut National Supérieur d'Agronomie et de Biotechnologie (INSAB), Université des Sciences et Techniques de Masuku, B.P. 941. Gabon

Resume

L'étude de l'effet de deux niveaux de supplémentation des feuilles fraîches de manioc (Manihot esculenta) sur les performances de croissance, la charge parasitaire et quelques caractéristiques du sang chez la chèvre naine de Guinée a été menée à la Ferme d'Application et de Recherche (FAR) de l'Université de Dschang. Dix-huit chèvres naines de Guinée âgées entre 14 et 18 mois, et pesant en moyenne 16,67kg ont été reparties en 3 lots de 6 animaux chacun en fonction du poids et de l'âge: le lot 0 (lot témoin) recevait uniquement du fourrage de base constitué de Brachiaria ruziziensis, tandis que le lot 1 et le lot 2 recevaient en plus du fourrage de base, 400 et 800g de feuilles fraîches de manioc respectivement. Des échantillons de B. ruziziensis et de M. esculenta ont été récoltés et analysés en vue de la détermination de la composition chimique. Les refus du supplément étaient pesés tous les matins avant de servir le nouveau supplément et les animaux étaient pesés tous les 10 jours pendant la période de l'essai (80 jours). Les notes d'état corporel (NEC) ont été évaluées au début et à la fin de l'essai. Il ressort de cette étude que les feuilles de manioc étaient riches en matières azotées (28,54% de MS) et pauvre en cellulose (2,95% de MS). Les animaux du lot témoin ont perdu en moyenne 10,25 ± 58,06g par jour. Ceux des lots supplémentés à 400 et 800g feuilles de manioc ont réalisés des gains moyens quotidiens de 18,50 ± 45,44 et de 32,75 ± 58,15g. La meilleure NEC a été enregistrée chez les animaux supplémentés à 400g, soit 2,83 ± 0,54, suivie de ceux supplémentés à 800g (2,56 ± 0,80). Six genres parasitaires gastro-intestinaux ont été identifiés : Trichostrongylus, Chabertia, Oesophagostomum, Eimeria avec une prévalence de 100%, Haemonchus et Strongyloïdes avec une prévalence de 16,67%.

La supplémentation avec les feuilles de manioc n'a pas influencé pas le nombre de globules rouges, de globules blancs, l'hématocrite et la vitesse de sédimentation du sang.

Mots clés: Caractéristiques du sang, charge parasitaire, feuilles de manioc, performance de croissance, supplémentation.

EFFECTS OF DIFFERENT LEVELS OF SUPPLEMENTATION WITH CASSAVA LEAVES (MANIHOT ESCULENTA) ON GROWTH, PARASITE LOAD AND SOME CHARACTERISTICS OF BLOOD IN THE DWARF GOAT OF GUINEA

Abstract

A study of the effect of two levels of supplementation with fresh leaves of cassava, on the growth performance, body condition score and on some blood characteristics of West African Dwarf goat was carried out in the experimental farm of the University of Dschang. Eighteen West African Dwarf goats aged 14 to 18 months, were divided into 3 groups of 6 animals each, based on their body weight and age: group 0 was kept as control and were fed only with Brachiaria ruziziensis; group 1 received in addition as supplement 400g of fresh cassava leaves (*Manihot esculenta*) per animal per day, while group 2 received in addition 800g of cassava leaves per animal per day. Samples of Brachiaria ruziziensis and Manihot esculenta leaves were harvested and taken to the laboratory for determination

Corresponding author: Cameroun pamo_te@yahoo.fr

of the chemical composition. The refusals of supplement were weighed every morning while animals were weighed every 10 days throughout the duration of the experiment (80 days). The body condition score were carried out at the beginning and at the end of the study. From the results of this study, it appears that, cassava leaves are richer in crude protein (28.54% DM) and poor in digestible cellulose (2.95% DM) than B. ruziziensis leaves (respectively 19.54% and 16.94% DM). Animals of the control group lost about 10.25 ± 58.06g. The group 1 and 2 animals recorded daily weight gains of 18.50 ± 45.44 and 32.75 ± 58.15g respectively. The highest body condition score was recorded with animals of group 1 (2.83 ± 0.54), followed by that of group 2 (2.56 ± 0.80). It appears that fresh leaves of cassava could be used as a source of proteins to supplement numerous tropical grasses, characterised by their low protein content. Furthermore, Six gastro-intestinal parasite genera were identified: Trichostrongylus, Chabertia, Oesophagostomum, Eimeria with a prevalence of 100%, Haemonchus and Strongyloïdes with a prevalence of 16.67%. Also, supplementations with fresh cassava leaves do not affect red blood cells, white blood cells, haematocrite and sedimentation speed of the blood of Dwarf goat in this study.

Key words: Blood characteristics, cassava leaves, gastro-intestinal parasites, growth performance, supplementation.

Introduction

En dépit de l'opportunité qu'offrent les productions animales dans les pays en voie de développement, la croissance démographique continue à réduire l'équilibre précaire qui existe entre la demande et l'offre en divers produits d'origine animale. Rivière (1991), estime qu'au cours des 25 prochaines années, la demande va croître 2,5 fois plus vite que l'offre si les programmes d'intensification massive des systèmes de productions ne sont pas développés, en vue de juguler ce déficit prévisible.

La chèvre naine de Guinée, élevée dans la quasi-totalité des régions du Cameroun (Pamo *et al.,* 2001), joue un rôle important dans les systèmes de production alimentaire. Elle s'adapte aux climats et conditions d'élevage les plus variés. Cependant, sa productivité reste faible; les causes sont nombreuses au rang desquels les maladies et surtout la sous-alimentation (Pamo *et al.,* 2005).

Les feuilles de manioc peuvent être non seulement une source de protéines mais elles sont aussi riches en vitamine (Kim Lin *et al.,* 2003). Malgré leur appétibilité, il nous est apparu nécessaire de chercher le niveau optimal de feuilles de manioc dans la ration de la chèvre naine de Guinée afin de rationaliser son utilisation tout en l'amenant à permettre une extériorisation de ses potentialités et contrôler son parasitisme.

Aussi, ce travail avec les feuilles de manioc, ressources riches en tannins a été développé avec pour objectif général de contribuer à la recherche des moyens permettant d'améliorer la productivité et l'état de santé des petits ruminants et plus spécifiquement, il s'agissait pour nous d'évaluer l'effet de différents niveaux de feuilles de manioc sur les performances pondérales, la note d'état corporel, la charge parasitaire et quelques caractéristiques du sang chez la chèvre naine de Guinée.

Materiel et Methode

Zone d'étude

L'étude a été réalisée à la Ferme d'Application et de Recherche (FAR) de la Faculté d'Agronomie et des Sciences Agricoles (FASA) de l'Université de Dschang. Les analyses bromatologiques ont été effectuées dans le laboratoire de Nutrition Animale de la même Faculté. Dschang est une ville située entre 5 et 6° latitude Nord et entre 10 et 11° longitude Est, à une altitude d'environ 1420m dans les hautes terres de l'Ouest Cameroun. Le climat de la région est équatorial de type camerounien d'altitude.

Les précipitations dans cette zone varient entre 1500 et 2000mm par an. Les températures moyennes annuelles oscillent entre un minimum de 10°c en juin-août et un maximum de 30°c en février. La végétation originelle de cette région était une savane

arbustive avec par endroit des forêts galeries. Dschang connaît une courte saison sèche (mi-novembre à mi-mars) et une longue saison pluvieuse (mi-mars à mi-novembre) correspondant à la principale période de culture (Pamo *et al.,* 2005).

Matériel végétal

Les feuilles de manioc (Manihot esculenta) fraîchement récoltées dans les villages environnants de la ville de Dschang, ont été transportées à la FAR de l'Université de Dschang où elles ont été aussitôt pesées et réparties en tas de 400 et 800g.

A chaque arrivage de feuilles de manioc à la FAR, un échantillon de 200g, de même qu'un échantillon de 200 g de Brachiaria ruziziensis récolté sur les parcours de la FAR étaient prélevés, transportés au laboratoire, et séchés à l'étude à 50°c jusqu'à poids constant, puis broyés et conservés en vue des analyses chimiques.

Matériel animal

Un total de dix-huit chèvres issues des élevages traditionnels de l'Ouest Cameroun ont été achetées sur les marchés de la ville de Dschang et des villages environnants. Ces animaux ont été acclimatés à la FAR pendant 30 jours.

Trois loges de 7,5m² (3 x 2,5m) de superficie chacune, dans un bâtiment construit en planche sur pilotis servaient de logement pour les différents groupes d'animaux. Ces animaux étaient conduits au pâturage tous les matins à 08 heures et rentraient dans leur loge le soir à 17 heures pendant toute la durée de l'expérimentation.

Avant le début de l'essai, tous les animaux ont été vaccinés contre la Peste des Petits Ruminants (PPR), un traitement préventif d'antibiotique à la Pénistreptomycine-400 (0,5ml/10Kg de poids vif par animal pendant 3 jours par voie intra-musculaire), à l'Oxytétracycline Longue Action (1ml/10Kg de poids vif par animal et par voie intra-musculaire) et à l'Enrofloxacine (1ml/10Kg de poids vif par animal et par voie intra-musculaire), ainsi qu'une multivitamine anti-stress (5ml en intra-musculaire/animal pendant 3 jours) a été administré à toutes les chèvres. Un déparasitage externe à l'aide du Cyperméthrim 10% (1ml/10litres d'eau) dans un bain détiqueur a été également réalisé une fois par mois.

Conduite de l'essai

Dix-huit chèvres ont été pesées à jeun 24 heures avant le démarrage de l'essai et reparties en 3 lots de 6, équilibrés en poids et en âge. L'âge de chaque chèvre était déterminé à partir de sa dentition (Corcy, 1991). Ces animaux étaient âgés entre 14 et 18 mois et pesaient en moyenne 16,67kg au début de l'essai.

Au début de l'essai, chaque animal a été identifié par un numéro accroché à son cou. Les fecès de chaque animal fraîchement récoltés dans l'ampoule rectale (méthode directe) ont été aussitôt acheminés au laboratoire pour une analyse coproscopique dans le but de rechercher et identifier les types de parasites et leur nombre. Les œufs de parasites par gramme de fecès (OPG) ont été comptés par la méthode de Mc Master (Thienpont *et al.,* 1979). Ceci nous permettait de savoir le degré d'infestation et d'établir une carte parasitaire de chaque chèvre avant le démarrage de l'essai car aucun déparasitage interne n'avait été au préalable effectué.

Le nombre de globules rouges, de globules blancs, l'hématocrite et la vitesse de sédimentation du sang de chaque chèvre ont été évalués avant le démarrage des travaux.

Les animaux pâturaient sur un parcours constitué essentiellement de Brachiaria ruziziensis. Les chèvres des lots supplémentés en plus de ce pâturage naturel, recevaient des feuilles de manioc: le premier lot (lot 1) recevait 400g de feuilles fraîches de manioc par animal par jour, tandis que le deuxième lot (lot 2) en recevait 800g. Ces quantités ont été choisies sur la base des travaux antérieurs réalisés à l'Université de Dschang (Pamo *et al.,* 2001). Le troisième lot (lot 0) ne recevait aucun supplément pendant les 80 jours d'essai. Les refus de chaque loge ont été collectés et pesés chaque matin avant de servir le nouveau supplément le soir au retour des pâturages.

La pesée des chèvres se faisait tous les 10 jours à jeun pendant la période de l'essai. L'évaluation de l'état des animaux par la note d'état corporel (NEC) a été réalisée au début et à la fin de l'expérimentation.

Les fecès de l'ampoule rectale ont été directement prélevés tous les 10 jours à l'aide des gants en plastique. Ces échantillons ont été immédiatement transportés au laboratoire pour analyse coproscopique.

Deux grammes de fecès ont été triturés dans un mortier, puis dilués dans 28 ml d'une solution saturée de NaCl. Après homogénéisation de cette solution, elle a été filtrée au moyen d'un tamis de faibles mailles (150µm de diamètre). La cellule de comptage a été remplie au moyen d'une pipette, en tenant la cellule légèrement inclinée pour permettre aux bulles d'air de s'échapper. Après 2 à 3 minutes, les œufs ont flotté à la surface du liquide d'enrichissement et ont adhérés à la lamelle recouvrant la cellule. Ces œufs de parasites ont été comptés à l'objectif 10X sur un microscope optique.

L'identification a été faite sur la base de la forme, de la taille et du nombre de blastomères de chaque parasite. Le comptage des œufs a été faite dans les deux chambres de la cellule de Mc Master selon Thienpont *et al.,* (1979).

Le sang a été prélevé de façon aseptique par ponction d'une veine jugulaire externe et introduit dans un tube contenant un anticoagulant: sel disodique pur de l'acide éthylène diamine tétracétique (EDTA) à raison de 0,1mg/ml de sang tous les 10 jours pendant la période de l'essai. Le sang collecté a été aussitôt transporté au laboratoire pour analyse.

Les numérations globulaires ont été effectuées à l'hématimètre de Thomas, suivant les techniques décrites par Theml (2000).

L'hématocrite a été évalué par la méthode du micro hématocrite décrite par Benson *et al.,* (1992).

La mesure de la vitesse de sédimentation du sang a été faite par la méthode classique de Western Green suivant la technique décrite par Sebahoun (1998).

La matière sèche (MS) a été déterminée en séchant 0,5g d'échantillon à l'étuve pendant une nuit tandis que les cendres ont été déterminées par incinération à 500°c pendant 6h. La teneur en azote a été déterminée par la méthode de Kjeldahl. Les protéines brutes ont été calculées en multipliant la teneur en azote par 6,25. Les lipides ont été déterminés par la méthode de Soxhlet et la matière organique selon AOAC (1990. Les fibres (NDF, ADF, ADL) ont été déterminées par la méthode de Van Soest (1991) et la quantification des tannins a été faite selon les techniques proposées par Makkar *et al.,* (1998).

Analyses statistiques

L'analyse de variance suivie du test de Waller Duncan au seuil de 5%, quand les différences étaient significatives, a été utilisée pour la comparaison des performances pondérales, des OPG et des caractéristiques du sang. Les OPG étaient soumis à une transformation log (x + 1) préalable, compte tenu des fortes variations des valeurs obtenues (Steel et Torrie, 1980). La comparaison de la note d'état corporel des animaux au début et à la fin de l'essai a été faite par le test de Student.

Resultats

Composition chimique des fourrages

La composition chimique du Brachiaria ruziziensis et de Manihot esculenta est présentée dans le Tableau 1.

Il ressort de ce tableau que les feuilles de manioc ont une teneur en MAT élevé comparé aux feuilles de Brachiaria ruziziensis. La cellulose, principale source d'énergie pour les polygastriques est plus élevée dans les feuilles de Brachiaria ruziziensis que dans les feuilles de manioc, ce qui fait des feuilles de *B. ruziziensis* un aliment relativement plus énergétique que les feuilles de manioc. La forte teneur en MAT des feuilles de manioc fait d'elles une importante source de protéine pour les animaux. En outre, ces feuilles contiennent des tannins condensés connus pour ses propriétés anthelminthiques.

Tableau 1: Composition chimique du Brachiaria ruziziensis et de Manihot esculenta

Aliments	Compositions chimiques (%MS)											
	MO	MAT	Lipides	Cendres	NDF	ADF	ADL	Cel	HCel	PT	TT	TC
Brachiaria ruziziensis	84,87	19,54	2,71	15,13	45,91	26,53	23,57	16,94	13,38	-	-	-
Manihot esculenta	91,81	28,54	6,81	8,08	29,70	23,38	6,44	2,95	6,31	8,11	6,46	0,54

MS: *Matière sèche;* NDF: *Neutral Detergent;* Cel:*Cellulose;* TT: *Tannins totaux,*
MO: *Matière organique;* ADF: *Acid Detergent Fibre;* H Cel:*Hémi-Cellulose;* TC: *Tannins condensés,*
MAT: *Matières azotées totales;* ADL: *Acid Detergent Lignin;* PT: *Phénols Totaux*.

Tableau 2: Ingestion moyenne de la matière sèche (MS) et des matières azotées des feuilles de Manihot esculenta par animal par jour pendant l'essai.

Qté offerte	Ingestion	Temps (jours)								Moyenne
		10	20	30	40	50	60	70	80	
Lot 1 400g/animal/jour	Qté ing. (g)	348,16	389,50	394,0	397,66	399,0	398,99	399,83	398,83	
	Eq.MS.ing. (g)	94,0	105,16	106,38	107,36	107,73	107,73	107,95	107,68	
	Eq N(g)	4,29	4,80	4,86	4,90	4,92	4,92	4,93	4,92	
	Taux d'ingestion %	87,04	94,37	98,50	99,41	99,75	99,75	99,96	99,71	97,31
Lot 2 800g/animal/jour	Qté ing. (g)	625,50	706,50	769,83	772,50	766,66	766,99	775,99	789,66	
	Eq. MS. ing. (g)	166,88	120,75	207,85	208,58	206,99	207,90	209,52	212,94	
	Eq. N(g)	7,71	8,70	9,49	9,52	9,45	9,49	9,57	9,72	
	Taux d'ingestion %	78,19	88,31	96,23	96,56	95,83	95,87	97,00	98,50	93,31

Qté ing.: *Quantité ingérée*,, Eq. N: *Equivalent en azote,*
Eq. MS. ing.: *Equivalent en matière sèche ingérée*
E *nt en matières azotées totales.*

Consommation du supplément

L'ingestion moyenne du supplément, de même que l'équivalent en azote par animal et par jour sont présentés dans le Tableau 2.

Ce tableau montre qu'une proportion très importante du supplément offert aux animaux était consommée dans les deux lots. En effet, le taux moyen d'ingestion des feuilles de manioc était respectivement de 97,31 et 93,31% dans le lot 1 et 2. Par ailleurs, le pourcentage d'ingestion croît avec le temps pendant les 20 premiers jours de l'essai et varie très peu entre le 30^{ième} et le 80^{ième} jour.

Les quantités de matières sèches et de matières azotées ingérées par les animaux du lot 2 représentent environ le double des quantités ingérées par ceux du lot 1.

Effet des feuilles de manioc sur les performances pondérales et la note d'état corporel

L'évolution du poids des animaux en fonction de l'alimentation est illustrée par la figure 1. Il ressort de cette figure que, les animaux du lot témoin ont perdu du poids pendant la majeure partie de l'essai. Avec un poids moyen de 16,54 ± 2,51 kg au début de l'essai, ces animaux ont eu en fin de l'essai un poids moyen de 15,98 ± 2,50 kg. Les animaux des lots supplémentés aux feuilles de manioc par contre ont réalisé un accroissement régulier de poids, de 17,85 ± 2,11 à 19,35 ±2,18 kg pour ceux du lot 1, et de 15,62 ±3,67 à 18,24 ± 3,49 kg pour ceux du lot 2.

La comparaison des moyennes a montré des différences significatives ($p<0,05$) entre l'évolution du poids des animaux du lot témoin et celle des animaux des lots supplémentés aux feuilles de manioc. Par contre, il n'y a pas eu de différences significatives ($p>0,05$) entre l'évolution du poids des animaux supplémentés à 400g de feuilles de manioc et celle des animaux supplémentés avec 800g de feuilles de manioc. Le gain moyen quotidien (GMQ) des chèvres en fonction de l'alimentation est présenté dans le Tableau 3.

Il ressort de ce tableau que les animaux du lot témoin ont perdu en moyenne 10,25g par jour. Les GMQ réalisés par les animaux des deux lots supplémentés sont statistiquement comparables ($p>0,05$). Ce résultat semble indiquer que la ration de 400g/j de feuilles fraîches de manioc comme supplément serait suffisante pour qu'une chèvre nourrie au *B. ruziziensis* réalise une amélioration de son poids. Les animaux supplémentés à 800g de feuilles de manioc ont enregistré statistiquement le GMQ le plus élevé ($p<0,05$) par rapport à ceux supplémentés à 400g de feuilles de manioc.

Les notes d'état corporel (NEC) moyennes en fonction du régime alimentaire sont présentées dans le Tableau 4.

Au début de l'essai, les animaux des différents lots ont eu des NEC statistiquement comparables ($p>0,05$). Au terme de l'essai, les NEC des animaux des lots supplémentés ont été statistiquement comparables ($p>0,05$) mais significativement plus élevé ($p<0,05$) que la NEC des chèvres du lot témoin.

Faune parasitaire et effet des feuilles de manioc

Les œufs observés chez les animaux pendant cette étude appartiennent à 6 genres parasitaires. Notamment, les nématodes des genres Trichostrongylus, Chabertia, Oesophagostomum, Haemonchus et Strongyloïdes, et les coccidies du genre Eimeria.

Les prévalences, nombre d'animaux infestés par rapport à l'effectif total sont présentées dans le Tableau 5.

Ce tableau montre que les genres parasitaires les plus prévalant étaient les genres Eimeria, Trichostrongylus, Chabertia et Oesophagostomum car, ils étaient présent dans le tractus digestif de tous les animaux étudiés. Les genres Haemonchus et Strongyloïdes étaient les moins prévalant et n'étaient rencontrés que chez les animaux du lot témoin.

L'évolution du nombre d'œufs par gramme de fecès (OPG) est illustrée par le Tableau 6. De ce tableau, on remarque que les OPG sont relativement faibles pendant les 30 premiers jour de l'essai dans les trois lots, puis augmentent jusqu'au 50ième jour chez les animaux des lots recevant les feuilles de manioc. Pendant ce temps, les animaux du lot témoin présentaient une charge parasitaire croissante jusqu'au 60ième jour. La baisse des OPG survenue à partir du 50ième jour chez les animaux des lots supplémentés aux feuilles de manioc n'est apparue qu'à partir du 60ième jour chez ceux du lot témoin.

Effet des feuilles de manioc sur quelques caractéristiques du sang

L'évolution de quelques caractéristiques du sang entre le début et la fin de l'essai est présentée par le tableau 7. Il ressort de ce tableau que le nombre de globules rouges chez les animaux des trois lots a baissé pendant la durée de l'essai. La comparaison des moyennes n'a montré aucune différence significative ($p>0,05$) de l'évolution de ce paramètre entre les animaux du lot témoin et ceux des animaux des lots supplémentés aux feuilles de manioc. En outre, l'analyse de la variance des données moyennes du nombre de globules blancs, de l'hématocrite et de la vitesse de sédimentation globulaire n'a montré aucune différence significative ($p<0,05$) entre les animaux du lot témoin et ceux des animaux des lots supplémentés à ces feuilles.

Discussion

L'analyse de la valeur alimentaire du fourrage de base et du supplément a montré que les feuilles de manioc sont plus riches en MAT et pauvre en cellulose que les feuilles

Tableau 3: Evolution des gains moyens quotidiens (GMQ) des chèvres en fonction de l'alimentation.

