

# ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2008 - Thèse n°008



## La besnoitiose bovine : étude épidémiologique de l'épizootie des Alpes-de-Haute-Provence et des Hautes-Alpes

### THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 18 janvier 2008  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

**FREUDIGER Isabelle**  
Né le 19 mai 1982  
à Paris





**DEPARTEMENT ET CORPS ENSEIGNANT DE L'ENVL**  
**Directeur : Stéphane MARTINOT**

Mise à jour : 14/12/2007

	PR EX	PR 1	PR 2	MC	Contractuel, Associé, IPAC et ISPV	AERC	Chargés de consultations et d'enseignement
<b>DEPARTEMENT SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE</b>							
Microbiologie, Immunologie, Pathologie Générale	Y. RICHARD		A. KODJO	V. GUERIN-FAUBLEE D. GREZEL			
Pathologie infectieuse			A. LACHERETZ M. ARTOIS	J. VIALARD			
Parasitologie et Maladies Parasitaires	MC. CHAUVE	G. BOURDOISEAU		MP. CALLAIT CARDINAL L. ZENNER			
Qualité et Sécurité des Aliments			P. DEMONT	A. GONTHIER			
Législation et Jurisprudence			C. VERNOZY	S. COLARDELLE			
Bio-informatique - Bio-statistique			A. LACHERETZ	D. SERGENTET (stagiaire)			
<b>DEPARTEMENT ANIMAUX DE COMPAGNIE</b>				P. SABATIER ML. DELIGNETTE K. CHALVET-MONFRAY			
Anatomie							
Chirurgie et Anesthésiologie		JP. GENEVOIS	T. ROGER D. FAU E. VIGUIER D. REMY	S. SAWAYA C. CAROZZO	C. BOULOCHER S. JUNOT (MCC) K. PORTIER (MCC)		
Anatomie-pathologique/Dermatologie-Cancérologie			C. FLEURY	T. MARCHAL	P. BELLI D. PIN		
Hématologie		C. FOURNEL			D. WATRELOT-VIRIEUX (MCC)		
Médecine interne		JL. CADORE	L. CHABANNE	F. PONCE M. HUGONNARD C. ESCRIOU	I. BUBLOT		
Imagerie Médicale					F. RIGOUT-PAULIK		
<b>DEPARTEMENT PRODUCTIONS ANIMALES</b>							
Zootéchnie, Ethologie et Economie Rurale		M. FRANCK		L. MOUNIER	L. COMMUN		
Nutrition et Alimentation				D. GRANCHER L. ALVES DE OLIVEIRA G. EGRON			
Biologie et Pathologie de Reproduction		F. BADINAND	M. RACHAIL-BRETIN P. GUERIN	S. BUFF	A. C. LEFRANC		
Pathologie Animaux de Production	P. BEZILLE		T. ALOGNINOIWA	R. FRIKHA M.A. ARCANGIOLI D. LE GRAND		G. LESOBRE P. DEBARNOT D. LAURENT P. OTZ	
<b>DEPARTEMENT SCIENCES BIOLOGIQUES</b>							
Physiologie/Thérapeutique			J.M. BONNET-GARIN	J.J. THIEBAULT			
Biophysique/Biochimie		E. BENOIT F. GARNIER		T. BURONFOSSE			
Génétique et Biologie moléculaire			F. GRAIN	V. LAMBERT			
Pharmacie/Toxicologie Législation du Médicament		G. KECK	P. JAUSSAUD P. BERNY	C. PROUILLAC (stagiaire)			
Langues					T. AVISON		
<b>DEPARTEMENT HIPPIQUE</b>							
Pathologie équine		JL. CADORE		A. BENAMOU-SMITH			
Clinique équine		O. LEPAGE		A. LEBLOND	M. GANGL		



**A Monsieur le Professeur PEYRON**

de la Faculté de Médecine de Lyon,  
qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.  
Hommages respectueux.

**A Monsieur le Professeur ZENNER**

de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon,  
qui a accepté de nous encadrer dans ce travail de thèse.  
Tous nos remerciements.

**A Madame le Professeur CHALVET-MONFRAY**

de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon,  
qui nous a éclairé sur les mystères des statistiques.  
Sincères remerciements.

**A Monsieur le Professeur PIN**

de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon,  
pour le temps qu'il nous a consacré.  
Sincères remerciements.



**A mes parents et ma famille**  
**A mes amis**  
**A Jean-Baptiste...**



# Table des matières

## Première partie: Etude bibliographique de la besnoitiose bovine

### I. Présentation générale de la besnoitiose bovine

- A. Définition et synonymie
- B. Importance
- C. Historique

### II. Le parasite

- A. Systématique
- B. Morphologie
  - 1. Les bradyzoïtes
  - 2. Les tachyzoïtes
  - 3. Les kystes
  - 4. Fonctionnalité et structure moléculaire
- C. Cycle parasitaire
  - 1. Cycle chez l'hôte définitif
  - 2. Cycle chez l'hôte intermédiaire

### III. Epidémiologie

- A. Epidémiologie descriptive
  - 1. Répartition géographique
  - 2. Espèces affectées
  - 3. Facteurs de variations
    - a) Variations saisonnières
    - b) Influence de la race, de l'âge et du sexe
- B. Epidémiologie analytique
  - 1. Maladie contagieuse
  - 2. Sources d'agent pathogène
  - 3. Modes de transmission
    - a) Cycle Félicés – Bovins – Arthropodes
    - b) Autres cycles

## **IV. Etude clinique**

### **A. Symptômes**

1. Période fébrile
2. Phase des oedèmes
3. Phase de sclérodermie
4. Troubles de la reproduction

### **B. Lésions**

1. Les lésions macroscopiques
2. Les lésions microscopiques

### **C. Pronostic**

## **V. Diagnostic**

### **A. Diagnostic épidémio - clinique**

### **B. Diagnostic différentiel**

1. Phase fébrile
2. Phase des oedèmes
3. Phase de sclérodermie

### **C. Diagnostic expérimental**

1. Mise en évidence directe du parasite
  - a) Raclage cutané
  - b) Technique du copeau
  - c) Histologie
  - d) Amplification génique
2. Méthodes sérologiques
  - a) Immunofluorescence indirecte
  - b) ELISA
  - c) Western blot

## **VI. Pathogénie et immunité**

### **A. Pathogénie**

### **B. Immunité**

## **VII. Méthodes de lutte**

### **A. Traitement**

1. Antibiotiques
2. Autres

### **B. Prophylaxie**

1. Prophylaxie médicale
2. Prophylaxie sanitaire

## **Deuxième partie: Etude épidémiologique de l'épizootie de besnoitiose bovine dans les départements des Alpes-de-Haute-Provence et des Hautes-Alpes**

### **I. Matériel et méthode**

- A. Population cible et période d'étude**
- B. Définition des cas**
- C. Récolte des données**
- D. Constitution d'échantillons de la population totale**
- E. Test statistique du Chi-deux**

### **II. Résultats**

- A. Epidémiologie descriptive**
  - 1. Situation en région PACA entre 2004 et 2007
  - 2. Incidence mensuelle des bovins malades
  - 3. Variations en fonction du sexe
  - 4. Variations en fonction de l'âge
    - a) **Chez les malades**
    - b) **Chez les porteurs de kystes**
  - 5. Variations en fonction de la race
  - 6. Variations en fonction du mode d'élevage
- B. Evolution dans l'espace et dans le temps**
  - 1. Evolution géographique
  - 2. Evolution dans le temps

### **III. Discussion**

- A. Matériel et méthode**
  - 1. Récolte des données
  - 2. Représentativité des échantillons
  - 3. Test du Chi-deux
- B. Facteurs de risque**
  - 1. La saison
  - 2. Le sexe
  - 3. L'âge
  - 4. La race
  - 5. Le mode d'élevage
- C. L'épizootie des Alpes-de-Haute-Provence et des Hautes-Alpes**
- D. Incertitudes liées à la besnoitiose bovine**
- E. Perspectives de travail**