Traitements	Poids initial (Kg)	Poids final (Kg)	Gain total (Kg)	GMQ (g)
Lot 0	16,54 ± 2,51[a]	15,98 ± 2,50[a]	- 0,56 ± 5,01[b]	-10,25 ± 58,06[b]
Lot 1	17,85 ± 2,11[a]	19,35 ± 2,18[a]	1,50 ± 4,29[a]	18,50 ± 45,44[a]
Lot 2	15,62 ± 3,67[a]	18,24 ± 3,49[a]	2,62 ± 7,16[a]	32,75 ± 58,15[a]

a, b; Les moyennes portant la même lettre dans la même colonne sont statistiquement comparables à p>0,05.

Tableau 4: Notes d'état corporel moyennes au début et à la fin de l'essai

Traitements	Notes d'état corporel	
	Début	Fin
Lot 0	1,67 ± 0,54[a]	1,58 ± 0,82[b]
Lot 1	1,92 ± 0,66[a]	2,83 ± 0,54[a]
Lot 2	1,89 ± 0 64[a]	2,56 ± 0,80[a]

a, b: Les moyennes portant la même lettre dans la même colonne sont statistiquement comparables (p>0,05).

Tableau 5: Prévalences des différents genres parasitaires observés au début de l'essai

Genres parasitaires	Nombre d'animaux infestés	Prévalence (%)
Eimeria	18	100
Trichostrongylus	18	100
Chabertia	18	100
Oesophagostomum	18	100
Haemonchus	03	16,67
Strongyloïdes	03	16,67

de *B. ruziziensis*. Par contre, les feuilles de *B. ruziziensis* ont des teneurs en hémi-cellulose et en cendres plus élevées que celles des feuilles de Manihot esculenta. Dans les deux cas, ces teneurs sont relativement plus élevées que celles obtenues par Boudet (1991) pour les feuilles de *B. ruziziensis,* et Vong Samphanh et Wanapat (2004) pour les feuilles de M. esculenta. Ces auteurs ont également obtenu une teneur en tannins condensés de 3,8% MS, supérieure à celle obtenue dans notre essai (0,54% MS). Ces différences pourraient être liées à la variété, au type de sol, à la zone géographique, au stade végétatif et à l'effet saison de récolte (Pamo *et al.,* 2005).

Les chèvres supplémentées aux feuilles de manioc ont réalisé un gain de poids significativement supérieur (p<0,05) à celui des chèvres recevant uniquement le B. ruziziensis. Ce qui pourrait s'expliquer par le fait que, les animaux des lots supplémentés ont reçu en plus de ce fourrage, des feuilles de manioc, aliment riche non seulement en protéine mais aussi en énergie. Ces résultats sont en accord avec les observations de Sokerya et Preston (2003) qui ont obtenu des gains de poids quotidien (GMQ) élevé chez les chèvres supplémentées aux feuilles de manioc et ce, comparé aux chèvres non supplémentées. Cependant, les GMQ observés chez les différents lots étaient inférieurs à ceux rapportés par Kim Lin *et al.,*(2003) avec une ration de base constituée de Panicum liconi et de Brachiaria ruziziensis.

Les notes d'état corporel (NEC) enregistrées chez les animaux des lots recevant les feuilles de manioc étaient statistiquement supérieures (p<0,05) à celles des animaux du lot témoin. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Pamo *et al.,* (2005) sur les moutons Djallonke (2,60±0,326g) supplémentés au bloc à nutriments multiples où la complémentation protéique avait permis d'augmenter la consommation et l'utilisation des fourrages du pâturage naturel, et d'assurer un meilleur état corporel aux animaux. Ils sont cependant inférieurs à ceux observés par Dedieu *et al.,*

Tableau 6: Evolution des OPG en fonction de l'alimentation et du temps

Traitement/ type de parasite	Durée du traitement (jour)								
	0	10	20	30	40	50	60	70	80
Témoin (lot 0)									
Coccidie	210,17 ±127,69* (1261)£	599,00 ±653,67 (3594)	342,17 ±223,98 (2053)	47,00 ±0,00 (282)	2013,33 ±2313,14 (12080)	3924,00 ±1940,99 (15120)	6141,40 ±6920,24 (30707)	4143,80 ±1768,07 (29719)	1801,20 ±1707,57 (9006)
Nématodes	288,50 ±167,65 (1731)	653,67 ±400,18 (3922)	606,33 ±433,12 (3638)	358,50 ±269,59 (2151)	420,67 ±164,71 (2524)	602,67 ±480,48 (5416)	980,33 ±690,84 (5882)	676,67 ±459,63 (4060)	630,17 ±496,84 (3781)
Lot1 (400 g/Animal/ Jour)									
Coccidie	365,50 ±148,69 (2193)	365,50 ±148,69 (2193)	109,17 ±152,28 (655)	47,00 ±0,00 (282)	2854,50 ±3864,69 (17127)	4627,83 ±2212,20 (27767)	3787,67 ±3801,57 (22726)	2426,50 ±1916,75 (14559)	2761,00 ±1938.08 (16566)
Nématodes	218,50 ±133,84 (1311)	576,17 ±246,14 (3457)	679,17 ±297,19 (5275)	420,50 ±316,35 (2523)	335,00 ±217,47 (2010)	793,50 ±648,79 (4761)	505,67 ±350,63 (3034)	397,17 ±190,65 (2383)	529,00 ±235,02 (3174)
Lot2 (800 g/Animal/ Jour)									
Coccidie	194,50 ±108,13 (1167)	194,50 ±108,13 (1167)	47,00 ±0,00 (262)	47,00 ±0,00 (2820)	1205,67 ±484,41 (7234)	6383,33 ±6158,65 (39300)	2481,00 ±3156,50 (14886)	3479,50 ±2717,75 (20877)	3360,17 ±3051,93 (20161)
Nématodes	734,50 ±648,30 (4497)	475,17 ±289,55 (3830)	638,33 ±798,57 (3830)	421,33 ±293,79 (2474)	241,43 ±122,99 (1451)	1081,67 ±1215,78 (6490)	467,33 ±344,11 (2804)	357,83 ±165,81 (2147)	366,00 ±175,19 (2196)

*: Moyenne ± Ecart-type ; £ ; Total d'œufs ou occystes comptés

Tableau 7: Evolution de quelques caractéristiques du sang en fonction des traitements

Traitements	NGR (mm3/sang)			NGB (mm3/sang)			HT (%)			VS(mm/h)		
	Début	Fin	Moyenne	Début	Fin	Moyenne	Début	Fin	Moyenne	Début	Fin	Moyenne
Lot0	20,44 ± 4,36	4,00 ± 2,05	12,22 ± 3,20	11,84 ± 2,69	16,29 ± 3,18	14,06 ± 2,94	27,92 ± 8,44	24,39 ± 2,53	26,16 ± 5,49	1,00 ± 0,55	1,25 ±0,27	1,13 ± 0,41
Lot1	17,36 ± 6,83	3,47 ± 1,83	10,52 ± 3,83	10,41 ± 2,74	14,78 ± 4,08	12,60 ± 3,41	28,22 ± 8,20	23,12 ± 2,58	25,67 ± 5,39	1,75 ± 0,88	2,00 ± 1,23	1,86 ± 1,06
Lot2	16,60 ± 4,75	2,72 ± 0,96	9,66 ± 2,85	13,62 ± 5,08	16,75 ± 2,55	15,18 ±3.82[a]	29,06 ± 6,12	25,04 ±1,98	27,05 ± 4,05	1,25 ± 0,27	1,25 ± 0,61	1,25 ± 0,44

NGR: Nombre de globules rouges, NGB: Nombre de globules blancs, HT: Hématocrite, VS: Vitesse de sédimentation de sang.

(1989) dans les élevages ovins de Cévennes en France. Ces écarts pourraient être associés aux conditions d'élevage, à l'espèce et à la race.

On a observé une baisse d'OPG des espèces du genre Trichostrongylus et Chabertia chez les animaux des lots supplémentés aux feuilles de manioc. Ce résultat pourrait s'expliquer par l'influence des tannins condensés contenus dans ces feuilles sur ces deux genres de parasites. Cette substance inhiberait probablement le métabolisme de ces parasites. Sokerya et Rodriguez (2001), et Kim Lin *et al.,* (2003) ont constaté des baisses d'OPG de nématodes et de coccidies sur les chèvres recevant

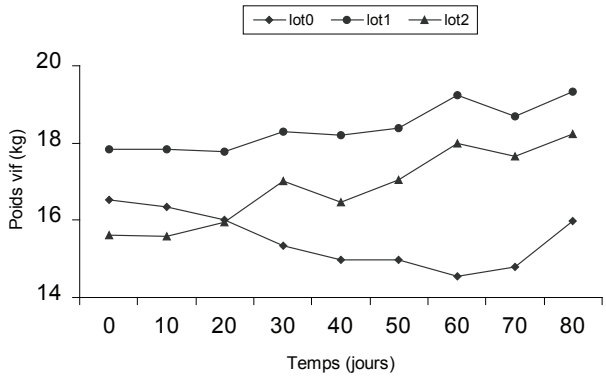


Figure 1: Evolution du poids vif (Kg) des animaux en fonction de l'alimentation et du temps.

des feuilles de manioc comme supplément. De même, des résultats similaires ont été rapportés par Netpana *et al.,* (2001) sur des ovins et bovins nourris sur pâturage naturel et supplémentés au foin de feuilles de manioc. Par contre, chez les animaux du lot témoin on observait un accroissement des OPG avec le temps. Ceci pourrait être lié au fait que, les animaux de ce lot n'ont pas reçu les feuilles de manioc qui ont une propriété anthelminthique de part sa teneur en tannins condensés. Cette augmentation aurait été à l'origine d'un dysfonctionnement des processus de la digestion, et donc de la non assimilation des nutriments suite à l'action néfastes de ces parasites destructeurs des muqueuses et suceurs de sang selon les observations de Hansen et Perry (1994), entraînant ainsi une baisse de poids chez les chèvres de ce lot.

L'évolution des OPG des genres Oesophagostomum et Eimeria chez les animaux des trois lots s'est faite en dents de scie. Cette fluctuation des OPG en début d'essai pourrait être liée au développement et à la maturation des larves installées avant l'étude. En effet, après ingestion de la larve infestante de ces parasites par la chèvre, cette larve pénètre dans la membrane de la muqueuse digestive avant de devenir mature et regagner le tube digestif. Cette période prépatante peut durer 3 à 9 semaines.

La diminution des OPG constatée chez les animaux des lots supplémentés après le 50ième jour, serait probablement due à l'influence des tannins condensés contenus dans les feuilles de manioc sur le genre Trichostrongylus, qui occasionnerait un ralentissement du métabolisme de ces parasites et provoquerait ainsi une baisse du nombre d'œufs dans les fecès des animaux (Paolini *et al.,* 2003).

Les baisses d'OPG du genre Eimeria constatées en début d'essai et après le 40ième jour chez les animaux des lots supplémentés aux feuilles de manioc peuvent être dues à un probable effet inhibiteur des tannins condensés contenus dans les feuilles de manioc sur ce genre parasitaire, ou aux réactions immunitaires de l'organisme car une baisse de concentration parasitaire peut intervenir soit suite à une phagocytose, une hyperplasie, une néoplasie ou encore après une réaction humorale (Chartier *et al.,* 2000). La population de vers adultes chez un hôte est le résultat d'un équilibre proportionnel entre la disparition des parasites existants et l'acquisition de nouvelles infestations (Chartier *et al.,* 2000). Par ailleurs, les hausses d'OPG de ces coccidies observées après le 40ième jour chez les animaux du lot témoin peuvent être attribuées au développement des larves préexistantes ou à une infestation régulière de ces animaux sur le pâturage.

Les œufs des genres Haemonchus et Strongyloïdes n'ont été observés que chez les animaux du lot témoin, au cours de l'essai. Vu la période prépatante de ces genres parasitaires (18 à 21 jours), les larves ont été probablement ingérées en début ou en cours d'essai; leur absence chez les animaux des lots recevant le supplément traduirait

l'existence d'une propriété qu'ont les feuilles de manioc (présence des tannins condensés) à empêcher l'installation de nouvelles larves par inhibition de leur faculté à pénétrer les muqueuses digestives (*Haemonchus*) et à migrer vers les poumons (*Strongyloïdes*) dans lesquels débute leur développement.

Sokerya et Preston (2003) attribuent l'effet bénéfique des feuilles de manioc à leur richesse en tannins condensés, qui leur confèrent une propriété anthelminthique. Il semble que les tannins agissent sur le métabolisme des larves en empêchant leur migration dans l'organisme; ce qui inhiberait leur processus de développement (Granum *et al.,* 2003). Toutefois, la variabilité de cette activité anthelminthique semble être proportionnelle à la teneur en tannins condensés de ces feuilles.

Quant à ce qui concerne les caractéristiques du sang, la baisse du nombre de globules rouges indépendamment des traitements serait un élément essentiel de l'adaptation gravidique résultant de l'augmentation du volume plasmatique et du volume globulaire (Hallberg, 1998; Bernard *et al.,* 1998). Cependant, le volume plasmatique augmente plus vite que le volume globulaire, d'où "anémie" à l'hémogramme (Bernard *et al.,* 1998). Cette anémie physiologique serait à l'origine de la diminution du nombre de globules rouges par mm3 de sang. Ce résultat semble indiquer que les feuilles de manioc n'ont pas d'effet significatif ($p>0,05$) sur le nombre de globules rouges. Aussi, aucune différence significative ($p>0,05$) n'a été relevée entre le nombre de globules blancs des animaux des trois lots. Ces résultats rejoignent ceux rapportés par Kolb (1975) chez les animaux domestiques et ceux de Hole (1993) chez l'homme. Au regard de ce résultat, les feuilles de manioc semblent ne pas avoir d'effet sur le nombre de globules blancs. Aussi, aucune différence significative ($p>0,05$) n'a été observée entre l'hématocrite et les vitesses de sédimentation de sang de nos trois lots de chèvres.

Conclusion

Les feuilles fraîches de manioc peuvent être utilisées comme une importante source de matière azotée dans les rations à base de graminées des chèvres en engraissement. En outre, ces feuilles peuvent être un moyen alternatif ou complémentaire aux anthelminthiques de synthèse pour un contrôle efficace du parasitisme gastro-intestinal de la chèvre de par leur teneur en tannins condensés, pour les genres Trichostrongylus et Chabertia. Les feuilles de manioc utilisées en supplément à l'alimentation de base des chèvres ont permis de constater que les rations utilisées n'influencent pas les caractéristiques du sang.

Remerciements

Nos sincères remerciements s'adressent à Institut National Supérieur d'Agronomie et de Biotechnologie (INSAB), Université des Sciences et Techniques de Masuku pour sa contribution financière à l'achat du matériel animal et au Laboratoire de Nutrition Animale, Département des Productions Animales, FASA, Université de Dschang pour son entière disponibilité dans l'analyse de la composition chimique des échantillons et au dosage des tanins des feuilles de manioc. A tous, merci pour leur franche collaboration dans l'accomplissement de ce travail.

Bibliographie

AOAC (Association of official analytical chemists) 1990. *Official methods of analysis. 15th edition*. AOAC, Washington D C.

Benson J, Williams P and coles B, 1992. Animal anatomy and physiology. Laboratory test book. *Wm C Brown communication. Dubuque*, Pp 325-341.

Bernard J, Levy J P, Varet B, Clauvel J P, Rain JD et Sultan Y, 1998. Hématologie. 9e édition. Masson, Paris, 129p.

Boudet G, 1991. Manuel et précis d'élevage. IEMVT. La documentation française. 207p.

Bourbouze A, 1995. Les animaux aux pâturages : gestion de l'animal sur parcours. In: Daget P et Gordon M. (eds) Pastoralisme: Troupeaux, Espaces et Société. Hâtier.

Chartier C, Itard D, Marel R C et Troncy P M, 2000. Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. AUPELF-UREF. Editions Lavoisier (Collection, Tech et Doc.). 493p.

Dedieu D et Gibon A, 1989. Notation d'état corporel et système d'élevage. WIN. Diagnostic et conseils pour l'alimentation des troupeaux en Cévennes. INRA. Production Animale, 2, 79-88.

Granum G, Wanapat M, Wachirapacorn C and Pakdee P, 2003. A comparative study on the effect of cassava hay in swamp buffaloes (Bubalus bubalus) and cattle (Bos indicus). M Sc. Thesis, Department of Animal Science, Khon Kaen University, Thailand. 107p.

Hallberg L, 1998. Bilan du fer au cours de la grossesse. Vitamines et sels minéraux pendant la grossesse et lactation. 16e séminaire Nestlé nutrition. Nestec S .A. Vevey, Pp 12-17.

Hansen J and Perry B, 1994. The epidemiology, diagnosis and control of gastro intestinal parasites of ruminants in Africa. The international laboratory for research on animal diseases. Pp 3-20.

Hole J W, 1993. Human Anatomy and Physiology. 6th edition. Wm. C. Brown Communication, Dubuque, 961p.

Kim Lin N, Preston Z R, Binh V D and V D. and ly D N, 2003. Effects of tree foliages compared with grasses on growth and intestinal nematode infestation in confined goats. Livestock research for rural development, 15, 1-10.

Kolb E, 1975. Physiologie des animaux domestiques. 2eme édition Vigot frères, Paris, Pp 349-419.

Makkar H P S and Becker K, 1998. Do tannins in leaves of trees and shrubs from African and Himalayan regions differ in level and activity? Agroforestery systems, 40, 59-68.

Netpana N, Wanapat M, Poug Champu O and Tobura W, 2001. Effects of condensed tannins in cassava hay on faecal parasitic egg counts in swamp buffaloes and cattle.

Pamo T E, Kennang T B A et Kangmo M V, 2001. Etude des performances pondérales des chèvres naine de Guinée supplémentées au Leucaena leucocephala, au Gliricidia sepium ou au tourteau de coton dans l'Ouest cameroun. Tropicultura, 19, 10-14.

Pamo T E, Tendonkeng F, Kana J R , Khan Payne V, Boukila B, Lemoufouet J, Miegoue E, and Nanda A S, 2005. A study of the acaricidal properties of an essential oil extracted from the leaves of Ageratum houstonianum. Veterinary Parasitology, 128, 319-323.

Paolini V, Bergeand J P, Griez C, Prevot F, Dorchis Ph and Hoste H, 2003. Effect of condensed tannins on goats experimentally infected with Haemonchus contortus. Veterinary Parasitology, 113, 253-265.

Rivière R, 1991. Manuel d'alimentation des petits ruminants. Manuel et précis d'élevage, 9, 5-6.

Sebahoun G, 1998. Vitesse de sédimentation augmentée. In: Sebahoun G. (éd). Hématologie clinique et biologique. Groupe liaison 2000, Paris, pp 101-103.

Sokerya S and Preston Z R, 2003. Effects of grass or cassava foliage on growth and nematode parasites infestations in goats fed with low or high protein diets in confinement. Livestock research for rural development (15), 8.

Sokerya S and Rodriguez L, 2001. Foliage from cassava, flemingia macrophylla and bananas compared with grasses as forage source for goats: effects of growth rate and intestinal nematode. Livestock research for rural development (13), 2.

Steel K G and Torrie J H, 1990. Principles and procedures of statistics. New York, USA, Mc Graw Hill. 633p.

Theml H, 2000. Atlas de poche d'hématologie. Flammarion. Médecine-Science pour la traduction française. Paris, Pp 2-21.

Thienpont D, Rochette G et Vanparijs O, 1979. Diagnostic de la verminose par examen coprologique. Beerse, Belgique, Janssen research foundation, 187p.

Van Soest J P, Robertson D B and Lewis B A, 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent

fibre and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74, 3584-3597.

Vong Samphanh P and Wanapat M, 2004. Comparison of cassava hay yield and chemical composition of local and introduced varieties and effects of levels of cassava hay supplementation in native beef cattle fed on rice straw. Livestock research for rural development, 13, 11-17.

ESSAI DE SUBSTITUTION DU TOURTEAU DE SOJA PAR LA FARINE DE FEUILLES DE MORINGA OLEIFERA DANS LA RATION FINITION DES POULETS DE CHAIR

Tendonkeng F[1], Boukila B[2], Beguidé A[1], Pamo T E[1]
[1]Université de Dschang, FASA, Département des Productions Animales. B.P. 222 Dschang, Cameroun,
[2]Institut National Supérieur d'Agronomie et de Biotechnologie (INSAB), Université des Sciences et Techniques de Masuku, B.P. 941. Gabon

Résume

L'étude de l'effet de la substitution du tourteau de soja par la farine de feuille de Moringa oleifera dans la ration finition du poulet de chair a été conduite à la Ferme d'Application et de Recherche de l'Université de Dschang de Décembre 2003 à Janvier 2004. Deux cent quatre vingt huit poussins de souche « Arbor acres », âgés de quatre semaines ont été sexés et répartis au hasard dans seize loges. Chaque loge comprenant neuf mâles et neuf femelles recevant une des quatre rations expérimentales dont les taux de substitution étaient de 0 (F0) ; 20 (F20) ; 40 (F40) et 60% (F60). L'essai a été conduit selon un dispositif aléatoire complètement randomisé avec quatre traitements et chaque traitement comportait quatre répétitions. Des résultats de cette étude il ressort que la consommation alimentaire était de 2,7±0,4 kg ; 2,8±0,4 kg; 2,6±0,4 kg et 2,6±0,4 kg respectivement pour les poulets nourris avec les rations F0 ; F20 ; F40 et F60. Les poids obtenus étaient de 1,9±0,3kg ; 1,8±0,3kg ; 1,8±0,3kg et 1,714±0,2kg respectivement pour les poulets ayant reçus les rations les rations F0 ; F20 ; F40 et F60. Les gains de poids cumulés de 1,2±0,4kg ; 1,2±0,3kg ; 1,1±0,3kg et 1,1±0,3kg ont été respectivement obtenus pour les poulets ayant reçus les rations F0 ; F20 ; F40 et F60. Les indices de consommation obtenus étaient de 2,4±1,1 ; 2,3±1,2 ; 2,4±1,2 et 2,4±1,1 respectivement pour les poulets ayant reçus les rations F0 ; F20 ; F40 et F60. Les coûts de production alimentaire nécessaire pour produire un kilogramme de poids vif des rations F0 ; F20 ; F40 et F60 ont été respectivement de 441 FCFA ; 440 FCFA ; 459 FCFA et 464 FCFA. Toute fois, l'analyse de variance n'a révélé aucune différences significative (P>0,05) entre les traitements pour tous les paramètres de production étudiés. Il a été conclu que la farine de feuilles de Moringa oleifera peut être recommandé dans l'aliment finition du poulet de chair jusqu'à 60% sans affecter négativement les performances de production.

Mots clés: Moringa oleifera - tourteau de soja - poulet de chair

SUBSTITUTION OF SOYBEAN MEAL BY MEAL MORINGA OLEIFERA LEAVES IN THE DIET FINISHING BROILER

Abstract

The study of the effect of the substitution of the soy bean meal by Moringa oleifera leaf powder in the diet of finish broiler were carry out in the Dschang University Experimental Farm ration completion from December 2003 to January 2004. Two hundred and four twenty eight chicks "Arbor acres" hens, four weeks old were sexes and distributed randomly in sixteen pens. Each pens was included nine males and nine females receiving one of the four experimental diets whose rates of substitution were 0 (F0);20 (F20);40 (F40) and 60% (F60). The experiment was carried out in a completely randomised design with four treatments and four replications. From the results of this study it appear that the total feed intake were respectively 2.8 kg ; 2.8 kg ; 2.6 kg : and 2.6 kg for the hens receiving F0, F20 F40 and F60. Live weight was 1.9 kg ; 1.9 kg ; 1.8 kg and 1.7 kg respectively for the hens receiving F0, F20 F40 andF60. Body weight gain during the trial period was 1,2 kg; 1.2 kg; 1.1 kg and 1.1 kg for hens receiving F0, F20 F40 F60 respectively. Feed conversion ratio was 2.4; 2.3; 2.4 and 2.4 for F0, F20 F40 F60 experi-

Corresponding author: ftendonkeng@yahoo.fr

mental diets respectively. The feed cost necessary for the production of one kilogram of body weight was 441 FCFA; 440 FCFA; 459 FCFA and 464 FCFA respectively for F0 ; F20; F40; and F60. The analysis of variance indicated that there were no significant differences (P> 0.05) between treatment groups for total food consumption, live weight, Body weight and feed conversion ratio. It was concluded that Moringa leaf powder can be used as ingredient in the broiler's diet up to 60% replacement without affecting negatively the production parameters.

Key words: Moringa oleifera - soy bean - broiler chicken.

Introduction

L'alimentation des poulets de chair représente 60 à 70% du coût total de production. Un aliment complet pour volaille doit être équilibré en énergie, en protéines, en sels minéraux et en vitamines. Les protéines traditionnellement incorporées dans ces rations sont d'origine animale ou végétale. Avec l'apparition en Europe de maladie de Creutzfeldt Jakobs et les intoxications à la dioxine, l'Union Européenne a décidé d'interdire l'utilisation des farines animales dans l'alimentation du bétail ; cette décision a été endossée par les Ministre en charge de l'Elevage de la Communauté Economique et Monétaire de l'Afrique Centrale (CEMAC). Au Cameroun, la lettre circulaire n° 005/MINEPIA/DSV du 02/02/2001 du Ministre de l'Elevage, des Pêches et des Industries Animales, étendait l'interdiction à l'importation de tous les produits d'origine animale. Ces Décisions vont avoir effet d'imposer aux éleveurs, l'utilisation exclusive des protéines d'origine végétale.

Les sources conventionnelles des protéines végétales utilisées dans l'alimentation de la volaille sont nombreuses, et le tourteau de soja présente les meilleures caractéristiques alimentaires et occupe par conséquent la première place dans le commerce mondial des protéagineux et oléagineux. Cependant, la faible production nationale de soja et les coûts élevés du tourteau importé sont les principaux facteurs qui limitent leur utilisation notamment avec l'arrivée sur le marché mondial des grands clients tels que la Chine, avec un volume d'importations estimé à 22 millions de tonnes de soja en 2003 (Gower, 2004). L'accroissement de la demande chinoise qui pourrait doubler dans les dix prochaines années, a provoqué une hausse du prix du tourteau de soja sur le marché international de plus de 43% entre 2003 et 2004. Au cours des années 2002 et 2003, les importations du tourteau de soja au Cameroun sont passées de 7 850,07 tonnes à 6 529,87 tonnes (Douala-Port, 2003) ce qui a engendré une diminution de 8 801,3 tonnes d'aliment complet pour un déficit de production de l'ordre de 1 760 000 poules. Les conséquences immédiates de cette situation sont l'augmentation de 15% environ sur les prix de l'aliment complet et les importations massives de carcasses de volaille jugées néfastes pour notre économie et notre santé (Njonga, 2004).

Le défi aujourd'hui est de trouver des alternatives au tourteau de soja, notamment en valorisant de nombreuses ressources végétales dont regorge notre pays. C'est le cas du Moringa oleifera (Lam) dont la teneur en acides aminés est comparable à celle du tourteau de soja (bau *et al.,* 1994). Qualifié de « plante miracle » pour ses nombreuses vertus (Fuglie et Sreeja, 2001), il possède également une digestibilité de 79,2% (Jy *et al.,* 2001) et une faible teneur en facteurs antinutritionnels (Makkar et Becker, 1996). L'objectif de ce travail est donc d'étudier la possibilité de substituer le tourteau de soja par la farine de feuilles de Moringa oleifera dans la ration finition du poulet de chair.

Matériel et Méthodes

Site expérimental

L'essai a été conduit de décembre 2003 à janvier 2004 à la Ferme d'Application et de Recherche (FAR) de l'Université de Dschang, située à 5° 26' de Latitude Nord, à 10° 26' de Longitude Est et à une altitude d'environ 1420 m dans l'Ouest Cameroun. Le climat de la région est équatorial de type

Camerounien d'altitude. Les précipitations varient entre 1500 et 2000 mm, et les températures oscillent entre 20 et 28°C. Les poussins destinés à l'essai ont été élevés en poussinière à la FAR pendant quatre semaines. A la fin, ils ont été transférés dans un bâtiment finition, ouvert sur les grands côtés, mesurant 17,2 m x 10,6 m, comprenant deux magasins, un couloir de service et 20 loges de dimension 4,7 m x 1,2 m. chaque loge était munie deux mangeoires coniques et de deux abreuvoirs de trois litres de capacité chacun. Les animaux étaient élevés sur une litière de copeaux de bois.

Matériel animal

Deux cent quatre huit poussins âgés de quatre semaines, sexés, de la souche « Arbor acres », ont été repartis au hasard dans seize loges comprenant chacune neuf mâles et neuf femelles.

Régime expérimentaux

Préparation de la farine de Moringa oleifera

Les feuilles de Moringa oleifera ont été récoltées et séchées à l'ombre sur une bâche plastique pendant deux semaines. Elles ont ensuite été exposées au soleil pendant deux jours avant d'être broyées. Les ingrédients utilisés dans les rations expérimentales étaient composés du maïs, du tourteau de soja, du tourteau de coton, du tourteau d'arachide, de la farine de Moringa, du concentré 10% chair, du remoulage fin, de l'huile de palme et de la farine de poisson. A l'exception de la farine de feuilles de Moringa oleifera, tous les autres ingrédients ont été achetés sur le marché local.

Composition et caractéristiques chimiques des rations expérimentales

Quatre rations expérimentales dont une ration témoin (F0), et trois rations F20, F40, F60 comprenant 20 ; 40 et 60% de substitution du tourteau de soja par la farine de feuilles de Moringa oleifera ont été utilisées pour l'essai. La substitution était isoprotéique et les rations étaient distribuées ad libitum. Les tableaux 1 et 2 présentent la composition des rations et leurs caractéristiques chimiques calculées.

Collecte des données

Le poids vif des poulets était déterminé par pesées hebdomadaires effectuées tous les sept jours à l'aide d'une balance de marque Salter de portée 5 kg et de précision ± 10g.

La consommation alimentaire était obtenue par différence entre les quantités servies en début de semaine et le refus en fin de semaine.

Les animaux étaient pesés toutes les semaines et le gain de poids était obtenu par différence entre deux pesées hebdomadaires consécutives.

L'indice de consommation était calculé en effectuant le rapport quantité d'aliment consommé pendant la semaine sur le gain de poids de même semaine.

Evaluation économique

L'évaluation économique a été faite sur la base du coût de production alimentaire. Ce dernier a été calculé à partir du prix des ingrédients obtenus sur le marché local, exception faite de la farine de feuilles de Moringa dont le prix a été estimé à partir d'une étude de cas. Le coût de production du kilogramme de poids vif a été obtenu en multipliant l'indice de consommation par le coût du kilogramme d'aliment.

Analyse statistique

Le dispositif expérimental utilisé était un plan complètement randomisé avec 4 traitements en quatre répétitions. Les données ont été soumises à une analyse de variance à un facteur et le test de Duncan a été utilisé pour comparer les moyennes.

Résultats et Discussion

Effet de la substitution du tourteau de soja par la farine de feuilles de Moringa oleifera sur l'évolution de la consommation alimentaire

L'effet de la substitution du tourteau de soja par la farine de feuilles de M. oleifera sur l'évolution de la consommation alimentaire des différentes rations en fonction du temps sont présentées dans le tableau 3. Il ressort de ce tableau que la consommation alimentaire a connu une évolution importante en fonction des périodes. A la 6e semaine, on a observé un comportement stationnaire de la consommation alimentaire et même une légère baisse pour la ration F0 par rapport à la 5e semaine. De manière générale, la consommation alimentaire la plus élevée au cours de l'essai est observée avec la ration F0 (1,1 ± 0,3 kg) à la 7ème semaine, et la consommation la plus faible avec la ration F60 (1,04 ± 0,2 kg) à la même semaine. A la fin de l'essai on a constaté une diminution de la consommation alimentaire au fur et à mesure que le niveau d'incorporation de la farine de feuilles M. oleifera augmentait dans les rations. Cependant, l'analyse de la variance n'a révélée aucune différence significative (P > 0,05) entre les rations pour la consommation alimentaire.

La diminution de la consommation alimentaire avec l'apport des taux croissants de farine de feuille de M. oleifera dans les rations expérimentales serait liée à la palatabilité des feuilles. En effet Foild et al. (2001) constate que les poules ne consomment pas volontairement les feuilles fraîches ou sèches de M. oleifera. Freddy (2003), confirme ce constat en affirmant une tendance à la baisse des performances zootechniques (consommation alimentaire) par manque d'appétence pour les animaux élevés avec des régimes à base de végétaux. Le rapport énergie protéine serait une des causes car Agbedé et Teguia (1996) fixent ce rapport dans une fourchette comprise entre 155 et 165 pour les poulets de chair.

Effet de la substitution du tourteau de soja par la farine de feuilles de Moringa oleifera sur l'évolution du poids vif

L'effet de la substitution du tourteau de soja par la farine de feuilles de M. oleifera sur l'évolution des poids vifs des animaux en fonction du temps est présenté par la figure 1.

Il ressort de cette figure que les poids vifs des animaux ont évolués de manière croissante de la 4ème à la 7ème semaine. A la 4e semaine on a observé des poids vifs semblable dans les différents lots. A la fin de l'essai, la ration F0 (1,9 ± 0,3 kg) a présenté les poids vifs les plus élevés et la ration F60 (1,7 ± 0,2 kg) les poids vifs les plus faibles. A la fin de l'essai, on observe une diminution du poids des animaux avec les apports croissants de la farine de feuilles de Moringa oleifera dans les rations expérimentales. Cependant, l'analyse de variance n'a révélée aucune différence significative (P > 0,05) entre les poids vifs des animaux en fonction des rations.

Les poids obtenus dans cet essai sont supérieurs à ceux de Mbakop (2003) et inférieurs à ceux de Agbédé et Téguia (1996), Teguia et Beynen (2005) et ceux recommandées par le sélectionneur de la souche « Arbor acres ». Ces faibles poids seraient liés à l'infection survenue à la 6e semaine de l'essai.

Effet de la substitution du tourteau de soja par la farine de feuilles de Moringa oleifera sur le gain de poids

L'effet de la substitution du tourteau de soja par la farine de feuilles de M. oleifera sur le gain de poids moyen est présenté dans le tableau 4. On observe une importante variation des gains de poids en fonction de l'âge. Ces valeurs décroissent à la 6e semaine pour augmenter ensuite à la 7e semaine. A la 5e semaine la ration F0 a présenté le gain de poids le plus élevé (0,52 ± 0,2). A la 6e et à la 7e semaine la ration F20 a obtenu le gain de poids le plus élevé par rapport à la ration F0. L'analyse de la variance n'a révélé aucune différence significative (P> 0,05) entre les gains de poids moyen en fonction des rations. S'agissant des gains de poids cumulés, la ration F20 a était la meilleure (1,12 ± 0,3). Ce changement dans l'ordre attendu serait dû à une forte mortalité survenue dans les lots témoins par rapport aux lots expérimentaux. Les gains de poids obtenus au cours de l'essai sont inférieurs à ceux obtenu par Darwin (2003). Cette différence serait liée à une affection survenue à la 6e semaine de l'essai.

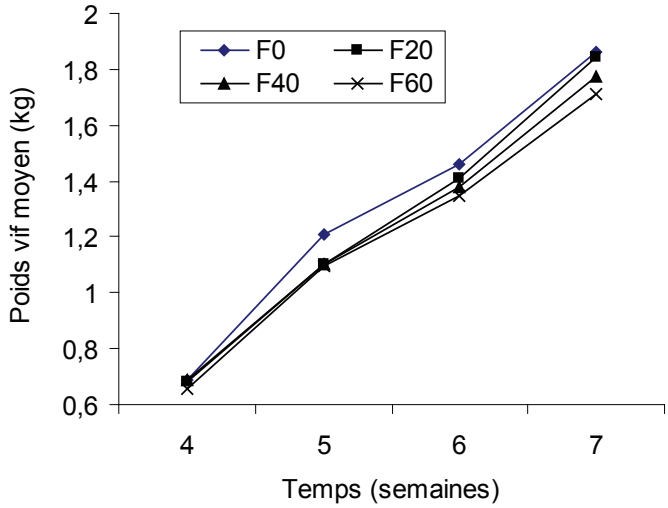


Figure 1: Evolution du poids vif moyen en fonction des rations et du temps.

Tableau 1: Composition des rations

	Rations			
Ingrédient (kg)	F_0	F_{20}	F_{40}	F_{60}
Maïs	57,5	57	57,1	57
Tourteau de soja (48)	5	4	3	2
Farine de Moringa	-	1,82	3,63	5,45
Tourteau de coton	9,5	6,0	2	2,0
Tourteau d'arachide	2,5	6,0	10	8,55
Farine de poisson	0,5	0,58	0,27	2,0
Remoulage fin	13,5	12	11	10
Concentré 10%	10	10	10	10
Huile de palme	1,5	2,6	3	4,0
Total	**100**	**100**	**100**	**100**

Tableau 2: Caractéristiques chimiques calculées des rations expérimentales

Composition chimique	Rations			
	F_0	F_0	F_0	F_0
Protéines brutes (%MS)	20,0	20,1	20,1	20,1
Cellulose brute (%MS)	4,69	5,19	5,26	5,72
MG (%MS)	4,80	5,39	5,99	7,57
Ca (mg)	0,9	1,06	1,08	1,09
P (mg)	0,65	0,65	0,65	0,65
Lysine	0,95	0,94	0,94	0,93
Méthionine	0,40	0,43	0,42	0,42
Cystine	0,61	0,60	0,59	0,58
E/P	147	147	146	146
Energie métabolisable (kcal/kg)	2935	2950	2932	2939

Effet de la substitution du tourteau de soja par la farine de feuilles de Moringa oleifera sur l'évolution de l'indice de consommation

L'effet de la substitution du tourteau de soja par la farine de feuilles de M. oleifera sur l'évolution de l'indice de consommation alimentaire est présenté dans le tableau 5. Les résultats indiquent une évolution en dents de scie. A la 5e semaine, les indices sont comparables et la ration F0 présente le plus faible indice de consommation à la 6e semaine, malgré les fortes mortalités observées la ration F20 obtenait le meilleur indice par rapport à la ration F0. Ces tendances s'observent également à la 7e semaine. Cependant l'analyse de variance n'a montré aucune différence significative ($P > 0,05$) entre les rations pour l'indice de consommation. Le meilleur indice de consommation obtenu au cours de l'essai est supérieur à celui obtenu par Darwin (2003).

Evaluation économique

Les coûts de production alimentaire des rations expérimentales ainsi que le coût de l'aliment nécessaire pour produire un kilogramme de poids vif sont présentés respectivement dans les tableaux 6 et 7. Les prix des ingrédients sont ceux pratiqués sur le marché au moment de l'essai. Les coûts des aliments ont varié de 186 FCFA pour la ration la moins cher (F0), à 194 FCFA pour la ration la plus cher (F60). On observe néanmoins que ces coûts étaient tous inférieurs au coût de l'aliment sur le marché (205 Frs/kg) au moment de l'essai. Durant l'essai, les coûts nécessaires pour produire un kg de poids vif ont été faibles pour les rations F0 (441 FCFA) et F20 (440 FCFA), forte pour les rations F40 (459 FCFA) et F60 (474 FCFA). Ces coûts sont inférieurs à ceux de Mbakop (2003) et Chakam (2006). Il se dégage de ces résultats que les coûts augmentent avec les apports croissants de la farine des feuilles de M. oleifera dans les rations finition poulets de chair à des taux supérieurs à 20%. Ces coûts sont influencés par les prix de l'huile de palme d'une part et de l'indice de consommation d'autre part.

Conclusion

Les résultats obtenus au cours de cet essai de substitution du tourteau de soja par la farine des feuilles de M. oleifera dans la ration finition du poulet de chair ont permis de relever d'une manière générale les faibles performances des différents paramètres de production étudiées par rapport aux recommandations suggérées par le sélectionneur de la souche. Ces paramètres sans être significativement différents ($P>0,05$), ont montré que les meilleurs poids ainsi que les meilleurs coûts économiques ont été obtenu avec les rations F0 et F20. Ces dernières ont en plus enregistrés les meilleures performances en terme de gain de poids et d'indice de consommation. Il semble par ailleurs que la présence des facteurs antinutritionnels dans les feuilles de M. oleifera n'influencerait pas négativement leur incorporation dans les rations finition des poulets de chair même à des taux de 60%. Dans ce cas, la farine de feuille de M. oleifera peut être considérée comme une alternative possible au tourteau de soja dans l'alimentation des poulets de chair. Il faudrait néanmoins souligner la nécessité de confirmer ces résultats préliminaires dans d'autres contrés d'une part, et d'autre part, de mener d'autres études pour mettre en évidence les autres vertus entre autre antibiotique que renferme cette plante, dans l'alimentation des poulets de chair.

Tableau 3: Effet de la substitution du tourteau de soja par la farine de feuilles de Moringa oleifera sur l'évolution de consommation alimentaire moyenne (kg)

Rations	Consommation alimentaire moyenne (kg) par semaine			
	5e	6e	7e	5e – 7e
F_0	0,83 ± 0,3a	0,82 ± 0,2a	1,12 ± 0,3a	2,8 ± 0,4a
F_{20}	0,81 ± 0,2a	0,87 ± 0,2a	1,08 ± 0,2a	2,8 ± 0,4a
F_{40}	0,75 ± 0,4a	0,81 ± 0,4a	1,07 ± 0,3a	2,6 ± 0,4a
F_{60}	0,75 ± 0,2a	0,81 ± 0,2a	1,04 ± 0,2a	2,6 ± 0,4a

Tableau 4: Evolution du gain de poids moyen en fonction des rations et du temps

Rations	Gain de poids moyen en fonction du temps (semaines)			
	5e	6e	7e	5e -7e
F_0	0,52 ± 0,2a	0,25 ± 0,2a	0,40 ± 0,2a	1,17 ± 0,4a
F_{20}	0,42 ± 0,2a	0,31 ± 0,3a	0,43 ± 0,3a	1,19 ± 0,3a
F_{40}	0,42 ± 0,2a	0,27 ± 0,2a	0,40 ± 0,3a	1,09 ± 0,3a
F_{60}	0,44 ± 0,2a	0,25 ± 0,3a	0,34 ± 0,2a	1,06 ± 0,3a

Tableau 5: Evolution de l'indice de consommation

Rations	Indice de consommation en fonction du temps (semaines)			
	5e	6e	7e	5e -7e
F_0	1,6 ± 1,1a	3,2 ± 0,9a	2,8 ± 1,3a	2,4 ± 1,1a
F_{20}	1,9 ± 1,1a	2,8 ± 1,0a	2,5 ± 0,6a	2,3 ± 1,2a
F_{40}	1,8 ± 1,7a	2,9 ± 1,3a	2,7 ± 1,2a	2,4 ± 1,2a
F_{60}	1,7 ± 0,8a	3,2 ± 0,6a	2,8 ± 1,2a	2,4 ± 1,1a

Tableau 6: Coût de production alimentaire

Ingrédients	**Prix unitaire (FCFA)**	**Rations**			
		F_0	F_{20}	F_{40}	F_{60}
Maïs	100	2 750	5 700	5 710	5 700
Tourteau de soja	450	2 250	1 800	1 350	900
Farine de Moringa	76	/	138	276	414
Tourteau de coton	200	1 900	1 200	400	440
Tourteau d'arachide	250	625	1 500	2 500	2 137,5
Farine de poisson	300	150	174	81	600
Concentré 10%	600	6 000	6 000	6 000	6 000
Remoulage fin	70	945	840	770	630
Huile de palme	650	975	1 690	1 950	2 600
Total		**18 595**	**19 042,32**	**19 036,38**	**19 421,70**
Prix du kilogramme de ration (FCFA)		185,95	190,42	190,36	194,21

Tableau 7: Coût de l'aliment nécessaire pour produire un kilogramme de poids vif

Rations	Coût de l'aliment par semaine			
	5e	6e	7e	5e -7e
F_0	297 ± 0,2a	601 ± 0,4a	528 ± 0,3a	441 ± 0,4a
F_{20}	367 ± 0,2a	533 ± 0,3a	472 ± 0,3a	440 ± 0,4a
F_{40}	344 ± 0,2a	560 ± 0,3a	508 ± 0,4a	459 ± 0,4a
F_{60}	323 ± 0,2a	611 ± 0,3a	536 ± 0,4a	474 ± 0,4a

Bibliographie

Agbede G, Téguia A 1996 Cours d'aviculture 2nd Ed. Faculté d'Agronomie et des Sciences Agricoles, Dschang, Cameroun. 137p.

Bau H M, Villaume C F, Evrad B, Quemener B 1994 Effect of solid state fermentation using Rhizopus oligosporus sp. T-3 on elimination of antinutritional substances and modification of biochemical constituents of rapeseed meal. *Journal of Sciences Food Agriculture* 65 : 315-327.

Chakam V P 2006 Effet de l'utilisation du voandzou et du niébé bouillis dans les rations démarrage et finition des poulets de chair sans farines animales. Mémoire de fin d'Ingénieur Agronome. Université de Dschang, FASA. 59p.

Douala port 2003. Rapport Annuel des Activités de la Brigade Phytosanitaire du Port, Douala, Cameroun.

Darwin G B 2003 Le tourteau de soja, une excellente source de protéine pour l'alimentation des volailles. http://www.asa-europe.org/online/britzman.pdf

Freddy M R 2003 Le Jura Agricole et Rural, Alimentation des volailles : maintenant, le tout végétal N° 2 Février 2004. http://www.juragricole.com

Fuglie L J, Sreeja K V 2001 Cultivation of Moringa. In: Miracle tree the multiple attributes of Moringa. Ed. Fuglie, I.J., CTA, CWS, Dakar, Sénégal. PP 153-158.

Foidl N, Makkar H P S, Becker K 2001 The potential of Moringa oleifera for Agricultural and industrial uses in: The Miracle tree, the multiple attributes of Moringa, Ed. Fuglie, L.J., CTA, CWS, Dakar, Senegal. Pp 7-10.