## Annexe : liste des figures et des tableaux

### Figures :

<b>Figure n° 1 :</b>	Localisation des kystes à bradyzoïtes dans le derme, coloration hemalun-éosine (x 50)	p 26
<b>Figure n° 2 :</b>	Kystes à bradyzoïtes, coloration hemalun-éosine (x 400)	p 26
<b>Figure n° 3 :</b>	Schéma d'un kyste de <i>Besnoitia besnoiti</i>	p 26
<b>Figure n° 4 :</b>	Bradyzoïtes, coloration hemalun-éosine, (x 1000)	p 26
<b>Figure n° 5 :</b>	Cycle parasitaire de <i>Besnoitia besnoiti</i>	p 27
<b>Figure n° 6 :</b>	Localisation des foyers de besnoitiose bovine en France	p 29
<b>Figure n° 7 :</b>	Sources d'agents pathogènes	p 31
<b>Figure n° 8 :</b>	Cycle Félidés-Bovins-Arthropodes	p 32
<b>Figure n° 9 :</b>	Cycle Mammifères sauvages-Bovins	p 33
<b>Figure n° 10 :</b>	Cycle Mammifères sauvages-Rongeurs-Bovins	p 33
<b>Figure n° 11 :</b>	Œdème au niveau des membres	p 37
<b>Figure n° 12 :</b>	Epaississement et plissement généralisé de la peau	p 37
<b>Figure n° 13 :</b>	Dépilations et sclérodermie	p 37
<b>Figure n° 14 :</b>	Allongement et déformation des onglons	p 37
<b>Figure n° 15 :</b>	Kystes oculaires	p 38
<b>Figure n° 16 :</b>	Inflammation, épaissement et plissement du scrotum	p 38
<b>Figure n° 17 :</b>	Epaississement et fissures des mamelles	p 38
<b>Figure n° 18 :</b>	Nombreux kystes dans le tissu conjonctif sous cutané	p 41
<b>Figure n° 19 :</b>	Nœuds lymphatiques réactionnels	p 41
<b>Figure n° 20 :</b>	Foyers de dégénérescence testiculaires	p 41
<b>Figure n° 21 :</b>	Kystes dans un raclage cutané (x 100)	p 47
<b>Figure n° 22 :</b>	Principe de l'immunofluorescence indirecte pour la détection de <i>Besnoitia besnoiti</i>	p 49
<b>Figure n° 23 :</b>	Localisation de la région PACA	p 59
<b>Figure n° 24 :</b>	Zone d'échantillonnage	p 61
<b>Figure n° 25 :</b>	Prévalence globale de la besnoitiose en région PACA, entre avril 2004 et mars 2007	p 62
<b>Figure n° 26 :</b>	Répartition des malades et des porteurs de kystes observés sur le terrain entre avril 2004 et fin mars 2007	p 63
<b>Figure n° 27 :</b>	Incidence mensuelle des malades entre avril 2004 et mars 2007	p 63
<b>Figure n° 28 :</b>	Répartition des mâles et des femelles	p 64
<b>Figure n° 29 :</b>	Répartition des malades en fonction de l'âge	p 65
<b>Figure n° 30 :</b>	Répartition des malades chez les animaux de moins de 6 mois	p 65

<b>Figure n° 31 :</b>	Répartition des animaux porteurs de kystes en fonction de l'âge	p 65
<b>Figure n° 32 :</b>	Répartition des animaux en fonction des 3 classes de race	p 66
<b>Figure n° 33 :</b>	Répartition des animaux en fonction de la race	p 67
<b>Figure n° 34 :</b>	Répartition des exploitations atteintes de besnoitiose dans les Alpes-de-Haute-Provence (04) et les Hautes-Alpes (05)	p 69
<b>Figure n° 35 :</b>	Répartition des exploitations nouvellement atteintes de besnoitiose dans les Alpes-de-Haute-Provence (04) et les Hautes-Alpes (05)	p 70

## **Tableaux :**

<b>Tableau n° 1 :</b>	Synonymes	p 19
<b>Tableau n° 2 :</b>	Diagnostic différentiel de la besnoitiose bovine : Hypothèses probables	p 45
<b>Tableau n° 3 :</b>	Diagnostic différentiel de la besnoitiose bovine : Hypothèses peu probables	p 46
<b>Tableau n° 4 :</b>	Nombre d'exploitation et d'animaux présents dans les Hautes-Alpes et les Alpes-de-Haute-Provence	p 60
<b>Tableau n° 5 :</b>	Résultats des tests de Chi-2 réalisés sur la répartition des sexes	p 64
<b>Tableau n° 6 :</b>	Valeurs observées et valeurs attendues dans les 3 catégories de races	p 66
<b>Tableau n° 7 :</b>	Valeurs observées et valeurs attendues du nombre de bovins atteints dans les différentes races	p 67
<b>Tableau n° 8 :</b>	Nombre d'animaux des deux catégories de mode d'élevage	p 68
<b>Tableau n° 9 :</b>	Valeurs observées et valeurs attendues chez les malades durant la deuxième et la troisième période d'étude	p 71
<b>Tableau n° 10 :</b>	Valeurs observées et valeurs attendues chez les animaux porteurs de kystes durant la deuxième et la troisième période d'étude	p 71

# Introduction

La besnoitiose bovine, connue depuis l'Antiquité, a été décrite pour la première fois en 1912, après isolement du parasite dans les lésions cutanées par Besnoit et Robin. L'espèce *Besnoitia besnoiti* a été mise en évidence dans le sang de bovins en phase fébrile, seulement en 1954. Ce fut la première description morphologique du parasite et de l'histogénèse des kystes.