Gower D 2004 Chine: Situation et perspective des oléagineux. Bull. bimensuel. http://www.arg.ca/mad-dam/f/bulletinf/vol17n°1.

Jy L, Pok S, Preston T R 2001 Nutritional evaluation of tropical leaves for pigs: Pepsin/pancreatin digestibility of thirteen plant species. http://www.cipav.org.co/irrd/irrd13/5/1y135

Makkar H P S, Becker K 1996 Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted Moringa oleifera leaves. Ani. Feed Sci. Tech. 63: 211-228.

Mbakop A 2003 Effet de l'utilisation du voandzou et du niébé bouillis dans les rations démarrage et finition des poulets de chair sans farines animales. Mémoire de fin d'Ingénieur Agronome. Université de Dschang, FASA. 59p.

Njonga B 2004 Poulets congelés importés, La Voix du Paysan N° 148. Mai 2004 Douala – Cameroun.

Teguia A, Beynen A C 2005 Alternative feedstuff for broiler in Cameroon. Livestock Research for Rural Development, 17 (3) 2005. http://www.cipav.org.co/irrd/irrd17/3/tegu173.htm

FACTORS INFLUENCING CONCEPTION RATES OF CAMEROONIAN ZEBU CATTLE (*BOS INDICUS*) FOLLOWING OESTRUS SYNCHRONISATION AND ARTIFICIAL INSEMINATION

Tebug S F[1], Kamga-Waladjo A R[2], Keambou T C[3], Ndambi O A[4], Ndukum J A[5] and Thiam O[6].
[1]Institute of Animal Breeding and Husbandry, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Olshausenstraße 40, D-24098 Kiel, Germany,
[2]Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires, BP 5077, Dakar-Fann, Sénégal
[3]Faculty of Agronomy and Agricultural Sciences, University of Dschang, P.O.Box 138 Dschang, Cameroon.
[4]IFCN Dairy Research Centre at the Department of Agricultural Economics, University of Kiel, Schauenburger Str. 116, 24118 Kiel, Germany
[5]School of Veterinary Medicine and Sciences, University of Ngaoundere, Cameroon.
[6]Soprodel Sarl, BP 18822, Pikine - Dakar, Senegal.

Abstract

A study was carried out to identify and evaluate factors affecting variation in conception rate (CR) in Cameroonian Zebu cattle following oestrus synchronisation and artificial insemination (AI). Two hundred and six local female Zebu cattle were evaluated to determine relationship between factors such as lactation number, age, body condition score (BCS), days postpartum and conception rate. Animals received an intravaginal progesterone release device (PRID®) containing 1.55mg of progesterone and a capsule with 10mg estradiol benzonate for 10 days and were treated with luteolytic dose of $PGF_{2\alpha}$ and 1000mg IU PMSG at the time of PRID^t withdrawal. Animals were inseminated 48 hours after $PGF_{2\alpha}$ and PMSG injection. Pregnancy status was assessed by observed non-return to oestrus and confirmed by rectal palpation 55-60 days after insemination. The overall CR was 47.6%. CR was influenced ($p< 0.05$) by lactation number, age and days postpartum of cows. The multivariate logistic regression model used revealed that CR was optimum in primiparous cows, those between 4.5 -7 years old and 151-300 days postpartum.

Keywords: Conception, lactation number, days postpartum, Zebu cattle.

FACTEURS INFLUENCANT LES TAUX DE CONCEPTION DES VACHES ZEBUES CAMEROUNAISES (*BOS INDICUS*) APRES SYNCHRONISATION D'OESTRUS ET INSEMINATION ARTIFICIELLE

Résumé

Une étude a été réalisée en vue d'identifier et d'évaluer les facteurs affectant la variation du taux de conception (TC) chez les vaches zébueszébus camerounaises après la synchronisation de l'œstrus et l'insémination artificielle (IA). Deux cent six femelles zébueszébus locales ont été évaluées utilisées afin de déterminer la relation entre le nombre de lactations, l'âge, la note d'état corporel (BCS), le nombre de jours post-partum et le taux de conception. Les animaux ont reçu un dispositif intravaginal imprégné de progestérone (PRID®) contenant 1,55mg de progestérone et une capsule de 10 mg de benzoate d'œstradiol pendant 10 jours, et ont été traités avec une dose lutéolytique de $PGF_{2\alpha}$ et 1000mg IU de PMSG au moment du retrait du PRID®. Les animaux ont été inséminés 48 heures après l'injection de $PGF_{2\alpha}$ et de PMSG. L'état de gestation a été déterminé par la le constatation du de non-retour des chaleurs et confirmé par palpation rectale 55-60 jours après l'insémination. Le taux de conception global était de 47,6%. Ce taux était influencé ($p <0,05$) par le nombre de lactations, l'âge et le nombre de jours post-partum des vaches. Le modèle de régression logistique multidimensionnelle a révélé que le taux de conception était optimal chez les vaches primipares, celles âgées de 4,5 à 7 ans

Corresponding author: a.kamga@eismv.org; akwar2003@yahoo.fr

et entre 151 et 300 jours après la mise bas.

Mots-clés: Conception, nombre de lactations, nombre de jours post-partum, vache zébue.

Introduction

Agriculture accounts for as much as 30% of the gross domestic product and about 70% of overall employment in Cameroon. The livestock sector is dominated by ruminants and represents about 30% of revenue of the rural population (DSCN, 2002; FAO, 2003). The national cattle herd is estimated at 6 million and is composed mainly of non-specialised indigenous multipurpose Zebu breeds (Bos indicus) which are Red Fulani, White Fulani and Gudali (Bayemi *et al.,* 2005; FAOSTAT, 2009)

The Western Highlands covering the West and Northwest regions with its rich grassland fields for forage production is the second agro-ecological regions associated with cattle production in the country (Bayemi *et al.,* 2005). As it is the case in other tropical countries, these cattle are reared essentially under the traditional low input husbandry management system and often subjected to poor nutrition and disease control hence low productivity (Mukasa-Mugerwa, 1989; Abeygunawardena and Dematawewa, 2004; Bishop and Pfeiffer, 2008).

In order to improve the productivity of these local cattle, selection of the most promising breeds and cross breeding with highly productive exotic cattle is a practical solution. Although, on station trials are being carried out to improve the use of locally produced semen (Bayemi and Mbanya 2007; Bayemi, *et al.,* 2010), Artificial Insemination (AI) using imported semen supported by oestrus synchronisation is still the basic method for improvement of Cameroonian Zebu cattle as is the case in parts of Africa (Mattoni and Ouedraogo, 2000; Abeygunawardena and Dematawewa, 2004; Kamga-Waladjo *et al.,* 2006).

Conception Rate (CR) has been used as tool for monitoring the reproductive performance of cattle (Mattoni and Ouedraogo, 2000; Voh *et al.,* 2004; Chebel *et al.,* 2004; Grimard *et al.,* 2006; Sá Filho *et al.,* 2009; Escrivão *et al.,* 2009; Santos *et al.,* 2009). Achieving high conception rates is therefore, a key requirement for successful AI programme and determines the overall profitability of cattle farm. Decades have passed since AI was introduced in Cameroon but few studies have been carried out to evaluate the effectiveness and to improve on the use of this technology on local breeds at field level. Identifying and evaluating factors influencing CR might contribute to improve the efficiency of AI on zebu cattle.

The objectives of the present study were to identify and to evaluate factors associated with conception rates in Cameroonian Zebu cattle following oestrus synchronisation and artificial insemination.

Materials and Methods

Farm Location and Management

This study was carried out on a commercial farm for a period of six months in the west region of Cameroon. The farm lies within the Sudano-Guinean Zone of Cameroon (5°28' N, 10°7'E) with two seasons: a wet season from mid March to mid November and a dry season covering the rest of the year. Rainfall ranges from 1300 to 3000 mm per annum with an average of 2000 mm. Temperature ranges from 15.5 to 24.5 °C with an average of 20°C. Relative humidity ranges from 40 to 97% (Pamo *et al.,* 2004).

Initially, 210 dry female animals were retained for this study but 4 were excluded from the analysis because they lost progesterone releasing intravaginal device (PRID) before AI was carried out. These animals were heifers and cows in the first, second and third lactation, 30 to 360 days postpartum and 3 to 9 years old according to farm records. Calves were weaned between 6 months of age while service bulls were withdrawn 6 months prior to this study. These animals were watered *ad libitum* and

grazed for an average of eight hours in the day under the supervision of herdsmen on communal grazing land composed mainly of *Andropogon gayanus*, *A. pseudapricus, Pennisetum pedicellatum, Panicum maximum, Brachiaria ruziziensis* and *Pterocarpus erinaceus*. Night paddocks as well as mineral salt licks were provided.

The animals were vaccinated against pasteurelosis, black quarter and contagious bovine pleuropneumonia as recommended by the national bovine prophylaxis program for endemic diseases. Ectoparasite control was done by spraying with appropriate acaricide on weekly basis in the rainy season and bi-weekly in the dry season. Expert veterinary attention was also provided when required.

A day prior to oestrus synchronisation, animals were scored for body condition on a 1-5 scale (1= lean, 5= fat) and classified into three categories (< 2.5, ≥2.5 ≤ 3.5 or >3.5) as described by Ferguson *et al.,* (1994).

Oestrus synchronisation and artificial insemination

A week prior to synchronisation of oestrus, the reproductive status of each animal was checked by observing clinical signs as well as palpation of uterine content. 210 selected animals were identified with ear tags. Oestrus synchronisation and AI was carried out by the same operator. Cattle received an intravaginal drug release device (PRID®) containing 1.55mg of progesterone and a capsule with 10mg estradiol benzonate (PRID©, Ceva Santé Animale, France) for 10 days and were treated with luteolytic dose of $PGF_{2\alpha}$ (Cystrol©, Gellini 375 µg) and 1000mg IU of Pregnant Mare Serum Gonodotropin (PMSG, Folligon©, Intervet, France 1000IU) at the time of PRID® withdrawal. Animals were inseminated 48 hours after $PG_{2\alpha}$ and PMSG injection irrespective of the presence of heat. Imported deep frozen semen (in liquid nitrogen at -196°C) from progeny tested bulls was used. This semen was sanctioned by the appropriate government authority following national and international norms of collection from bull free from infectious diseases. Preliminary pregnancy status of each cow was determined by absence of repeats (or non-returns) 18-24 days after insemination. This was confirmed by rectal palpation of the uterine content 55-60 days after AI.

Statistical analysis

Conception rate was calculated as the proportion of inseminated animals pregnant after rectal palpation. For analysis, the model included lactation number, age, days post partum (using predetermined group boundaries), Body Condition Score (BCS) and breed of cows. After a descriptive analysis was made, the relationship between the categories for each cow factors and CR were tested one by one. Significant variables ($p<05$) were fitted into a multivariate logistic regression model. The Wald test was used to test the significance of the overall effect for variables with more than two categories. Odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) were generated during the logistic regression.

Descriptive analysis was done using SPSS Software (v.12.0) while logistic regression was evaluated using MINITAB (MINITAB version 15.1, Minitab Inc., State College, PA).

Results

In this study, 47.6% (98/206) of all inseminated animals were confirmed pregnant 55-60 days after AI. The frequencies and unconditional associations between factors studied and CR 55-60 days after AI are presented in Table 1. Results of a multivariate logistic regression model for significant relationships between factors studied and CR are presented in Table 2

Discussion

The overall CR 47.6% obtained for Cameroon Zebu cattle was lower than the 50 - 69% obtained in similar studies on local Zebu cows in Burkina Faso, Nigeria and Guinea Republic (Mattoni and Ouedraogo, 2000; Voh *et al.,* 2004; Kamga-Waladjo *et al.,* 2006). In this study, cows with more than 300

Table 1: Frequency unconditional associations between factors studied in relation to conception rate (CR).

Variable	Level	*n*	CR % (number cows)	P-Value
Lactation number	0 (Heifers)	28	28.6 (8)	0.00
	1	76	63.2 (48)	
	≥2	102	41.2 (42)	
Age of cows (Years)	<4.5	28	28.6 (8)	
	4.5-7	50	60.0 (30)	0.03
	>7	128	46.9 (60)	
Days Postpartum	0 (Heifers)	28	28.6 (8)	0.00
	30 - 150	76	46.1 (35)	
	151- 300	60	66.7 (40)	
	> 300	42	33.3 (15)	
BCS	< 2.5	86	46.5 (40)	0.94
	2.5 - 3.5	84	47.6 (40)	
	> 3.5	36	50.0 (18)	
Breed of Cows	Gudali	60	53.3 (32)	0.29
	Red Fulani	146	45.2 (66)	

Table 2: Multivariate logistic regression model for CR as affected by lactation number and days postpartum.

Variable	level	Odds Ratio	P-Value	Confidence Interval
Lactation number	0 (Heifers)	1		
	1	4.29	0.00	1.67, 11.0
	≥2	1.75	0.22	0.70, 4.35
Days Postpartum	0 (Heifers)	1		
	30 - 150	2.13	0.10	0.84, 5.44
	151- 300	5.00	0.00	1.88, 13.3
	> 300	1.39	0.53	0.49, 3.91
Age of cows (Years)	<4.5	1		
	4.5-7	3.75	0.01	1.38,10.2
	>7	2.21	0.08	0.91,5,37

days postpartum and heifers which might not have reached puberty (Sá Filho *et al.,* 2009) where included. This may explain the low CR observed.

This study showed that CR was significantly influenced by lactation number, age and days post partum. Higher CR was found in primiparous than in multiparous and nuliparous Cameroonian Zebu cows. This agrees with the well known fact that CR decreases with increase in parity (Chebel *et al.,* 2004: Grimard *et al.,* 2006; Sá Filho *et al.,* 2009). Data show that 24.7% more primiparous cows conceived compared with multiparous and nuliparous cows put together. Primiparous cows were 4.3 and 2.4 times more likely to conceived than multiparous and nuliparous with cows respectively. The poorer CR found in nuliparous cows is in agreement with observations by Peres *et al.,* (2009). Primiparous cows were younger and their metabolism had not been over strained in previous lactations as the case might have been with cows in multiple lactations. Further, primiparous cows generally have less pronounced negative energy balance and

postpartum ovarian function is likely not to be affected by energy deficiencies (Butler, 2003; Butler and Smith, 1989).

The overall difference between the three age groups of cows tended to be statistically significant. Cows below 4 years were 110 % and 64% less likely to conceive compared with 4.5-7 years and above 7 years. This is in disagreement with observation made in a study on dairy cattle where CR was highest in heifers and declined from younger to older cows (Gwazdauskas *et al.,* 1975), The low sample size among cows below 4 years may have limited effective analysis, but the observed CR suggest that synchronisation and AI was most effective in cows in the age group between 4.5 and 7 years.

Contrary to Bayemi *et al.,* (2007) where first ovulation was observed 55.2 ± 26 days postpartum in an on-station study on Zebu cattle in Cameroon, over 20% more cows at 151-300 days postpartum conceived than those 30-150 days post partum in this study. However, our results concur with the average interval between calving and onset of ovarian activity of 171 days postpartum observed in Tanzanian Zebu cattle (Matiko *et al.,* 2008).

Conclusion

CR was significantly influenced by lactation number, post partum days and age of cows. Optimum CR was achieved in primiparous cows, those between 4.5 -7 years old and 151-300 days postpartum.

This study identified some factors that influence conception rates in cattle herds in Cameroon. Knowledge of these factors will facilitate the widespread use of biotechnology tools such as bovine artificial insemination. Additionally, it will encourage farmers to develop modern farms as a means of improving their livelihoods and development of cattle farming in Cameroon.

Acknowledgement

The authors are grateful to Soprodel Sarl, Dakar-Senegal for their technical and financial assistance during this study. We thank NH Ndobe, N Sah and the reviewers of this paper for the critical reading and suggestions during manuscript preparation.

References

Abeygunawardena H, Dematawewa CMB, 2004. Pre-pubertal and postpartum anestrus in tropical Zebu cattle. *Animal Reproduction Science*, 82-83: 373-387.

Bayemi PH, Mbanya JN, 2007. The First Cattle Artificial Insemination Centre in Cameroon. IRAD Scientific Review Conference, Yaoundé, 3-5 July 2007

Bayemi PH, Bryant MJ, Perera BMAO, Mbanya JN, Cavestany D, Webb EC, 2005. Milk production in Cameroon: A review. Livestock Research for Rural Development. Volume 17, Article #60. Visited September 8, 2010, from http://www.lrrd.org/lrrd17/6/baye17060.htm

Bayemi PH, Webb EC, Cavestany D, Nsongka VM, Perera BMAO, Ngo Lihep ML, Bryant MJ, 2007. Factors affecting return to oestrus and milk production in lactating cows of small holder dairy farms of Bamenda. Rencontres Recherche Ruminants, 14, 377.

Bayemi PH, Leinyuy I, Nsongka VM Webb EC, Ebangi AL 2010. Viability of cattle sperm under different storage conditions in Cameroon. *Tropical Animal Health and Production*, 42:1779–1783

Bishop H, Pfeiffer D, 2008. Factors effecting reproductive performance in Rwandan cattle. *Tropical Animal Health and Production* 40:181-184.

Butler WR, 2003. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science* 83: 211-218

Butler WR, Smith RD, 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 72:767-776.

Chebel R, Santos J, Reynolds J, Cerri R, Juchem S, Overton M, 2004. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy

loss in lactating dairy cows. *Tropical Animal Health and Production* 84(3): 239-255.

DSCN (Direction de la Statistique et de la Comptabilité Nationale du Cameroun) 2002. Conditions de vie des populations et profil de pauvreté au Cameroun en 2001: premiers résultats. Ministère de l'Economie et des Finances, Yaoundé, Cameroun.

Escrivão RJA, Webb EC, Garcês APJT, 2009. Effects of 12 hour calf withdrawal on conception rate and calf performance of Bos indicus cattle under extensive conditions. *Tropical Animal Health and Production* 41(1):135-139.

FAO (Food and Agricultural Organisation) 2003. Production yearbooks. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. 261p.

FAOSTAT database 2009 accessed at www.faostat.fao.org on October 7, 2009.

Ferguson JD, Galligan DT, Thomsen N, 1994. Principal Descriptors of Body Condition Score in Holstein cows. Journal Dairy Science 77: 2695-26703

Grimard B, Freret S, Chevallier A, Pinto A, Ponsart C, Humblot P, 2006. Genetic and environmental factors influencing first service conception rate and late embryonic/foetal mortality in low fertility dairy herds. *Animal Reproduction Science* 91 (1-2): 31-44.

Gwazdauskas FC, Wilcox CJ, Thatcher WW, 1975. environmental and managemental factors affecting conception rate in a subtropical climate. *Journal of dairy science* 58(1):88-92.

Kamga-Waladjo AR, Mbaindingatoloum FM, Lapo RA, Thiam O, Sultan J, Diop PEH, 2006. Caractéristiques de reproduction des N'Dama utilisées en insémination artificielle bovine en République de Guinée. RASPA 4(1-2): 69-72

Matiko MK, Kanuya NL, Waldmann A, Ropstad E, Reksen O, 2008. Environmental constrains on post-partum ovarian activity in Tanzanian Zebu cows. *Theriogenology* 69: 896–904.

Mattoni M, Ouedraogo A, 2000. A Comparative Study on the Oestrous Response to $PGF_{2\alpha}$ Analogue Treatment, and Conception Rates According to Time of Artificial Insemination, in Zebu (Bos indicus) and Baoule (Bos taurus) Cattle. *Tropical Animal Health and Production* 32: 127-134.

Mukasa-Mugerwa E, 1989. A Review of Reproductive Performance of Female Bos indicus (Zebu) Cattle. Monograph 6. ILCA. Addis Ababa, Ethiopia, 134p.

Pamo TE, Tendonkeng F, Kana JR, Loyem PK, Tchapga E, Fotie FK, 2004. Effet de différents niveaux de supplémentation avec Leucaena leucocephala sur la croissance pondérale chez la chèvre naine de Guinée. Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux. 57 (1–2), 107-112.

Peres RFG, Claro Jr IC, Vasconcelos JLM, 2009. Strategies to improve fertility in Bos indicus cycling heifers and non-lactating cow submitted to fixed-time artificial insemination. *Theriogenology* 72(5), 681-689

Sá Filho OG, Meneghetti M, Peres RFG, Lamb GC, Vasconcelos JLM, 2009. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for Bos indicus cows II: Strategies and factors affecting fertility, *Theriogenology*,72: 210-218

Santos JEP, Rutigliano HM, Sá Filho MF, 2009. Risk factors for resumption of postpartum oestrus cycles and embryonic survival in lactating diary cows. *Animal Reproduction Science*. 110: 207-221.

Voh AA Jr, Larbi A, Olorunju SAS, Agyemang K, Abiola BD, Williams TO, 2004. Fertility of N'dama and Bunaji Cattle to Artificial Insemination Following Oestrus Synchronization with PRID and $PGF_{2\alpha}$ in the Hot Humid Zone of Nigeria. *Tropical Animal Health and Production*. 36(5): 499-511.

GROWTH AND BIOMASS PRODUCTION OF BRACHIARIA RUZIZIENSIS UNDER DIFFERENT LEVELS OF NITROGEN FERTILIZATION AND PHENOLOGICAL STAGE

Fernand Tendonkeng[1], Benoît Boukila[2], Etienne T. Pamo[1]., Arsène V. Mboko[2], Férence N.E. Matumuini[2], et Bienvenu F. Zogang[1]

[1]Laboratoire de Nutrition Animale, Département des Productions Animales, FASA, Université de Dschang,.B.P. 222 Dschang, Cameroun.
[2]Institut National Supérieur d'Agronomie et de Biotechnologie (INSAB), Université des Sciences et Techniques de Masuku, B.P. 941. Gabon.

CROISSANCE ET PRODUCTION DE BIOMASSE DE BRACHIARIA RUZIZIENSIS SOUS DIFFÉRENTS NIVEAUX DE FERTILISATION AZOTÉE EN FONCTION DU STADE PHÉNOLOGIQUE

Résumé

L'étude de la croissance et la production de biomasse de Brachiaria ruziziensis sous différents niveaux de fertilisation azotée en fonction du stade phénologique a été réalisée à la Ferme d'Application et de Recherche de l'Université de Dschang en 2008. Un dispositif factoriel comparant six doses d'azote (0 ; 50 ; 100 ; 150 ; 200 et 250 kg N/ha) et trois stades phénologiques (montaison, floraison et après grenaison) sur des parcelles de 8 m² (4 x 2 m) en quatre répétitions, soit un total de 72 parcelles expérimentales a été utilisé. A chaque stade phénologique, 120 plantes ont été prélevées par traitement pour les mesures des hauteurs et des diamètres. L'évaluation de la biomasse des tiges, des feuilles et de la plante entière s'est faite sur chaque parcelle en fonction du niveau de fertilisation azotée et du stade phénologique.

Les résultats de ce travail ont montré que la fertilisation azotée et le stade phénologique ont influencé de manière très significative ($P>0,05$) la taille, le diamètre et la biomasse de B. ruziziensis. Indépendamment de la fertilisation, la taille des plantes a augmenté très significativement ($p<0,05$) avec le stade phénologique. Par contre, le diamètre le plus élevé (0,47 ± 0,06 mm) a été obtenu à la floraison. Le niveau de fertilisation avec la dose 200 kg/ha a permis à tous les stades phénologiques d'avoir la taille et le diamètre les plus élevés. La biomasse des tiges, feuilles et de la plante entière a augmentée de manière générale avec le niveau de fertilisation azotée pour atteindre la production maximale avec le niveau de fertilisation avec la dose de 200 kg N/ha à la montaison (6,11 ± 0,87 ; 7,13 ± 0,76 et 13,24 ± 0,70 t MS/ha respectivement pour les feuilles, les tiges et la plante entière) et à la floraison (15,54 ± 1,96 ; 8,41 ± 1,23 et 23,96 ± 2,22 t MS/ha respectivement pour les feuilles, les tiges et la plante entière). La production de biomasse des feuilles la plus élevée (7,13 ± 0,76 t MS/ha) a été obtenue à la montaison, celle des tiges (17,36 ± 0,84 t MS/ha) après grenaison et celle de la plante entière (23,96 ± 2,22 t MS/ha) à la floraison. Indépendamment de la fertilisation, la biomasse des tiges et de la plante entière de B. ruziziensis a augmenté significativement ($p<0,05$) avec le stade phénologique. Par contre, la biomasse des feuilles la plus élevée (7,05 ± 0,17 t MS/ha) a été obtenue à la floraison. Le rapport tige/feuille a augmenté avec le stade phénologique et n'a pas été influencé de manière significative ($p>0,05$) par la fertilisation azotée.

Cette étude montre que la fertilisation avec la dose 200 kg N/ha permet d'avoir des plantes de B. ruziziensis avec la taille, le diamètre et la biomasse la plus élevée, et constitue ainsi le niveau maximal de fertilisation pour cette plante dans ces latitudes.

Mots clés: B. ruziziensis, taille, diamètre, fertilisation azotée, biomasse.

Corresponding author: ftendonkeng@yahoo.fr / pamo_te@yahoo.fr

Abstract

The study of the growth and biomass production of Brachiaria ruziziensis under different levels of nitrogen fertilization and phenological stage was conducted at the Experimental farm of Research and Application of the University of Dschang in 2008. A factorial design comparing six doses of nitrogen (0, 50, 100, 150, 200 and 250 kg N/ha) and three phenological stages (bolting, flowering and after seed set) on plots of 8 m (4 x 2 m) in four replicates, a total of 72 experimental plots was used. At each phenological stage, 120 plants were harvested by treatment for the measurements of heights and diameters. The evaluation of the stems leaves and whole plant biomass was made on each plot depending on the level of nitrogen fertilization and stage of maturity.

The results of this work have shown that nitrogen fertilization and stage of maturity have influenced significantly (P>0.05) the size, diameter and biomass of B. ruziziensis. Regardless of the fertilization, the size of plants increased significantly (p<0.05) with the phenological stage. The higher diameter (0.47 ± 0.06 mm) was obtained at flowering. The fertilization with 200 kg N / ha increase the size and diameter at all phenological stages. The stems, leaves and whole plant biomass has increased in general with the level of N fertilization to achieve maximum production with the level of fertilization of 200 kg N/ha at the bolting (6.11 ± 0.87, 7.13 ± 0.76 and 13.24 ± 0.70 t MS / ha respectively for leaves, stems and whole plant) and flowering (15.54 ± 1.96, 8.41 ± 1.23 and 23.96 ± 2.22 t MS / ha respectively for leaves, stems and whole plant). The highest biomass production of the leaf (7.13 ± 0.76 t MS / ha) was obtained at bolting, after seeding fort the stem (17.36 ± 0.84 t MS / ha) and at the flowering for whole plant (23.96 ± 2.22 t MS / ha). Regardless of the fertilization, the biomass of stems and the whole plant of B. ruziziensis increased significantly (p <0.05) with the phenological stage. The highest biomass of the leaves (7.05 ± 0.17 t MS / ha) was obtained at flowering. No significant interaction (p <0.05) was observed between the different levels of fertilization and phenological stages. The report stem/leaf increased with phenological stage and was not influenced significantly (p> 0.05) by nitrogen fertilization.

This study shows that fertilization with 200 kg N/ha increase height, diameter and biomass of B. ruziziensis, and thus constitute the maximum level of fertilizer for this plant in these latitudes.

Keywords: *Brachiaria. ruziziensis*, height, diameter, nitrogen, biomass.

Introduction

La nécessité de nourrir une population sans cesse croissante dans les pays en voie de développement pousse de plus en plus les agriculteurs à étendre les surfaces cultivables au détriment des espaces pastorales, ce qui a pour conséquence le développement des conflits pour l'utilisation de l'espace rural entre agriculteurs et éleveurs (Boutrais, 1995; Asongwed-Awa et Njoya, 2002). Cette situation conduit au rétrécissement des parcours naturels (Pamo *et al.,* 2001; Pamo *et al.,* 2006a), à les repousser vers les zones marginales et aux difficultés de satisfaire les besoins nutritionnels des animaux (Pamo *et al.,* 2006a; Pamo *et al.,* 2006b).

Une amélioration de la productivité animale peut passer non seulement par la maîtrise des systèmes de production, mais également par l'introduction et l'intensification de la production des espèces fourragères à haut rendement. Parmi les nombreuses espèces fourragères introduites au Cameroun, le *Brachiaria ruziziensis* qui est une graminée pérenne, présente les avantages de mieux s'adapter dans les différentes régions, d'avoir une bonne valeur nutritive et d'être bien appétée par les animaux (Pamo et Yonkeu, 1987 ; Pamo *et al.,* 2007). La culture de cette graminée et surtout l'intensification de son utilisation peuvent constituer un palliatif au rétrécissement des parcours ci-dessus évoqués. Les principaux facteurs influençant sa croissance, son rendement et sa valeur nutritive sont le climat, le sol et le mode d'exploitation. *B. ruziziensis* est proposé pour être utilisé avec profit non seulement dans l'amélioration des pâturages naturels mais également en fourrage vert ou conservé (Cook et al., 2005). Sans fertilisation, n'importe quelle forme d'exploitation des plantes fourragères conduit à la diminution du stock en nutriment du sol en général

et d'azote en particulier surtout quand il s'agit des graminées tropicales (Obulbiga et Kaboré-Zoungrana, 2007). Différents études ont montré que la fertilisation azotée accélère la croissance des plantes, étale la production fourragère dans le temps et entraîne une importante augmentation de la biomasse (Pamo, 1991 ; Lhoste *et al.,* 1993 ; Morot-Gaudry, 1997 ; Lawlor *et al.,* 2001). Si quelques travaux ont été menés sur l'effet de la fertilisation sur le rendement de B. ruziziensis au Cameroun, aucune étude n'a été réalisée ni sur la détermination du niveau optimal de fumure azotée, ni sur son effet sur sa croissance surtout dans les zones d'altitude.

L'objectif de cette étude est donc de déterminer l'effet de différents niveaux de fumure azotée sur la croissance et le rendement de *B. ruziziensis* en fonction des stades phénologiques. De telles informations sont indispensables pour la formulation et la mise en place de meilleures stratégies de gestion de l'espèce.

Matériel et Méthodes

Zone d'étude

L'étude a été conduite à la Ferme d'Application et de Recherche (FAR) de l'Université de Dschang entre mars et Novembre 2008. La FAR est située à 05°20' latitude Nord et 10°03' longitude Est et à une altitude moyenne de 1410 m. Le climat de la région est équatorial de type Camerounien, modifié par l'altitude. Les températures oscillent entre 10°C (juillet – août) et 25°C (février) avec une insolation annuelle de 1800 heures et une humidité relative variant entre 40 – 97%. Les précipitations varient entre 1500 et 2000 mm par an. La saison sèche va de mi-novembre à mi-mars et la saison des pluies de mi-mars à mi-novembre correspondant à la période de culture.

Les terres des parcelles où ont été conduite l'essai ont une texture argileuse, sont riches en matières organiques et ont une faible teneur en potassium et phosphore. La végétation originelle de cette région est une savane arbustive avec par endroit des forêts galeries.

Dispositif expérimental

Un dispositif factoriel comparant six doses d'azote (0 ; 50 ; 100 ; 150 ; 200 et 250 kg N/ha) et trois stades phénologiques (montaison, floraison et après grenaison) sur des parcelles de 8 m² (4 x 2 m) en quatre répétitions, soit un total de 72 parcelles expérimentales a été utilisé. Les échantillons du sol ont été prélevés sur le site expérimental dans l'horizon 0 - 20 cm avant la préparation du sol et la mise en place des éclats de souche ; l'analyse a été effectuée au Laboratoire d'Analyse des Sols, de Chimie et de l'Environnement (LANASCE) suivant la méthode d'écrite par Pauwel *et al.,* (1992). Il ressort de cette analyse que ce sol est ferralitique, bien drainé et a une texture argileuse avec absence totale de sable. C'est un sol légèrement acide (5,3<pH< 6,0), ce qui réduit les risques de toxicité due à un excès d'aluminium et de manganèse. Les teneurs en azote total sont comprises entre 3,5 g/kg et 3,7 g/kg de sol, ce qui est suffisant pour l'agriculture traditionnelle, mais nécessite une complémentation azotée pour une agriculture intensive. Le taux de matière organique est élevé avec un ratio C/N moyen de 13,5; ce qui lui confère une capacité de rétention plus grande et lui permet de supporter une forte dose de fertilisation. Pour ce qui est des bases échangeables, le sol contient en quantité suffisante le magnésium et le potassium. Les teneurs en calcium sont très faibles (0,1 – 0,3 méq/100g de sol). Il en est de même de la teneur en phosphore (1,40 - 1,97 mg/kg de sol) ce qui nécessite un apport de phosphate. Le complexe absorbant de ce sol présente une capacité d'échange cationique élevé (19,07 méq/100g de sol) et est proportionnel aux taux de matière organique ; ce qui permet d'envisager sans crainte une fertilisation avec des doses élevées d'engrais.

Préparation du sol, mise en place des plants et fertilisation

Le site expérimental a été labouré par un tracteur et la mise en place des parcelles a été faite manuellement. La même quantité

(80 g) d'engrais phosphaté sous la forme de superphosphate triple a été appliquée sur toutes les parcelles comme engrais de fond. Des éclats de souche comportant trois plants de Brachiaria ruziziensis ont été prélevés dans le parcours de la FAR. Ces éclats de souche ont subi une réduction de la taille des racines et des feuilles, et cent cinq (105) éclats de souche ont été repiqués sur chaque parcelle à 4 cm de profondeur et suivant un écartement de 25 x 25 cm.

Deux mois après la plantation d'éclats de souche, la coupe de régularisation a été effectuée à 20 cm de la surface du sol, et les parcelles ont été fertilisées une seule fois. La fertilisation azotée a été réalisée comme indiquée dans le tableau 1.

Collecte des données

A chacun des trois stades phénologiques, trente (30) plantes étaient prélevées au hasard dans chaque répétition, pour un total de 120 plantes par traitement pour les mesures des hauteurs et des diamètres. La hauteur des plantes était mesurée à l'aide d'un mètre ruban gradué au centimètre ; leur diamètre était mesuré à l'aide d'un pied à coulisse gradué au millimètre.

Pendant les périodes de coupe et pour éviter les effets de bordure, B. ruziziensis était récolté (coupe de la touffe à 5 cm du sol) au centre de la planche sur une parcelle utile d'une superficie de 2 m² (2 x 1m) et pesé. Un échantillon représentatif (1 kg) de chaque répétition par traitement a été prélevé et séché dans une étuve à 60°C jusqu'à poids constant pour la détermination de la matière sèche et l'évaluation du rendement.

A chaque stade phénologique et chaque niveau de fertilisation, un échantillon représentatif de 1 kg des plantes entières, prélevés lors des mesures de biomasse ont été séparés en feuilles et tiges pour l'évaluation du poids relatif des différentes parties de la plantes. Leur proportion a été exprimée en matière sèche (Kaboré-Zoungrana, 1995).

Tableau I: Effet de différents niveaux de fertilisation sur la hauteur de Brachiaria ruziziensis à différent stade phénologique.

Niveau de fertilisation (en unités d'azote/ha)	Stades phénologiques		
	Montaison	Floraison	Après grenaison
0	100,47 ± 14,12^{a}	155,55 ± 19,44^{a}	176,72 ±18,29^{a}
50	112,77 ± 15,94^{bc}	158,80 ± 23,02^{ab}	187,80 ± 8,09^{b}
100	115,35 ± 23,06^{c}	160,25 ± 11,95^{ab}	191,37 ± 19,89^{bc}
150	118,10 ± 4,54^{c}	163,67 ± 12,66^{b}	194,27 ± 18,46^{bc}
200	123,90 ± 3,29^{d}	172,37 ± 17,00^{c}	197,52 ± 15,22^{c}
250	108,85 ± 14,67^{b}	158,25 ± 21,23^{ab}	178,70 ±36,41^{a}

a,b,c : les moyennes portants les lettres différentes dans la même colonne sont significative au seuil de 5%.

Tableau II: Effet de différents niveaux de fertilisation sur le diamètre de Brachiaria ruziziensis à différent stade phénologique

Niveau de fertilisation (en unités d'azote/ha)	Stades phénologiques		
	Montaison	Floraison	Après grenaison
0	0,38 ± 0,03^{a}	0,41 ± 0,03^{a}	0,41 ± 0,03^{a}
50	0,46 ± 0,07^{c}	0,46 ± 0,06^{c}	0,47 ± 0,07^{b}
100	0,46 ± 0,04^{c}	0,47 ± 0,05^{cd}	0,48 ± 0,07^{bc}
150	0,47 ± 0,06^{c}	0,49 ± 0,07^{d}	0,50 ± 0,08^{c}
200	0,52 ± 0,06^{d}	0,57 ±0,06^{e}	0,58 ± 0,06^{d}
250	0,42 ± 0,07^{b}	0,43 ±0,05^{b}	0,43 ± 0,05^{a}

a,b,c,d : les moyennes portants les lettres différentes dans la même colonne sont significative au seuil de 5%.

Analyse statistiques

Les données sur la hauteur, le diamètre et la biomasse produite ont été soumises à une analyse de variance multifactorielle suivant le Model Linéaire Général (MLG). Lorsque les différences existaient entre les différents traitements, les moyennes étaient séparées par le test de Duncan au seuil de signification 5% (Steel et Torrie, 1980).

Résultats

Effet de différents niveaux de fertilisation sur la hauteur et le diamètre de Brachiaria ruziziensis à différent stade phénologique

Le tableau I présente la variation de la hauteur des plantes de Brachiaria ruziziensis en fonction de différents niveaux de fertilisation à la montaison, floraison et après grenaison.

La taille de Brachiaria ruziziensis augmente avec la fertilisation jusqu'à 200 kg N/ha à la montaison, floraison et après grenaison. A la montaison, la taille des plantes fertilisées était très significativement ($p<0,05$) supérieure à celle des plantes non fertilisées. La fertilisation à la dose 200 kg/ha à permis à la montaison d'avoir des plantes ayant une taille très significativement ($p<0,05$) supérieure à celle des autres plantes. La taille des plantes fertilisées aux doses 50, 100, 150 et 250 kg N/ha était comparable ($p>0,05$). Il en était de même de la taille des plantes fertilisées aux doses 50 et 250 kg N/ha.

La taille des plantes des parcelles non fertilisées et celles fertilisées aux doses 50 et 100 kg N/ha était comparable ($p>0,05$) à la floraison. Il en était de même pour la taille des plantes fertilisées aux doses 50, 100, 150 et 250 kg N/ha. Par contre, la taille des plantes fertilisées à la dose 250 kg N/ha était significativement ($p<0,05$) plus élevée que celle des plantes obtenues avec les autres niveaux de fertilisation.

La taille des plantes non fertilisées (176,72 ± 18,29 mm) après grenaison était comparable ($p>0,05$) à celle des plantes fertilisées à la dose 250 kg N/ha. Il en était de même de la taille des plantes fertilisées aux doses 100, 150 et 200kg N/ha. Le niveau de fertilisation avec 200 kg N/ha a permis d'avoir des plantes avec une taille significativement ($p<0,05$) plus élevée que celle des plantes non fertilisées et celle fertilisée aux doses 50 et 250 kg N/ha. Aucune différence significative n'a par ailleurs été observée entre la taille des plantes fertilisées aux doses 100, 150 et 200 kg N/ha.

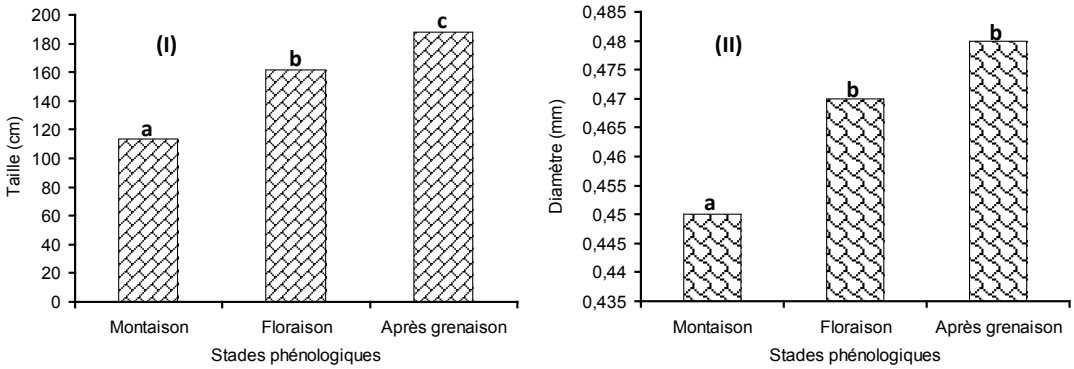
Le diamètre de Brachiaria ruziziensis en fonction de différents niveaux de fertilisation aux différents stades phénologiques est présenté dans le tableau II. De manière générale, le diamètre des plantes augmente avec le niveau de fertilisation jusqu'à 200 kg N/ha avant de diminuer ensuite avec le niveau de fertilisation à la dose 250 kg N/ha. A la montaison, la fertilisation a permis d'obtenir des plantes de diamètre significativement ($p<0,05$) plus élevé que celle des plantes non fertilisées. Le diamètre des plantes fertilisées aux doses 50 et 150 kg N/ha était comparable. Les plantes fertilisées à la dose 200 kg N/ha avaient un diamètre significativement supérieur à celui des autres plantes.

A la floraison, le diamètre des plantes fertilisées était significativement ($p<0,05$) supérieur à celui des plantes non fertilisées. Le diamètre des plantes fertilisées aux doses 50 et 100 kg N/ha était comparable ($p>0,05$).

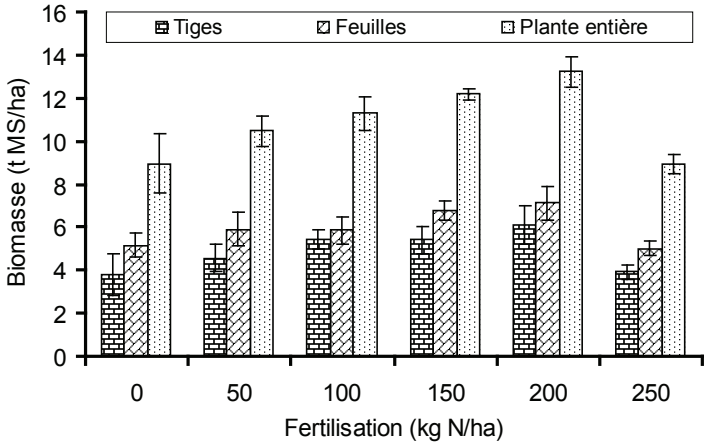
Tableau III: Evolution de la biomasse (t MS/ha) des tiges, des feuilles et de la plante entière de Brachiaria ruziziensis en fonction du stade phénologique.

	Stades phénologiques		
	Montaison	**Floraison**	**Après grenaison**
Tiges	4,87 ± 0,29[a]	12,38 ± 0,29[b]	14,54 ± 0,29[c]
Feuilles	5,97 ± 0,17[a]	7,05 ± 0,17[b]	5,83 ± 0,17[a]
Plante entière	10,84 ± 0,32[a]	19,43 ± 0,32[b]	20,37 ± 0,32[c]

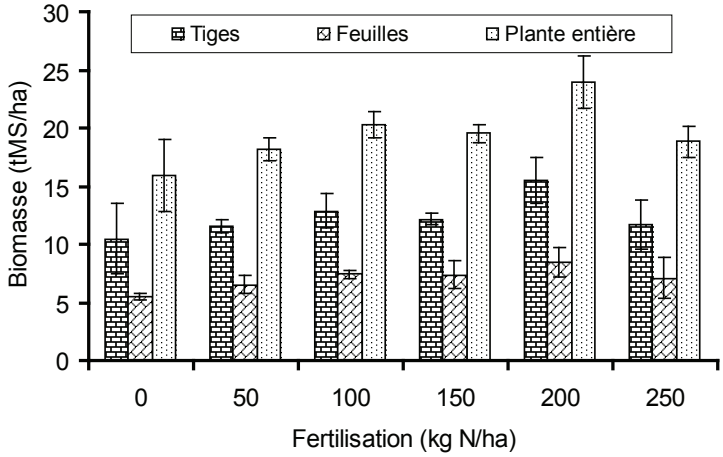
a,b,c : les moyennes portants les lettres différentes dans la même ligne sont significative au seuil de 5%.



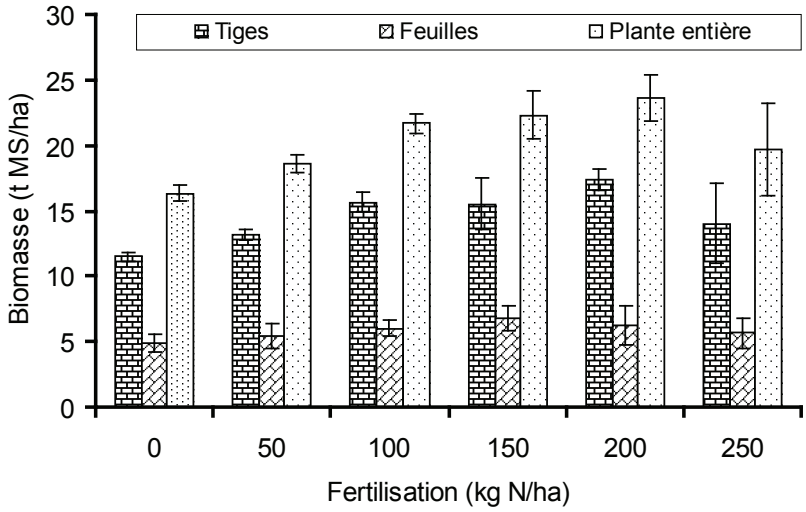
Figures 1: Evolution de la taille (I) et du diamètre (II) de Brachiaria ruziziensis en fonction du stade phénologique.