Le genre *Besnoitia* regroupe plusieurs espèces : *Besnoitia bennetti*, parasite des équidés, *Besnoitia tarandi*, parasite du Renne et du Caribou, *Besnoitia jellisoni*, parasite d'Opossums et de Cricétidés, *Besnoitia darlingi*, parasite d'Opossums et de Lézaridés et *Besnoitia wallacei*, parasite de muridés. Nous limiterons notre travail à l'étude de *Besnoitia besnoiti*, parasite des bovins en Europe, Afrique, Asie et Amérique du Sud.

Le cycle parasitaire de *Besnoitia besnoiti* fait intervenir un hôte intermédiaire et un hôte définitif. L'infestation de l'hôte intermédiaire, les bovins, se traduit par trois phases cliniques. Les deux premières s'expriment par des symptômes généraux non spécifiques et la troisième par des signes cutanés très caractéristiques, des troubles de la reproduction sont souvent associés, en particulier chez les mâles.

Jusque dans les années 1980 la maladie était limitée au sud-ouest de la France, depuis elle s'étend au sud d'une ligne imaginaire allant du nord-ouest à l'est du pays. De nouveaux cas dispersés apparaissent et des foyers endémiques s'installent.

Après avoir effectué un rappel des connaissances actuelles sur *Besnoitia besnoiti*, nous étudierons l'épidémiologie du foyer épizootique des départements des Alpes-de-Haute-Provence et des Hautes-Alpes.



**PREMIERE PARTIE :**  
**Etude bibliographique de la besnoitiose bovine**



# I. Présentation générale de la besnoitiose bovine

## A. Définition et synonymie

La besnoitiose bovine est une parasitose, jusqu'ici assez peu répandue en France, due à un protozoaire, *Besnoitia besnoiti*, responsable de la formation de kystes dans de nombreux tissus. Cette maladie affecte les bovins qui jouent le rôle d'hôte intermédiaire et particulièrement ceux âgés entre deux et quatre ans. Les hôtes définitifs sont le chat ou le lynx. La clinique se présente en trois phases successives : une phase d'hyperthermie non caractéristique, une phase d'oedèmes, puis une phase d'expression cutanée avec entre autres, dépilation et sclérodémie, souvent s'en suivent des complications.

Cette maladie est connue dans de nombreux pays et depuis longtemps c'est pourquoi les synonymes sont nombreux et variés, ils proviennent de la clinique (elephantiasis, lèpre, anasarque des bovins ...) et ont évolués au fil des avancées scientifiques (sarcosporidiose cutanée, globidiose cutanée, besnoitiose...). On peut également noter que des appellations identiques sont retrouvés dans différentes langues, mais ne sont pas référencées pour la première fois aux mêmes dates (Tableau n° 1).

**Tableau n°1 : Synonymes (Ferrie, 1984)**

Date	Synonymes	Langues	Premières références
1817	Elephantiasis du boeuf	Fr.	SANTIN
1831	Rouge des bovidés	Fr.	TAICHE
1840	Fièvre angioténique	Fr.	GELLE
	Lèpre	Fr.	
	Lèpre éléphantiasique	Fr.	
1857	Enbuffounadis	Fr. Occitan	CAUSSE
1859	Maladie rouge	Fr.	FESTAL
1884	Anasarque des bovins	Fr.	CADEAC
1912	Sarcosporidiose cutanée bovine	Fr.	BESNOIT coll.
1928	Chimurra (rides)	Fr. basque	BOURDE
1937	Globidiose cutanée du boeuf	Fr.	CUILLE coll.
1938	Lipoa	Fr. basque	BERTHELON coll.
	Lortista	Fr. basque	
1941	Sarcosporidiosis cutanea de los bovinos	Espagnol	VOGELSANG coll.
	Dermatosis verrugosa por <i>Globidium besnoiti</i>	Espagnol	
1945	Globidiosis of cattle	Anglais	HOFMEYR
1949	Anasarca bovina	Portugais	LEITAO
	Besnoitiose bovino por <i>Globidium besnoiti</i>	Portugais	
1949	Dermite verrugosa parasitaria	Portugais	LEITAO
	Globidiose bovino por <i>Globidium besnoiti</i>	Portugais	
	Sarcosporidiose bovina	Portugais	