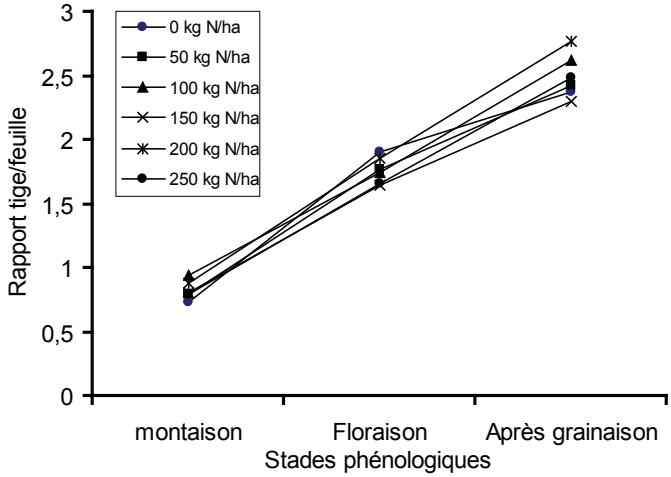
Figures 2: Evolution de la biomasse (t MS/ha) des tiges, des feuilles et de la plante entière de Brachiaria ruziziensis à la montaison en fonction du niveau de fertilisation.



Figures 3: Evolution de la biomasse (t MS/ha) des tiges, des feuilles et de la plante entière de Brachiaria ruziziensis à la floraison en fonction du niveau de fertilisation.



Figures 4: Evolution de la biomasse (t MS/ha) des tiges, des feuilles et de la plante entière de Brachiaria ruziziensis après grenaison en fonction du niveau de fertilisation.



Figures 5: Evolution du rapport tige/feuille de Brachiaria ruziziensis en fonction du stade phénologique.

Il en était de même du diamètre des plantes fertilisées aux doses 100 et 150 kg N/ha.

Le diamètre des plantes fertilisées à la dose 250 kg N/ha était comparable ($p>0,05$) à celui des plantes non fertilisées après grenaison. Il en était de même pour les plantes fertilisées aux doses 50 et 100 kg N/ha. Les plantes fertilisées à la dose 200 kg N/ha ont eu un diamètre significativement ($p<0,05$) supérieur à celui des autres plantes. De manière générale, le diamètre des plantes le plus élevé a été obtenu avec la fertilisation à la dose 200 kg N/ha.

Effet du stade phénologique sur la taille et le diamètre de Brachiaria ruziziensis

La figure 1 présente la variation de la hauteur et du diamètre de Brachiaria ruziziensis en fonction du stade phénologique. Il ressort de ces figures que la taille (l) de B. ruziziensis a très significativement ($p<0,05$) augmentée avec le stade phénologique. Le diamètre a également augmenté avec le stade phénologique. Le diamètre des plants de *B.*

ruziziensis à la floraison et après grenaison était comparable (p>0,05). Il était par contre significativement (p<0,05) supérieure à celui des plants *B. ruziziensis* à la montaison.

Effet de différents niveaux de fertilisation sur la production de biomasse de Brachiaria ruziziensis à différent stade phénologique

L'évolution de la biomasse des tiges, des feuilles et de la plante entière de Brachiaria ruziziensis à la montaison en fonction de la fertilisation est présentée par la figure 2. La biomasse augmente de manière générale avec le niveau de fertilisation azotée pour atteindre la production maximale avec 200 kg N/ha. A ce stade phénologique, la biomasse des feuilles était supérieure à celle des tiges, indépendamment du niveau de fertilisation azotée. La biomasse des tiges et des feuilles de *B. ruziziensis* récoltée sur la parcelle témoin était comparable (p>0,05) à celle obtenue sur les parcelles fertilisées aux doses 50 et 250 kg N/ha. Il en était de même de la biomasse des tiges et des feuilles de B. ruziziensis récoltée sur les parcelles fertilisées aux doses 50, 100 et 150 kg N/ha. La biomasse la plus élevée des tiges (6,11 ± 0,87 t MS/ha), des feuilles (7,13 ± 0,76 t MS/ha) et de la plantes entière (13,24 ± 0,70 t MS/ha) a été obtenue avec le niveau de fertilisation 200 kg N/ha. Avec le niveau de fertilisation de 250 kg N/ha, on a observé une baisse de la biomasse de l'ordre de 35,84% pour les tiges, 29,73% pour les feuilles et 32,47% pour la plante entière par rapport au niveau de fertilisation à la dose 200 kg N/ha.
La biomasse des tiges, des feuilles et de la plante entière de *B. ruziziensis* récoltée à la floraison sur les parcelles non fertilisées et celles fertilisées à la dose 50 kg N/ha était comparable (p>0,05) (Figure 3). Il en était de même pour la biomasse des tiges et des feuilles de B. ruziziensis récoltée sur les parcelles fertilisées aux avec 50, 100 et 150 kg N/ha. Par contre, la production de biomasse des tiges (15,54 ± 1,96 t MS/ha) et des feuilles (8,41 ± 1,23 t MS/ha) des parcelles fertilisées à la dose 200 kg N/ha était significativement supérieure à celle des parcelles non fertilisées. La biomasse la plus élevée des tiges (15,54 ± 1,96 t MS/ha), des feuilles (8,41 ± 1,23 t MS/ha) et de la plantes entière (23,96 ± 2,22 t MS/ha) a été obtenue avec le niveau de fertilisation de 200 kg N/ha. A ce stade phénologique, la biomasse des tiges a été supérieure à celles des feuilles, indépendamment du niveau de fertilisation. On a observé une baisse de la biomasse avec le niveau de fertilisation à 250 kg N/ha de l'ordre de 24,58% ; 15,57% et 21,45% respectivement pour les tiges, les feuilles et la plante entière par rapport au même paramètre sur les parcelles fertilisées à la dose 200 kg N/ha (Figure 3).

La figure 4 présente la biomasse des tiges, des feuilles et de la plante entière de B. ruziziensis en fonction de la fertilisation après grenaison. La biomasse des tiges à ce stade phénologique représentait plus du double de celle des feuilles. Celles des tiges, des feuilles et de la plante entière de B. ruziziensis récoltées sur les parcelles fertilisées aux doses 0 et 50 kg N/ha étaient comparables. Il en était de même de la biomasse des tiges, des feuilles et de la plante entière de *B. ruziziensis* récoltées sur les parcelles fertilisées aux doses 100, 150 et 200 kg N/ha. Le niveau de fertilisation avec 200 kg N/ha a permis d'obtenir la biomasse des tiges (17,36 ± 0,84 t MS/ha), des feuilles (6,28 ± 1,48 t MS/ha) et de la plante entière (23,65 ± 1,75 t MS/ha) la plus élevée après grenaison. Par contre, la biomasse des feuilles la plus élevée à ce même stade a été obtenue avec le niveau de fertilisation de 150 kg N/ha. La fertilisation a permis de manière générale d'accroître la biomasse des tiges, des feuilles et donc de la plante entière de B. ruziziensis. Ainsi, à la montaison et à la floraison, la fertilisation à la dose 200 kg N/ha a permis d'obtenir la biomasse des tiges, des feuilles et de la plante entière la plus élevé. Par contre après grenaison, la fertilisation à la dose 150 kg N/ha à permis d'avoir la biomasse des feuilles la plus élevée bien que cette biomasse n'ait pas été significativement différente (p>0,05) de celle obtenue avec la fertilisation à la dose 200 kg N/ha.

Effet du stade phénologique sur le rendement de Brachiaria ruziziensis

L'évolution de la biomasse des tiges, des feuilles et de la plante entière de

Brachiaria ruziziensis en fonction du stade phénologique est présentée dans le tableau III. Il ressort de ce tableau que la biomasse des tiges et de la plante entière a augmentée significativement ($p<0,05$) avec le stade phénologique. La biomasse la plus élevée des tiges (14,54 ± 0,29 t MS/ha) et de la plante entière (20,37 ± 0,32 t MS/ha) a été obtenue après grenaison. Par contre, la biomasse des feuilles la plus élevée a été obtenue à la floraison (7,05 ± 0,17 t MS/ha) et la plus faible après grenaison (5,83 ± 0,17 t MS/ha). Aucune différence significative ($p>0,05$) n'a été observée entre la biomasse des feuilles de B. ruziziensis à la montaison et après grenaison. Aucune interaction significative ($p<0,05$) n'a été observée entre les différents niveaux de fertilisation et les stades phénologiques.

Rapport tige/feuille

Le rapport tige/feuille n'a pas été influencé de manière significative ($p>0,05$) par la fertilisation azotée. Il a augmenté avec le stade phénologique (Figure 5). En effet, à la montaison, le rapport tige/feuille a varié de 0,73 à 0,93 alors qu'à la floraison et après grenaison, elle a varié de 1,64 à 1,90 et de 2,29 à 2,76 respectivement.

Discussion

La taille et le diamètre des plantes ont augmenté avec le niveau de fertilisation azotée. A la montaison, la taille et le diamètre des plantes fertilisées étaient significativement ($p<0,01$) supérieure à celle des plantes non fertilisées. Par contre, à la floraison et après grenaison, la taille des plantes non fertilisées était comparable à celle des plantes fertilisées avec la plus forte dose. L'azote étant le principal facteur limitant la croissance et la production des plantes (Morot-Gaudry, 1997 ; Obulbiga et Kaboré-Zoungrana, 2007 ; Pamo et al., 2008), cette différence peut s'expliquer par le fait qu'en dépit d'une quantité suffisante d'azote dans le sol, elle ne correspondait cependant pas au maximum nécessaire pour la croissance de cette plante. Dans le cadre de cette étude, ce maximum a été atteint avec le niveau de fertilisation de 200 kg N/ha. Nous pouvons donc penser qu'au delà de ce niveau de fertilisation, l'azote devient toxique pour la plante. En effet, l'azote apporté sous forme d'urée s'hydrolyse rapidement pour donner le NH3 et l'ammonium (NH4+). Les effets de ce dernier, nombreux et complexes lorsqu'il est en excès dans le milieu sont liés à une acidification du milieu racinaire et à des perturbations de la nutrition hydrominérale de la plante (Maurice et al., 1985 ; Morot-Gaudry, 1997), ce qui expliquerait la diminution de la taille et du diamètre observées.

La fertilisation azotée a influencée positivement la production de biomasse de la plante entière de Brachiaria ruziziensis et de ses différentes parties. A la montaison, la proportion de feuille était supérieure à celle des tiges, et la fertilisation à la dose 200 kg N/ha a induit la production de feuille la plus élevée. Par contre, à la floraison et après grenaison, la proportion de tige était supérieure à celle des feuilles ce qui s'est traduit par un rapport tige/feuille élevé. L'augmentation de la biomasse avec le niveau de fertilisation azotée observé au cours de cet essai est en accord avec les observations de nombreux auteurs (Pamo, 1989; Pamo et Pieper, 1989; Hyo *et al.,* 1993; Dumon et Lanuza, 1993; Peyraud, 1990; Lemaire *et al.,* 1999; Lawlor et al., 2001 ; Obulbiga et Kaboré-Zoungrana, 2007; Pamo et al., 2008). La variation de la biomasse obtenue dans cette étude est semblable aux observations de Bogdan (1977) et Cook *et al.,* (2005) qui ont montré que la biomasse de B. ruziziensis varie de 5 à 36 t MS/ha en fonction de la fertilité du sol, des précipitations et du niveau de fertilisation. En effet, la fertilisation accroît la vitesse de végétation, ce qui augmente la production pour un stade de croissance donné, ou réduit le délai nécessaire pour atteindre un rendement défini (Lemaire *et al.,* 1982; Peyraud, 1990; Morot-Gaudry, 1997; Lemaire *et al.,* 1999). La biomasse de la plante entière obtenue à la montaison et à la floraison avec le niveau de fertilisation à 92,5 unités d'N/ha (200 kg N/ha) est inférieure à celle obtenue par Appadurai (1975) au Sri Lanka lorsqu'il fertilisait le B. ruziziensis avec 224 kg N/ha (22,03 t MS/ha) et 366 kg N/ha

(25,6 t MS/ha). Par contre la biomasse de la plante entière obtenue avec la fertilisation à 0 et 150 kg N/ha à la montaison (6,7 et 12,18 t MS/ha) est semblable à celle obtenue avec la même espèce sur un oxosol au Brésil (6 et 12 t MS/ha respectivement) avec les mêmes niveau de fertilisation (Vincente-Chandler *et al.,* 1972).

Dans cette étude, nous avons observé que la biomasse augmentait avec le niveau de fertilisation jusqu'à un seuil au-delà duquel elle commençait à baisser. Ces observations concordent avec ceux de nombreux auteurs (Olsen, 1982; Limani et De Vienne, 2001; Maurice *et al.,* 1985 ; Lawlor *et al.,* 2001). En effet, Olsen (1982) obtient en Ouganda avec *B. ruziziensis* une production de biomasse de 26,5 t MS/ha avec une fertilisation maximale de 896 kg N/ha. Ce niveau maximal de fertilisation est largement supérieur à celui observé dans cette étude, qui est de 200 kg N/ha. Cette différence peut s'expliquer par la fertilité des sols et les précipitations. Par ailleurs, la baisse de rendement observée à partir d'un seuil de fertilisation est en accord avec les observations de Olsen (1982) et Limani et Vienne (2001) qui ont montré qu'un apport d'azote à la dose qui excède les besoins de croissance potentielle de la plante ne permet plus d'augmenter le rendement fourrager. D'autre part Maurice *et al.,* (1985) ont montré qu'une fertilisation azotée à des doses élevées (qui excède les besoins de croissance potentielle de la plante) entraîne une baisse de production de la biomasse due à la toxicité à l'ion ammonium. De même, Lawlor *et al.,* (2001) ont montré que lorsque l'apport d'azote excède les besoins de la plante, l'efficacité de son utilisation par cette dernière baisse car elle en devient saturée. L'accroissement du rendement de *B. ruziziensis* avec le stade phénologique est en accord avec celui obtenus par Lhoste *et al.,*(1993), Daget et Godron (1995) et, Obulbiga et Kaboré-Zoungrana (2007) et Pamo *et al.,*(2008). En effet, au cours de la croissance végétale, il y a augmentation de la densité de talles, développement de nouveaux bourgeons et de tiges, et une augmentation de la vitesse d'élongation des feuilles (Lemaire, 1985).

Conclusion

Il ressort de cette étude que la fertilisation azotée et le stade phénologique ont significativement influencé la taille ($P<0,05$), le diamètre ($P<0,05$) et la biomasse ($P<0,05$) de B. ruziziensis. La taille et le diamètre le plus élevé a été obtenu avec le niveau de fertilisation à la dose 200 kg N/ha. La biomasse des tiges, feuilles et de la plante entière la plus élevée a été obtenue à la montaison et à la floraison avec le niveau de fertilisation à la dose 200 kg N/ha. Par contre après grenaison, la biomasse des feuilles la plus élevée a été obtenue avec le niveau de fertilisation de 150 kg N/ha tandis que celle des tiges et de la plante entière a été obtenue avec la fertilisation à la dose 200 kg N/ha. Le rapport tige/feuille a augmenté avec le stade phénologique et n'a pas été influencé de manière significative ($p>0,05$) par la fertilisation azotée. Cette étude montre que la fertilisation à la dose 200 kg N/ha permet d'avoir les plantes avec la taille, le diamètre et la biomasse la plus élevée d'une part, et qu'il constitue le niveau maximal de fertilisation pour cette plante dans cette zone d'autre part.

Bibliographie

Appadurai RR. 1975. Pasture development and management on marginal plantations in central Sri Lanka. *Proc. 3rd World Conf. Anim. Prod.,* 333-338.

Asongwed-Awa A, Njoya A. 2002. An integrated approach to forage seed production and supplementation of dairy cows in the semiarid region of Cameroon. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.,* 55: 269-274.

Bogdan AV. 1977. Tropical pastures and fodder plants (grasses and legumes). London, New York, Longman.

Borget M. 1966. Yields and characteristics of five forage grasses on coastal sands in Cayenne, French Guiana. *Agron. trop.,* 21: 250-259.

Boutrais J. 1995. Hautes terres d'élevage du Cameroun. Paris: ORSTOM. 3 vol.1302p.

Cook BG, Pengelly BC, Brown SD, Donnelly JL, Eagles DA, Franco MA, Hanson J, Mullen BF, Partridge IJ, Peters M, Schultze-Kraft R. 2005. Tropical Forages: an interactive selection tool., [CD-ROM], CSIRO, DPI&F(Qld), CIAT and ILRI, Brisbane, Australia.

Daget P, Godron M. 1988. Pastoralisme. Troupeaux, espaces et sociétés. 510 p.

Dumont LJC, Lanuza AF. 1993. Effect of applied and rest period on forage production and silage quality. Proceeding of the XVII International Grassland Congress: 880-881

Hyo WL, Mu HJ, Chang HK. 1993. Effect of temperature, nitrogen fertiliser and cutting height on regrowth and dry matter production of orchagrass. Proceedings of the XVII International Grassland Congress 1993. 131-133.

Kaboré-Zoungrana CY. 1995. Composition chimique et valeur nutritive des herbacées et ligneux des pâturages soudaniens et les sous-produits du Burkina Faso. Thèse de Doctorat d'Etat. Université de Ouagadougou, 301 p. + annexes.

Lawlor D, Lemaire G, Gastal F. 2001. Nitrogen, plant growth and crop yield. In: Lea P.J. and Morot-Gaudry J.F. (eds). Plant Nitrogen. 2001. INRA. Pp 343-367.

Lemaire G, Pablo C, Jacque W. 1999. Ecophysiologie des plantes fourragères tropicales. In : Roberge G. et Toutain 1999. Cultures fourragères tropicales. CIRAD. Pp 19 – 51.

Lemaire G, Salette J, Laissus R. 1982. Analyse de la croissance d'une prairie naturelle normande au printemps II. La dynamique d'absorption de l'azote et son efficience fourrage.

Lhoste P, Dolle V, Rousseau J, Soltner D. 1993. Manuel de zootechnie des régions chaudes. Les systèmes d'élevage. Collection précis d'élevage. Ministère de la coopération. 288p.

Limami A, De Vienne D. 2001. Natural Genetic Variability in nitrogen Metabolism. In: Lea P.J. and Morot. Gaudry J.F. (eds) Plant Nitrogen. 2001. INRA. Pp. 369-378.

Maurice EH, Robert FB, Darrel SM. 1985. Forages: The science of grassland agriculture. Iowa State University press. Arnes, Iowa, USA. Pp. 318-325.

Morot-Gaudry J-F. 1997. Assimilation de l'azote chez les plantes : aspects physiologique, biochimique et moléculaire. Edition INRA. 422p.

Obulbiga MF, Kaboré-Zoungrana CY. 2007. Influence de la fumure azotée et du rythme d'exploitation sur la production de matière sèche et la valeur alimentaire de Andropogo gayanus kunth au Burkina Faso. *Tropicultura,* 2007, 25 : 3, 161 – 167.

Olsen FJ. 1982. Effect of large application of nitrogen fertilizer on the production and protein contents of four tropical grasses in Uganda. *Tropical Agriculture* 49: 251-260.

Pamo TE, Assontia GD, Njehoya C. 2001. Comparative growth performance of West African dwarf goat supplemented with Calliandra calothyrsus, Leucaena leucocephala, or cotton seed cake in West Cameroon. XIX International Grassland Congress. Brasil. Pp 713-714.

Pamo TE, Boukila B, Meduke CN, Tendonkeng F. 2008. Effect of nitrogen fertilisation and cutting frequency on the yield and regrowth of Panicum maximum Jacq in West Cameroon. In: Xie Haining and Huang Jiehua (Eds). XXI International Grassland Congress / VIII International Rangeland Congress Hohhot, China, 29th June –5th July 2008. p 354.

Pamo TE, Tendonkeng F. Kana JR, Boukila B. Nanda AS. 2006b. Effect Calliandra calothyrsus and Leucaena leucocephala supplementary feeding goat production in Cameroon. Small Ruminant Research, 65: 31-37.

Pamo TE, Fonteh FA, Tendonkeng F, Kana JR, Djaga PJ, Fomewang II, G. 2006a. Influence of supplementary feeding of multipurpose leguminous tree leaves on kid growth and milk production of the West African Dwarf goats. *Small Ruminant Research*: 63: 142-149.

Pamo TE. 1989. Rangeland response to low levels of nitrogen fertilization and cutting intensities on the Adamawa plateau-Cameroon. Rev. Elev. Méd Vété. Pays Tropi. 42 (4) : 591-598.

Pamo TE. 1991. Réponse de Brachiaria ruziziensis

Germain et Evard à la fertilisation azotée et à différents rythmes d'exploitation en Adamaoua, Cameroun. Revue Elev. Méd. Vét. Pays trop. 44 (3): 373 – 380.

Pamo TE, Boukila B, Fonteh FA, Tendonkeng F, Kana JR, Nanda AS. 2007. Nutritive values of some basic grasses and leguminous tree foliage of the Central region of Africa. Animal Feed Science and Technology, 135: 273-282.

Pamo TE, Pieper RD. 1989. Effect of nitrogen fertilization in combination with potassium and phosphorus and cutting frequency on the yield of Brachiaria ruziziensis in Adamawa plateau, Cameroon. XVI International Grassland congress, 4-11 october 1989, Nice France. Versailles, The French Grassland society, 1989. p. 111-112.

Pamo TE, Yonkeu S. 1987. Comportement de quelques espèces fourragères dans les bas-fonds du ranch SODEPA-Faro, Adamaoua, Cameroun. In: Actes du séminaire régional sur les fourrages et l'alimentation des ruminants, 16-20 novembre 1987. N'Gaoundéré Cameroun. Maison-Alfort, IEMVT, Yaoundé, MESRES. 413-425 (Etudes et Synthèse de l'IEMVT n° 30).

Pauwels JM, Van Ranst E, Verloo M, Mvondo ze A. 1992. Méthode d'analyse de sols et de plantes, gestion de stock de verrerie et de produits chimiques. Manuel de Laboratoire de Pédologie. Publication Agricoles. 28.

Peyraud JL. 2000. Fertilisation azotée des prairies et nutrition des vaches laitières. Conséquences sur les rejets d'azote. *INRA. Prod. Anim.* 13, 61 ,72. Pp. 147 – 188.

Steel RG, Torrie JH. 1980. Principles and procedures of statistics. New York, McGraw Hill Book C. 633p.

Vincente-Chandler J, Silva S, Albrunia F, Rodriguez JA. 1972. Effect of two cutting heights, four harvest intervals and five nitrogen rates on yield and composition of Congo grass under humid tropical conditions. *Puerto Rico Journal of Agriculture*, 56: 280-291.

SHORT COMMUNICATION

INVESTING IN LIVESTOCK TO DRIVE ECONOMIC GROWTH IN AFRICA: RATIONALE AND PRIORITIES

Nouala S*, Pica-Ciamarra U+, Otte J# and N'guetta A*
*AU Inter-African Bureau for Animal Resources, Nairobi
+FAO, Animal Production and Health Division, WB-ILRi-FAO Livestock Data Innovation Project
#FAO, Animal Production and Health Division

Introduction

The livestock sector could play an important role in the process of economic development of sub-Saharan Africa (SSA). However, due to policy neglect, the sector is marginally contributing to economic growth and poverty reduction and, in general, to the attainment of the Millennium Development Goals. This note provides evidence that public and private sector investments in the livestock sector can generate viable returns in terms of economic growth and poverty reduction, provided that (i) they are targeted to assist small livestock producers in enhancing livestock productivity rather than attempting to support the vast array of marginal livestock keepers[1], and (ii) they focus on promoting intra-African trade of live animals and livestock products, rather than attempting to penetrate high-value international markets.

Livestock in the macro-economy

The livestock sector contributes between 20 to 50 percent to agriculturel value added in African countries – with a continental average of 26 percent – and is expected to become the largest contributor to agriculture as economic development progresses and of a growing demand for high-value food items, including meat and dairy products. In industrialized economies, the livestock sector accounts for about half of agricultural GDP (FAOSTAT, 2011).

In developing countries, including the African economies, the contribution of livestock to agriculture, and to the economy in general, is underestimated. Estimates of livestock GDP typically account for the value of production, but not for that of other services provided by livestock - such as hauling, manure draft power and insurance and savings. These services are of high value, particularly in developing countries where only a minority of farmers are specialized livestock producers. Behnke (2010), for instance, calculates that the contribution of livestock to the Ethiopian GDP should be increased by about 30 percent if the value of hauling services provided by farm animals is considered.

Furthermore, the secondary benefits of livestock production along the value chain and associated employment generation are generally overlooked. Roland-Holst *et al.,*(in FAO, forthcoming) estimate that in sub-Saharan Africa livestock sector multipliers – as measured by the incremental effect of $1 additional spending on aggregate national household incomes – average $2.9 in primary livestock production and $5.9 in processing. In addition, while livestock is in most countries a stronger stimulus for economic growth than crops, fruits and vegetables, manufacturing and service sectors, the benefits of livestock sector growth are usually more equally distributed because of a web of indirect linkages across distribution, processing and marketing activities.

In a retrospective analysis, Pica *et al.,*(2008) found a statistically significant causal relationship between livestock sector development and economic growth in 18 of the 20 African countries analyzed, strongly

[1]Small livestock producers are here defined as those farmers that have sufficient skills and resources which, when appropriate policies and institutions are in place, enable them to produce and sell surpluses of meat and dairy products. Marginal livestock keepers are those household that have an insufficient critical mass of assets to regularly produce a surplus from their livestock, and for whom labour is the main asset.

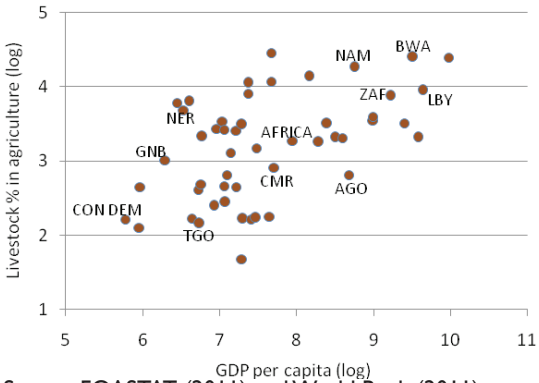
suggesting that increases in value-addtion per Tropical Livestock Unit (TLU) are a driver of GDP per capita growth. In general, increased agricultural productivity, including livestock, is anticipated to lower food prices, which directly benefits the poor and generates a surplus of products and factors that can be exported from agriculture to the rest of the economy, thereby facilitating economic growth and poverty reduction (see Tiffin and Irtz, 2006).

Livestock in the household economy

Livestock are one of the most common assets among rural households in Africa. The most recent continental data publicly available, produced by ILRI in 2002 through overlaying population and poverty data on livestock production systems, indicate that over 53 percent of the population keeps some livestock in sub-Saharan Africa, i.e. that one out of two persons in the continent are partly dependent on livestock for their livelihoods (ILRI, 2002). Household survey data from multi-topic questionnaires administered to nationally representative sample of households – also indicate that the majority of rural dwellers keep some farm animals: In Ghana, for instance, 50 percent of households are estimated to keep livestock; 77 percent in Madagascar; 63 percent in Malawi; 60 percent in Benin; 46 percent in Nigeria (FAO, in press; Kherallah *et al.,* 2001).

Livestock are major source of subsistence for rural households, as they represent a source of food, income, manure, draught power and hauling services, savings and insurance and social capital (Moll, 2005). However, mean household livestock herd size ranges between 1 and 2 TLU (FAO, in press) and livestock usually only contribute marginally to household income (Table 1).

Fig. 1. GDP per capita and livestock value added in agriculture (%) in African countries, 2008



Source: FOASTAT (2011) and World Bank (2011)

The fact that a majority of households keep some livestock but that farm animals contribute relatively little to their income suggests that it is unfeasible for all African livestock keepers to specialize in livestock farming and use their farm animals to escape poverty.

- While the distribution of entrepreneurial skills among the population depends on a variety of factors, available cross-country data consistently show that as economies grow more people are employees (in industrialized countries economies only about 10 to 15 percent of the population is self-employed), i.e. it is unlikely that all livestock keepers would be willing or able to set up profitable livestock farms (ILO, 2011).
- Even if all livestock keepers became successful livestock producers, input costs would increase and output prices would drop reducing the profitability of livestock farming, i.e. In this scenario livestock could not be the main source of livelihoods for the majority of rural households (Baghwati, 1958).
- The majority of livestock keepers in Africa can be defined as 'marginal livestock keepers', i.e. they have an insufficient critical mass of assets to regularly produce a surplus from their livestock, and their non-farm activities do not allow them to rely on market purchases for adequate food intake. Labour is their main asset, and the generation of employment opportunities in rural areas is thus the most common path out of poverty for them (Upton and Otte, 2004).
- Only a minority of livestock keepers can be defined as 'small livestock producers', i.e. they have skills and resources that, when appropriate policies and institutions are

Table 1: Contribution of livestock to household income

Country	Region / District	Date of survey	Livestock % of hh income	Source
Benin	All, rural	1998/99	7	Kheralla *et al.,* 2001
Botswana	Kgatlend, Kweneng	1991/92	49*	Panin, 1996
Burkina Faso	Central Plateau	2003	5	Wouterse & Taylor, 2008
Egypt	All, rural	1997/98	12	Minot *et al.,* 2009
Egypt	All	1997/98	8	Adams, 2002
Ethiopia	Northern Tigray	2006/07	9	Nega *et al.,* 2009
Gambia	McCarthy, Up. River	1985	25	Russo, 1990
Ghana	All, rural	1998	4	Pica-Ciamarra *et al.,* 2011
Kenya	Kakamega	2004	7	Karugia *et al.,* 2006
Kenya	Vihiga	2004	14	Karugia *et al.,* 2006
Madagascar	All, rural	1993	13	Pica-Ciamarra *et al.,* 2011
Malawi	All, rural	1998	5	Kheralla *et al.,* 2001
Malawi	All, rural	2004	9	Pica-Ciamarra *et al.,* 2011
Mali	Sikasso, Koutiala	1994/95/96	24+	Abdulai & CroleRees, 2001
Mali	Inner Niger Delta	n.a.	42	Swift, 1982
Mozambique	Monapo	1991	3	Tschirley & Weber, 1994
Mozambique	Angoche	1991	2	Tschirley & Weber, 1994
Nigeria	All, rural	2004	5	Pica-Ciamarra *et al.,* 2011
Nigeria	Kwara State	2006	5	Babatunde, 2008
Senegal	All	2001/02	9	Kazybayeva *et al.,* 2006
Tanzania	Morogoro	2001	11	Ellis & Mdoe, 2003
Uganda	Mbale	2001	3	Ellis & Bahiigwa, 2003
Uganda	Mubende	2001	12	Ellis & Bahiigwa, 2003

in place, would enable them to become successful entrepreneurs, to produce and sell surpluses of meat and dairy products, generate employment opportunities for the others, because livestock activities throughout the supply chain are intensive in use of unskilled labour[1] and ultimately, contribute to an inclusive growth of livestock and of the economy in general[2].

Demand for Animal Products

There are opportunities for small livestock producers to establish profitable livestock enterprises, because of the large increase in the demand for animal products in the African continent, due to the combined effect of population expansion, the high rate of urban growth and accompanying changes in lifestyles and increases in real household incomes. Over the period 1990 to 2007, for instance, meat and milk food consumption in Africa have increased by 2.9 and 3.0 percent per year (+5,861 MT and +14,962 MT respectively), and similar rates of growth are anticipated in the next decades for all meat and dairy products. For example, according to the OECD-FAO Agricultural Outlook 2009-2018, total consumption of beef in Africa will increase annually by 2.4 percent in 2009-2018 (2.34 for sub-Saharan Africa)

[2]For instance, the overall number of full-time jobs created per 100 liters of milk traded vary from 3.7 in Kenya to over 17 in Ghana (Omore, 2002); in Burkina Faso, traditional livestock marketing channels are estimated to provide employment for about 60,000 full-time workers (FAO/CDI, 2003).

[3]It is not possible to identify quantitative parameters to define small livestock farmers, as the profitability of livestock farming is not only dependent on household assets and skills but also on the context in which the household operates, which differs from country to country and, within country, from regions to regions.

Fig.2. Per capita beef consumption in SSA, Niger, Tanzania and Uganda - 2000, 2015 and 2030

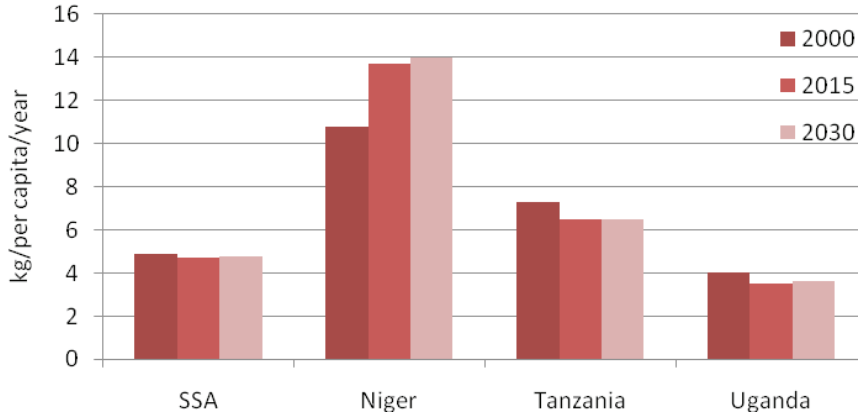


Fig.3. Per capita milk consumption in SSA, Niger, Tanzania and Uganda - 2000, 2015 and 2030

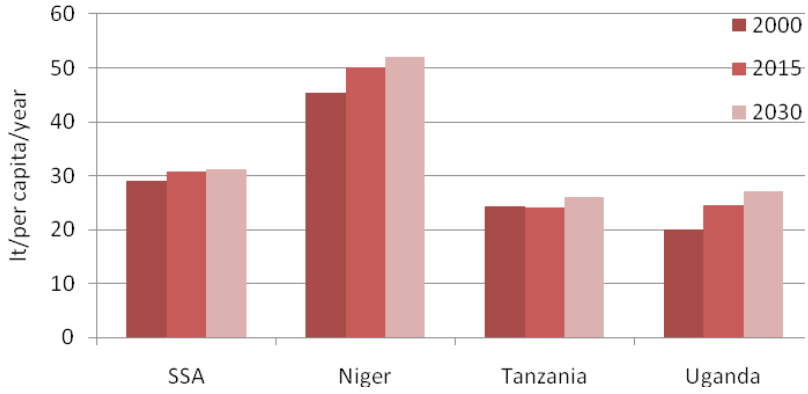


Fig.4. Per capita goat & sheep consumption in SSA, Niger, Tanzania and Uganda - 2000, 2015 and 2030

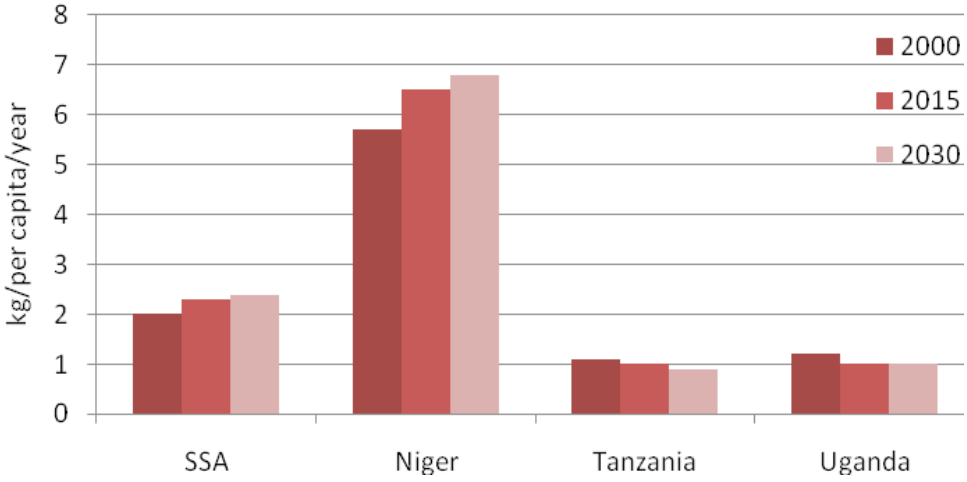
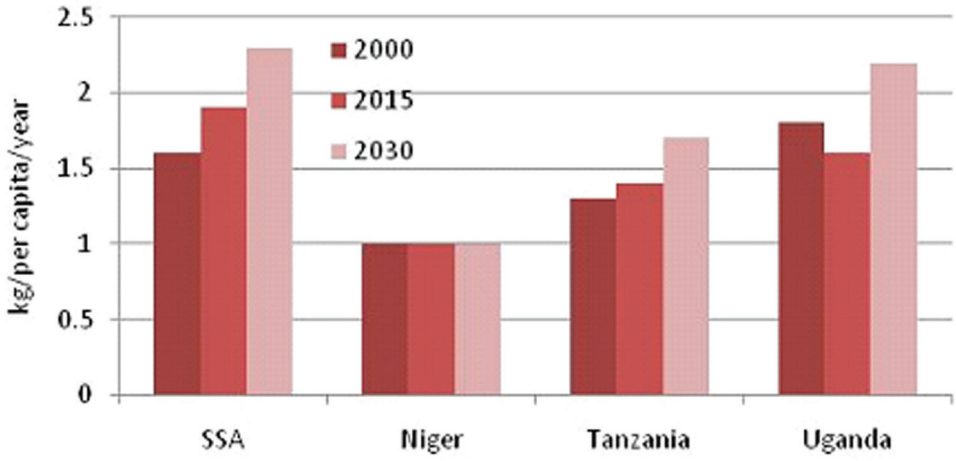


Fig.5. Per capita poultry consumption in SSA, Niger, Tanzania and Uganda - 2000, 2015 and 2030



Source: FAO Global Studies Perspective Unit. Courtesy J. Bruinsma

and that of whole milk by 4.0 percent per year (4.1 for sub-Saharan Africa) (FAO, 2011; OECD-FAO, 2009).

The anticipated growth in the demand for animal products food, however, seems to be primarily driven by population growth – rather than urbanization or gains in real per capita income – as the per-capita consumption for livestock products is estimated to marginally increase in absolute terms in the next coming decades. In SSA as a whole, for instance, beef, milk, goat & sheep meat and poultry per-capita consumption will increase by - 0.1, 2.2, 0.4 and 0.7 kg, respectively over the period 2000-2030, according to data provided by FAO (see Fig. 2 to Fig 5).

In the coming years, majority of African consumers will, therefore, continue to demand relatively low-value minimally processed food items, as the average per-capita income will not allow the typical household to shift his consumption towards high-value livestock products which satisfy high-income countries' safety and quality attributes[1]. This represents a good opportunity to improve the incomes and livelihoods of small livestock producers (and other actors along the value chain) who, in the short to medium term, are not in a position to provide food items satisfying stringent quality and safety standards, such as those of OECD countries.

Supply of Animal Products

Increases in consumption of animal food have been so far satisfied by national production as well as by increased imports. However, African livestock farmers have increased their supply of animal food mainly through expanding herd size rather than through enhancing efficiency (productivity). For example, over the period 1990 to 2009, about 96 percent of the increased beef supply could be explained by increased stock numbers; the proportion is 82 percent for milk; 89 percent for poultry, and 98 percent for sheep and goat meat. In the same periods, net imports of meat and milk have grown from 379 to 1,442 MT and from 4,127 to 5,763 MT respectively (FAOSTAT, 2011).

Estimates also indicate that between 2000 and 2030 African livestock producers will be increasingly unable to satisfy the growing demand for animal food, with the net trade balance for both meat and dairy

[4]For example, in Kenya, where supermarkets have penetrated the market more than in any other sub-Saharan African country (with the exception of South Africa and, perhaps, Zambia), supermarkets are selling high quality food stuff held worth less than 2 percent of the national urban fresh produce market in late 2003. To reach a 10 percent market share in 10 years, they should grow 22 percent per year in real terms (Tschirley et al. 2004a, 2004b).

Fig.6. Production and net import of meat (MT) in SSA 2000, 2015 and 2030

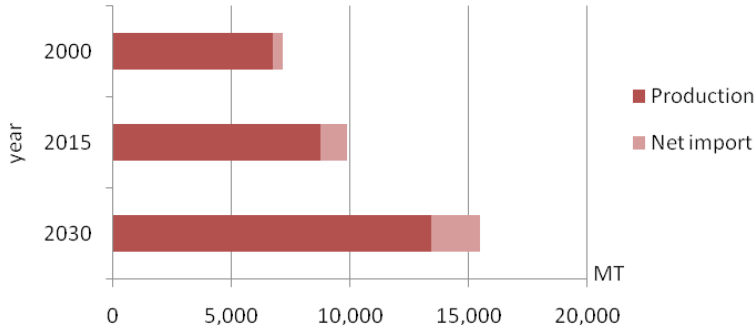
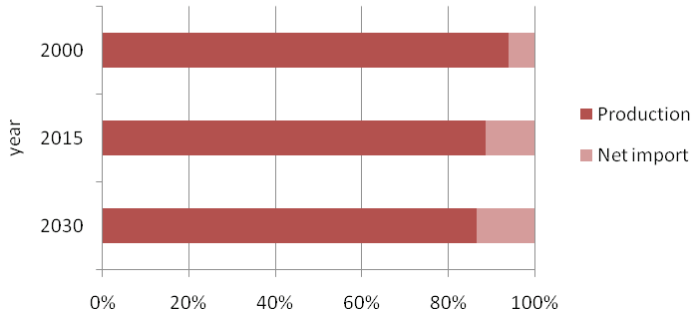


Fig. 7. Production and net import of meat (%) in SSA 2000, 2015 and 2030



products worsening over time, increasing the outflow of domestic currencies. Intra-regional trade, in fact, accounts for less than 10 percent of African trade because, to a large extent, people in sub-Saharan Africa live in the interior of the continent and face high transport costs in shipping goods between the inland and coastal areas. As a result, that trade is mainly between the coast and non-African countries[1] (Sachs *et al.,* 2004; UNCTAD, 2009). Moreover due to, difficulties in complying with international sanitary and phitosanitary standard requirements, few African countries are net exporters of live animals and livestock products internationally.

Small livestock producers and intra-regional trade as key drivers of livestock sector growth

[5]People in sub-Saharan African tend to live away from the coast for several reasons: first, the soils are often more fertile and rainfall more plentiful in the interior highland regions than in coastal areas; second, the incidence of diseases, including human, animal and plant diseases, is intrinsically lower in the interior; finally, centuries of slave trade have favoured settlements in the interior rather than near the coast (Sachs et al., 2004).

The above review suggests that a twin-track strategy targeting small livestock producers and favouring intra-regional trade of livestock and livestock products represents a promising way to support livestock sector development, while at the same time promoting economic growth and reducing poverty levels.

Targeted public and private investments to assist small livestock producers in enhancing their productivity by tapping into their resources and entrepreneurial skills will favour (i) larger supply of affordable animal source foods (which translates in gains in real per capita income of population), (ii) employment generation along the value chain, and (iii) labour market growth in non-livestock sectors. Investments should attempt to remove the most binding constraints which prevent livestock producers from being efficient and generating surpluses of meat and dairy products (e.g. animal diseases and

limited access to feed and water for animals) that meet the quality and safety standards demanded by African consumers, which are different from the SPS standards necessary to export in industrialized food markets. At the same time, investments that support marginal livestock keepers should not be disregarded, but aim at reducing vulnerability and increasing food security rather than at supporting a sustainable, market driven growth of livestock.

Livestock farmers have incentives to increase livestock production and productivity only when they have access to remunerative markets. Given that only 15 out of 53 countries in Africa have a population of over 20 million, and 28 countries have a population of less than 10 million people (FAOSTAT, 2011), most countries do not have sufficiently large internal markets to develop their own livestock industries The development of intra-regional African markets is thus a pre-condition for supporting the development of the livestock sector and, in many circumstances, areas and countries which have some comparative advantage in livestock production, such as arid and semi-arid areas, are not densely populated, whilst demand hotpots for livestock products are located in areas where livestock production is not easily feasible, such as in humid and sub-humid coastal areas. For example, Southern COMESA countries have comparative advantages in growing fruits and vegetables vis-à-vis Northern COMESA countries, which instead have comparative advantages in livestock production (Dimaran *et al.,* 2009); Analysis of the physical trade flows in the West Africa shows interdependence between the Sahelian countries and those of the coast: cereals and starchy products move northwards from the coastal countries, while

Fig.8. Production and net import of milk (MT) in SSA 2000, 2015 and 2030

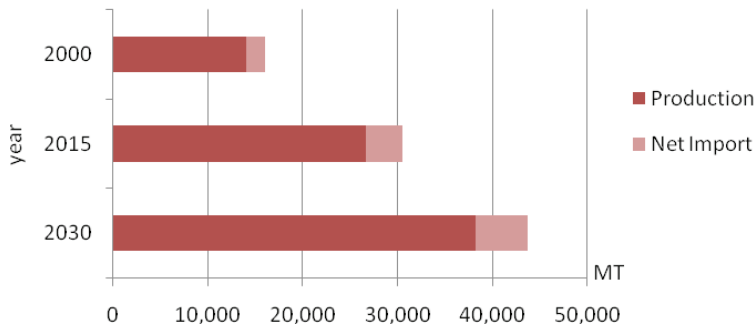
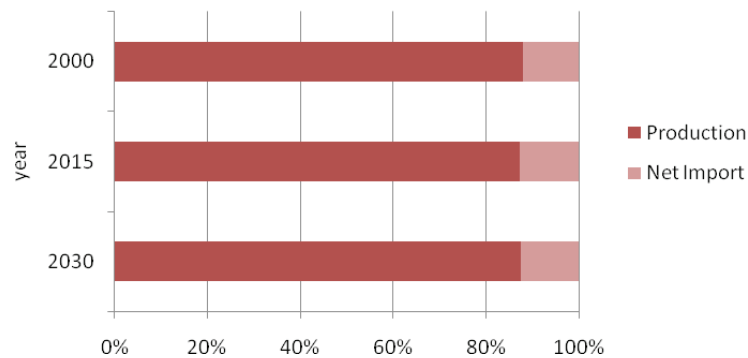


Fig. 9. Production and net import of milk (%) in SSA 2000, 2015 and 2030



of animal products move in the opposite direction (OECD, 2008).