Date	Synonymes	Langues	Premières références
1952	Akanyaga	Ruandais	HERIN
	Globidiose cutanée	Fr.	
	Runderglobidiosis	Néerlandais	
1954	Bovine cutaneous globidiosis	Anglais	POLS
1960	Beesskurfte (gale bovine)	Afrikaans	SCHULZ
	Dikvelsiekte (maladie de la peau épaisse)	Afrikaans	
	Olifantvelsiekte	Afrikaans	
	Elephant skin disease	Anglais	
1960	Besnoitiose des Rinder	Allemand	POLS
	Besnoitiose van beeste	Néerlandais	
	Besnoitiose van runderen	Néerlandais	
	Bovine besnoitiosis	Anglais	
	Bovine cutaneous sarcosporidiosis	Anglais	
	Dillag	Arabe	
	Haut Globidiose der Rinder	Allemand	
	Haut Sarcosporidiose der Rinder	Allemand	
	Huidglobidiose van beeste	Néerlandais	
	Huidglobidiose van runderen	Néerlandais	
1976	Besnoitioz(a)	Russe	KHVAN
1980	Besnoitiose bovine	Fr.	EUZEBY

## B.Importance

L'importance de cette maladie repose essentiellement sur les conséquences économiques qu'elle engendre. Sa morbidité est très importante, elle peut atteindre jusqu'à 90% (Ferrie, 1984), mais la mortalité reste faible, elle ne représente que 1 à 2%, mais peut parfois atteindre 10%. Même après guérison, les animaux restent des non valeurs économiques. La saisie à l'abattoir est possible lorsque les tissus sont envahis par de nombreux kystes ou lorsque la carcasse est cachectique. Les conséquences sur la reproduction ne sont pas négligeables, car il est fréquent que les taureaux infectés présentent une stérilité passagère ou définitive. Des cas d'avortement ont également été observés (Nobel *et al*, 1981; Sannusi, 1991; Kumi-Diaka *et al*, 1981).

Cette maladie n'est pas à négliger car elle est en pleine extension en France.

## **C.Historique** (Ferrie, 1984; Legrand, 2003; Basson *et al*, 1970)

Cette maladie est connue depuis l'Antiquité, ainsi Végèce, à partir des écrits de Caton, Pelagonios et Columelle, décrit la phase terminale de la maladie et la dénomma éléphantiasis. Il fallu attendre 1817 pour que les phases d'oedèmes et de sclérodémie soit décrites par Santin, vétérinaire à Dournes (Tarn). Il observait « ...des engorgements aux coudes, aux paupières, au mufle... Les yeux sont plus larmoyants, il y a des tumeurs oedémateuses au fanon. Les extrémités inférieures sont fortement engorgées, souvent aussi l'engorgement paraît se concentrer à la tête... Les vaches laitières ont sous le ventre un engorgement qui s'étend jusqu'à l'auge... » et décrivait l'évolution : « ... Dans tous les points où il existe des engorgements, la peau se dessèche, elle prend l'apparence d'un cuir tanné... elle tombe en lambeaux et s'exfolie comme l'écorce d'un platane... ».

En 1840, Gelle, après observation de plusieurs cas chroniques sévères, désignait cette unité pathologique sous les termes de : lèpre, lèpre éléphantiasique ou éléphantiasis tuberculeux.

Lafore, en 1843, différenciait l'état aigu de l'état chronique qui lui succédait mais qui pouvait aussi apparaître immédiatement.

A l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Lafosse, en 1858 divisa l'éléphantiasis en trois phases: « début, état, déclin », suivi de la mort ou la chronicité.

Onze ans plus tard, en 1869, Cruzel présenta l'éléphantiasis et l'anasarque comme deux pathologies distinctes. Par ailleurs il émit l'hypothèse d'une transmission par des insectes, ce qui serait confirmé bien plus tard : « l'éléphantiasis... pourrait bien être une de ces affections que l'on attribue à la présence d'insectes ou de zoophytes microscopiques. La présence de ses parasites aurait pour effets primordiaux l'irritation... du tissu dermoïde... » .

Au début du XX<sup>e</sup> siècle, deux courants de pensée s'opposaient sur l'étiologie. D'un côté Besnoit et Robin (1912) prônaient l'étiologie parasitaire, s'appuyant sur l'isolement du parasite dans les lésions cutanées, et de l'autre Cadeac, Massoc et Bourde prônaient l'étiologie microbienne, expliquant la maladie par une infection microbienne, streptococcique ou charbonneuse avec surinfection par la sarcosporidie de Besnoit et Robin.