Conclusions

Livestock sector development can contribute to economic growth and poverty reduction in Africa, as macroeconomic and microeconomic evidence shows. At the same time, both supply side and demand side factors currently provide good opportunities for sector growth. Targeted public and private sector investments are needed to fully exploit the potential of the livestock sector to support economic development, which should focus on small livestock producers, those who are able to establish remunerative livestock enterprises, supply affordably priced animal food to a growing (urban) population, and generate employment opportunities along the value chain for others. At the same time, facilitating intra-regional trade based on the comparative advantages of African countries and Regional Economic Communities is necessary to create remunerative and sizeable markets for livestock producers and match animal food supply and demand, which ensures a market-driven and sustainable development of the livestock sector.

References

Abdulai A and CroleRees A. (2001) Determinants of income diversification amongst rural households in Southern Mali. Food Policy, 26(4): 437-452.

Adams R H. (2002) Non-Farm Income, Land and Inequality in Rural Egypt. Economic Development and Cultural Change, 50(2): 339-363.

Babatunde R O. (2008) Income Inequality in Rural Nigeria: Evidence from Farming Households Survey Data. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences,* 2(1): 134-140

Behnke R. (2010) The Contribution of Livestock to GDP in the IGAD Member States. IGAD-LPI Working Paper 02-10, IGAD-LPI, Addis Ababa.

Bekure, S. (1983) Household income and expenditure studies. Paper presented at the IDRC/ILCA Workshop on 'Pastoral Systems Research in sub-Saharan Africa', ILCA, Addis Ababa.

Bhagwati J. (1958) Immiserizing Growth: A Geometrical Note. Review of Economic Studies, 25(3): 201-205.

Dimaranan B, Mevel S, Bouet A, Nzuma M J, Gbegbelegbe S and Karugia J T. (2009) A quantitative assessment of the COMESA customs union. ReSAKSS Working Paper No. 30. IFPRI, Washington, DC.

Ellis F and Mdoe N. (2003) Rural Livelihoods and Poverty Reduction in Tanzania. World Development (31)8: 1367-1384.

Ellis F and Bahiigwa G. (2003) Rural Livelihoods and Poverty Reduction in Uganda. World Development, 31(6): 997-1013.

FAO (in press) Linking Livestock Sector Development and Poverty Reduction: An Economic and Policy Perspective. FAO, Rome.

FAOSTAT (2011) www.faostat.fao.org. Accessed 14 February 2011.

FAO/CDI (2003) Initiative élevage pauvreté et croissance, Burkina Faso. Unpublished document.

ILO (2011) www.laborsta.ilo.org. Accessed 14 February 2011.

ILRI (2002) Mapping Poverty and Livestock in the Developing World. ILRI, Nairobi.

Karugia J T, Oluoch-Kosura W, Nyikal R, Odumbe M and Marenya P P. (2006) Access to Land, Income Diversification and Poverty Reduction in Rural Kenya. Paper delivered at the International Association of Agricultural Economists Conference, Gold Coast, Australia, August 12-18.

Kazybayeva S, Otte J and Roland-Holst D. (2006) Livestock Production and Household Income Patterns in Rural Senegal. PPLPI Research Report 06-13, FAO, Rome.

Kherallah M, Minot N, Kachule R, Soule B G and Berry P. (2001) Impact of Agricultural Market Reforms on Smallholder Farmers in Benin and Malawi. Final Report. Project Number 97.7860.6-001.00, IFPRI, Washington D.C.

Minot N, Chemingui M A, Thomas M, Dewina R and Order D. (2009) Trade Liberalization and Poverty in the Middle East and North Africa. IFPRI, Washington D.C.

Moll H A J. (2005) Costs and benefits of livestock systems and the role of market and nonmarket relationships. Agricultural Economics, 32(2): 181-193.

Nega F, Marysse S, Tollens E and Mathijs E. (2009) Diversification, Income Inequality and Social Capital in Northern Ethiopia. Paper delivered at the 'Taking Action for the World's Poor and Hungry People' Conference, Beijing, 17-19 October.

OCED (2008) Livestock and regional market in the Sahel and West Africa. Potentials and challenges. OECD, Paris.

OECD-FAO (2009) Agricultural Outlook 2009-2018. OECD, Paris and FAO, Rome.

Panin A. (1996) Profitability and income contribution of small ruminant production to rural African households: A case study of Kgatleng and Kweneng districts of Botswana. In S.H.B. Lebbie and E. Kagwini (eds.) Small Ruminant Research and Development in Africa. ILRI, Nairobi.

Pica G, Pica-Ciamarra U and Otte J. (2008) The Livestock Sector in the World Development Report 2008. Re-assessing the Policy Priorities. PPLPI Research Report No. 08-07, FAO, Rome.

Pica-Ciamarra U, Tasciotti L, Otte J and Zezza A. (2011) Livestock assets, livestock income and rural households Evidence from household surveys. FAO, unpublished paper.

Russo S L. (1990) The use of crop residues for livestock feed by small farmers in the Gambia. In B.H. Dzowela, A.N. Said, A. Wendem-Agenehu and J.A. Kategile (eds.) Utilization of research results on forage and agricultural by-product materials as animal feed resources in Africa. PANESA/ARNAB, Addis Ababa.

Sachs J D, McArthur J W, Schmidt-Traub G, Kruk M, Bahadur C, Faye M and McCord G. (2004) Ending Africa's Poverty Trap. Brookings Papers on Economic Activity, 35(1): 117-240.

Swift J. (1982) Les systèmes de production pastoraux au Mali. First draft. ILCA, Addis Ababa.

Tiffin R and Irz X. (2006) Is agriculture the engine of growth? Agricultural Economics, 35(1): 79-89.
Tschirley D L and Weber M T. (1994) Food Security Strategies Under Extremely Adverse Conditions: The Determinants of Household Income and Consumption in Rural Mozambique. World Development, 22(2): 159-173.

Tschirley D, Ayieko M, Mathenge M and Weber M T. (2004a) Where Do Consumers in Nairobi Purchase Their Food and Why Does this Matter? The Need for Investment to Improve Kenya's 'Traditional' Food Marketing System. Tegemeo Institute Of Agricultural Policy and Development, Policy Brief, Egerton University.

Tschirley D, Muendo K M and Weber M T. (2004b) Improving Kenya's Domestic Horticultural Production and Marketing System: Current Competitiveness, Forces of Change, and Challenges for the Future. Tegemeo Institute Of Agricultural Policy and Development, Working Paper 8B, Egerton University.

UNCTAD (2009) Development in Africa. Strengthening Regional Economic Integration for Africa's Development. UNCTAD, Geneva.

Upton M and Otte J. (2004) Pro-poor Livestock Sector Policies: Which Poor to Target? PPLPI Research Report 04-02, FAO, Rome.

World Bank (2011) www.dataworkdbank.org. Accessed 14 February 2011

Wouterse F and Taylor J E. (2008) Migration and Income Diversification. Evidence from Burkina Faso. World Development, 36(4): 625-640.

BULLETIN OF ANIMAL HEALTH AND PRODUCTION IN AFRICA

Editor in Chief
Prof. Ahmed Elsawalhy

Editor
Dr. Simplice Nouala

Members of the editorial Board

Prof. Magdi Khalifa

Dr. Jean-Marcel MANDENG

Dr. N'Guetta Austin Bosso

Prof. Adel Azeem Mahmoud Fayed

Prof. Mohamed Mohamed Fouda

Prof. Timothy Uzochukwu Obi

Prof. Paul Kanyari

Prof. Charles Gachuiri

Dr. Phillip Kitala

Prof. Charles Mulei

Prof. Reuben Oyoo Mosi

Prof. Omry Abuargob

Prof. Osama Rajeb Elwaer

Prof. Lamido T. Zarai

Prof. Paul Ayuba Abdu

Prof. Ayayi Justin Ayi-Akakpo

Prof. Serge Niangoran Bakou

Dr. Sendros Demeke Mulugueta

Dr. Marion Young

Dr. Medhat El-Helepi

Dr. Felix Haazele

AFRICAN UNION - INTERAFRICAN BUREAU FOR ANIMAL RESOURCES (AU-IBAR)

Bulletin of Animal Health and Production in Africa
Guide for Preparation of Papers
Notes to Authors

The Editor in Chief
September 2011

Preamble

The Bulletin of Animal Health and Production in Africa (BAHPA) of the African Union Interafrican Bureau for Animal Resources (AU-IBAR) is a scientific journal which publishes articles on research relevant to animal health and production including wildlife and fisheries contributing to the human wellbeing, food security, poverty alleviation and sustainable development in Africa. The bulletin disseminates technical recommendations on animal health and production to stakeholders, including policy makers, researchers and scientists in member states.

Aims and scope

The Bulletin of Animal Health and Production publishes articles on original research on all aspects of animal health and production, biotechnology and socio-economic disciplines that may lead to the improvement animal resources. Readers can expect a range of papers covering well-structured field studies, manipulative experiments, analytical and modeling studies of the livestock industry in Africa and to better utilization of animal genetic resources.

The BAHPA encourages submission of papers on all major themes of animal health and production, wildlife management and conservation, including:

- Veterinary microbiology, epidemiology
- Marketing, Economics
- Infectious and non infectious disease
- Parasitology
- Genetic improvement and Biotechnology
- Animal production, nutrition and welfare
- Science and policy in animal health and production
- All aspects of honey bees, especially their social behavior, foraging and use of social and solitary bees for crop pollination activities
- Developments in beekeeping equipment and techniques
- Conservation biology:
- Global change and wildlife management
- Diseases and their impacts on wildlife populations
- Wildlife management in urban and agricultural environments
- Climate change impacts on animal resources in Africa
- Fisheries, aquatic fishery

Language

The language of submission should be either in English or French. The abstract is translated to the other three languages of the African Union , by the editors, after acceptance.

To be considered for publication in the BAHPA, any given manuscript must satisfy the following criteria:

- Originality. BAHPA does not accept manuscripts that have already been published elsewhere. However, studies that replicate results that are already in the literature may be considered for publication, as the independent confirmation of results can often be valuable, as can the presentation of a new dataset.
- Audience. Manuscripts submitted must be of broad interest to animal health and production professionals in general, they must capture and holds readers' attention.
- Usefulness. Manuscripts submitted must help researchers, trainers, educators and policy makers in all regions of Africa improve their effectiveness.
- Rigorous methodology. Manuscripts submitted must be based on valid and reliable information, documentation or sound concepts, empirically, logically and theoretically supported.
- Well written to ensure clear and effective presentation of the work and key findings. The BAHPA editorial staff does not copyedit the text of accepted manuscripts, it is therefore important for the work, as presented, to be intelligible. Perfect, stylish language is not essential but it must be clear and unambiguous. If the language of a paper is not clear, Academic Editors should recommend that authors seek independent editorial help before submission of a revision. Poor presentation and language is a justifiable reason for rejection.
- Experiments, statistics, and other analyses performed are described in sufficient detail. The research must have been performed to a technical standard to allow robust conclusions to be drawn from the data. Methods and reagents must also be described in sufficient detail so that another researcher is able to reproduce the experiments described Conclusions are presented in an appropriate fashion and are supported by the data. The results must be interpreted appropriately, such that all conclusions are justified. However, authors may discuss possible explanations for their results as long as these are clearly identified as speculations or hypotheses, rather than as firm conclusions. Inappropriate interpretation of results is a justifiable reason for rejection.
- The research meets all applicable standards for the ethics of experimentation and research integrity. Research to be published must have been conducted to the highest ethical standards. A brief description of the most common of these is described in our Editorial and Publishing Policies.

Manuscripts Submission

Authors are invited to submit electronically their manuscripts via attachment only at bahpa@au-ibar.org (The use of an email submission speeds up the decision-making process, enables immediate distribution and allows authors to track the status of their own manuscripts) to the editor in a secured PDF and word format. Manuscript can be sent by post in case of unavailability of internet services (authors should be aware that in this case it will take longer time to be published).

Authors submitting articles to the BAHPA must follow the guidelines in this document. Submissions that deviate from these guidelines will be returned to the corresponding authors for changes and compliance. Your attention to and compliance with the terms and conditions described in the Authors Guidelines document is greatly appreciated! Adherence will increase the likelihood that your submission will be favorably reviewed, and will make the work of everyone involved – you, your reviewers, and your editors – easier.

- Because the guidelines are updated as appropriate, authors should check them again before they submit their articles. Manuscripts submitted for publication will be considered for acceptance on the understanding that they present original work which has not been published or submitted for publication elsewhere and that they are subject to peer review.

Types of contribution

Full papers providing accounts of original work: Research containing significant new findings. The material presented should be original and not have been published elsewhere, except in a preliminary form. Papers will be reviewed by three referees familiar with the subject matter of the paper. Revisions are likely to be expected.
Short Communications: are intended to provide quick

Publication of highly relevant and interesting information. Manuscripts will be peer reviewed by two reviewers and the Editor.
Review Articles: should cover subjects falling within the scope of the bulletin, which are of active current interest. Papers need not contain original work or ideas. They will be reviewed for completeness, accuracy, style and suitability of content by referees familiar with the subject and the Editor-in-Chief. Revisions may be requested.

Editorial: articles are short articles describing news about the bulletin or the opinion of the editor-in-chief, the publisher or a guest editor of a thematic series.

Letters to the Editor: the bulletin welcomes letters to the editor. The purpose of Letters to the Editor is to provide a forum for positive and constructive views on articles and matters published in the bulletin. Letters to the Editor must not exceed 300 words. Letters to the editors include technical reports from countries or projects.

Key notes: The editor will, from time, invite selected key figures in the field of animal health and production for key notes on specific topics. These invited papers are not subject to revision.

Book Reviews: are accepted and should provide an overview of the work's contents and a critique of the work's value. Book reviews should be limited to 1000 words.

Conference Proceedings: Special Issues of the bulletin may be dedicated to publication of proceedings of key meetings/ conferences

News and announcements: BAHPA is pleased to publish information on animal health and production activities/meetings. Please send the following information to the Editor: Date of the event, title, organization offering the event, location and contact information. Please allow 3 months for the listing to be published.

Submission Guidelines

All manuscripts submitted to BAHPA should include the following features:

1. On page one of the manuscript, the following should be clearly written/inserted: the corresponding author, name of the institution, place where the work was carried out, title of the manuscript, names of the authors, the addresses of the authors and the e-mail address of the corresponding author. The corresponding author should ensure that all the other authors consent to their names being included. The consent should be sent directly by co-authors to the editor via email.
2. Each original article should be divided into Abstract and Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and References.
3. Title, which should be concise, preferably not more than 15 words long, followed by the author(s) name(s) and institution(s) to which work should be attributed and address for correspondence, if different.
4. The Abstract should not be longer than 300 words giving a synopsis of the findings presented and the conclusion(s) reached. Up to six keywords should be provided. The abstract should contain the objectives, brief description of materials and methods, highlights of significant results, conclusions and recommendations.
5. The Introduction should contain the problem statement, the hypothesis and the objective of the work and cite recent important work undertaken by others.
6. Materials and Methods should describe materials, methods, apparatus, experimental procedure and statistical methods (experimental design, data collection and data analysis) in sufficient detail to allow other authors to reproduce the results. This part may have subheadings. The experimental methods and treatments applied shall conform to the most recent guidelines on the animal's treatment and care. For manuscripts that report complex statistics, the Editor recommends statistical consultation (or at least expertise); a biostatistician may review such manuscripts during the review process. Identify the statistical tests used to analyze the data. Indicate the prospectively determined P value that was taken to indicate a significant difference. Cite only textbook and published article references to support your choices of tests. Identify any statistics software used.
7. Results or experimental data should be presented clearly and concisely, in a non-repetitive way. Subheadings may be accepted
8. Discussion of significance should be focused on the interpretation of experimental findings. Subheadings are not accepted in this section
9. State the conclusions, theories, implications, recommendations that may be drawn from the study.
10. Provide a paragraph of around 100 words only, explaining the importance of the manuscript's findings for a non-specialist audience. These points will be published at the end of the article in a box entitled 'Impact'.
11. Short Communications: Manuscripts should contain original data and be limited to 1500 words. The number of tables and figures are limited to two. A limited number of references should be included. Headings are not allowed in short communications.

Sequence of Preparation

1. The data files must be PC/Windows-compatible. The text should be prepared using standard software (Microsoft Word) format; do not use automated or manual hyphenation. Please do not include footnotes.
2. Use Times New Roman 12 point font for all text except for tables and figures where Times New Roman 10 font should be used.
3. Use 1 inch margins on top, bottom, left and right margins,
4. Every line on the text should be numbered.
5. Use double space lines spacing for body of text. For Abstract, Figures, Tables and References use single line spacing.
6. Place page numbers in the lower right hand corner of your manuscript.
7. Run "the spell check" and "grammar check" on the entire file before submission.
8. Avoid using abbreviations for the names of concepts. Use ordinary words for variable names – not code names or other abbreviations. Use the same name for a variable throughout your text, tables, figures and appendices. Names of organizations and research instruments may be abbreviated, but give the full name (with abbreviation in brackets) the first time you mention one of these.
9. Acknowledgements of grants and technical help should not be included in the text but at the end after the paragraph Conclusion. Acknowledgements: Under Acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited. Please also include specifications of the source of funding for the study and any potential conflict of interests if appropriate. Suppliers of materials should be named and their location (town, state/county, country) included.
10. References should take the following form: In the text, a reference identified by means of an author's name should be followed by the date of the reference in parentheses. When there are more than two authors, only the first author's name should be mentioned, followed by 'et al'. In the event that an author cited has had two or more works published during the same year, the reference, both in the text and in the reference list, should be identified by a lower case letter like 'a' and 'b' after the date to distinguish the works. Examples: Abayomi (2000), Agindotan et al. (2003), (Kelebeni, 1983), (Usman and Smith, 1992), (Chege, 1998; Chukwura, 1987a,b; Tijani, 1993,1995), (Kumasi et al., 2001)

Please ensure that references in the text exactly match those in the manuscript's reference list. Check each reference in the text to see that you have the complete citation in the reference section of the paper in the desired style. In the references section, references are listed in alphabetical order.

Examples of References

- Journal Articles: Ouyang D, Bartholic J, Selegean J, 2005. Assessing sediment loading from agricultural croplands in the Great Lakes basin. Journal of American Science, 1(2): 14-21.
- Books: Durbin R, Eddy SR, Krogh A, Mitchison G, 1999.

Biological Sequence Analysis: Probabilistic Models of Proteins and Nucleic Acids. London, Cambridge University Press.

- Chapter in a Book: Leach J, 1993. Impacts of the Zebra Mussel (Dreissena polymorpha) on water quality and fish spawning reefs of Western Lake Erie. In Zebra Mussels: Biology, Impacts and Control, Eds., Nalepa T, Schloesser D, Ann Arbor, MI: Lewis Publishers, pp: 381-397.
- Reports: Makarewicz JC, Lewis T, Bertram P, 1995. Epilimnetic phytoplankton and zooplankton biomass and species composition in Lake Michigan, 1983-1992. US EPA Great Lakes National Program, Chicago, IL. EPA 905-R-95-009.
- Conference Proceedings: Stock A, 2004. Signal Transduction in Bacteria. In the Proceedings of the 2004 Markey Scholars Conference, pp: 80-89.
- Thesis: Strunk JL, 1991. The extraction of mercury from sediment and the geochemical partitioning of mercury in sediments from Lake Superior, Unpublished PhD thesis, Michigan State University, East Lansing, MI.
- Web links: Cerón-Muñoz M F, Tonhati H, Costa C N, Rojas-Sarmiento D and Solarte Portilla C 2004 Variance heterogeneity for milk yield in Brazilian and Colombian Holstein herds. Livestock Research for Rural Development. Volume 16, Article #20 Visited June 1, 2005, from http://www.lrrd.org/lrrd16/4/cero16020.htm

Illustrations
Please send the figures as separate files and do not import them into the text file. Put all tables, figures, diagrams and artwork on separate pages. Each figure, table, and bibliographic entry must have a reference in the text. References to tables and figures in the text should be by number and not to "table below" or "figure below". The Editor will place them in the appropriate place in the text of article during the final edit. Tables and figures should be numbered consecutively. Please submit the data for figures in black and white.
Abbreviations, Symbols and Nomenclature

All specifications must be stated according to the S.I. system. Concentrations of chemical solutions are to be given in mol/l. All other concentrations should be given in % (volume or weight). Any abbreviations of chemical, biological, medical or other terms should only be employed when it is certain that they are internationally known. The full name must be stated in brackets when the abbreviation is first used. Names of micro-organisms and zoological names will be printed in italics and should be underlined in the manuscript.

Ethical guidelines
BAHPA adheres to the below ethical guidelines for publication and research. Experimentation will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles. Manuscripts containing experimentations must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. Editors reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

1. When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort.
2. All studies using animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

Revising your article
When you submit a revised version of your article in response to the referees' comments, you must accompany it with a detailed list of the changes made (ignoring typographical errors, but mentioning additional paragraphs, changes to figures, etc) suitable for transmission to the referee. Where changes have been made in response to the referees' remarks it is important to mention this and indicate where they can be found. You may also wish to send in a second copy of your article with the changes marked or underlined.

You should go through the referees' comments and for each comment mention whether you followed their suggestion or whether you disagree and wish to respond to the comment. If a referee has misunderstood a point, it is not necessarily their fault and may have been caused by ambiguity or lack of clarity in your article which needs to be corrected. Some authors copy out each of the referees' comments in turn and include their response immediately after. In other cases responses can be made referring back to the reports. Finally, please make sure that you send your revised article to us and not simply the original version again. This is a common mistake, especially when authors send in their work electronically. Electronic revised articles should contain all text and graphics files needed to generate the revised version, and not just those files that have changed.

By observing these guidelines you will be assisting the referees, who give up their time to review manuscripts. If you prepare your article carefully, this can save valuable time during the publication process.

Appeal of Decision
Authors who wish to appeal the decision on their submitted paper may do so by e-mailing the editorial office with a detailed explanation for why they find reasons to appeal the decision.

Proofs
One set of proofs will be sent to the author to be checked for printer's errors and should be returned within three days.

Offprints
25 offprints of each article will be supplied free of charge. Additional offprints may be ordered and paid for at the proof stage. Each extra offprint costs US $5.00.

Subscriptions
The annual subscription fee, including postage (surface mail) and handling is USD 100.00. Air mail charges are available upon request.

Back volumes
Back issues are also obtainable upon request at similar charges

Desktop Publisher
Mr. Fahim Franz Kremeier