En 1914, éléphantiasis, anasarque et sarcosporidiose cutanée du boeuf ont été rassemblées en une maladie unique, mais le parasite restait introuvable dans les premiers stades de la maladie et la transmission expérimentale était toujours impossible. Ce n'est qu'en 1936 que Cuille parvint à transmettre la maladie à des bovins sains par injection de sang provenant d'animaux malade en phase aiguë, cependant les tentatives d'inoculation à partir de lésions cutanées restèrent sans résultat.

Il fallu attendre les travaux de Pòls en 1954 pour mettre fin aux désaccords concernant l'étiologie, lorsqu'il réussit à mettre en évidence le parasite dans le sang en phase fébrile. Ce fut la première description morphologique de l'agent pathogène, et de l'histogénèse des kystes. Bigalke en 1962 exposa l'importance des kystes oculaires pour le diagnostic clinique. En effet l'examen visuel des kystes oculaires au niveau de la sclérotique permit la détection de nombreux cas de besnoitiose chronique même inapparents. Puis en 1968, il prouva expérimentalement l'aspect contagieux de la maladie par cohabitation entre bovins sains et bovins infectés

chroniques révélant un taux de transmission avoisinant les 100%. Secondairement il tenta d'expliquer le mode de contamination par expérimentation avec des arthropodes piqueurs, il en démontra alors le rôle de vecteur mécanique.

Peteshev *et al.*, en 1974, établit le cycle parasitaire, en démontrant le rôle du chat comme hôte définitif excréteur d'ookystes. Mais en 1979, une équipe russe tenta sans succès d'infecter des chatons avec des kystes de *Besnoitia besnoiti* d'origine bovine. A ce jour le rôle du chat comme hôte définitif n'a jamais été reconfirmé par une autre équipe.

## II. LE PARASITE

### **A. Systématique** (Euzeby, 1987; Legrand, 2003)

Par ses caractéristiques biologiques et morphologiques *Besnoitia besnoiti* appartient:

- Au phylum des Apicomplexae, qui regroupent les protozoaires parasites intracellulaires, caractérisés par la structure complexe de leurs agents de dissémination (mérozoïtes, endozoïtes, sporozoïtes). Ils sont dépourvus d'organe locomoteur.
- A l'ordre des Eucoccidioridae, marqué par une multiplication asexuée par schizogonie, bipartition par fission longitudinale ou endogonie.
- Au sous-ordre des Eimeriorinae, Coccidioses *sensu stricto*, définit par une reproduction sexuée effectuée uniquement chez l'hôte définitif, de type gamétogonie avec rejet de formes de dissémination; et une reproduction asexuée se déroulant chez l'hôte définitif ou l'hôte intermédiaire, de type schizogonie ou endogonie, mais en localisation exentérale dans des cellules mésenchymateuses ou parenchymateuses.
- A la famille des Isosporidae, regroupant des parasites de Mammifères ou d'Oiseaux. Chez l'hôte définitif, ils se localisent à l'épithélium intestinal et parfois sous forme exentérale; seule les formes exentérales sont observées chez l'hôte intermédiaire. La sporulation est exogène et donne des ookystes sporulés à deux sporocystes contenant chacun quatre sporozoïtes.
- A la sous-famille des Toxoplasmatinae, parasites habituellement dixènes, avec schizogonie chez l'hôte définitif et sporogonie exogène.
- Au genre Besnoitia, pour lequel le dixénisme est constant et obligatoire, provoquant la formation de kystes polyzoïques à localisation fibroblastique.

### **B. Morphologie**

#### 1. Les bradyzoïtes (Pols, 1960 ; Euzeby, 1987 ; Dubey, 1993 ; Ferrie, 1984)

Les bradyzoïtes sont les éléments observés dans les kystes tissulaires présents en phase chronique de la maladie. Leur multiplication est lente. Ils sont en forme de banane ou de croissant et mesurent entre 5µm à 9µm de longueur et 2µm à 5µm de largeur. Le noyau n'est pas central, il se situe en général à une extrémité de la cellule. Leur dimension peut varier selon l'hôte intermédiaire (Figure n° 4).

## 2. Les tachyzoïtes (Pols, 1960 ; Euzeby, 1987 ; Dubey, 1993)

Les tachyzoïtes peuvent circuler dans le sang ou être regroupés dans une vacuole et enfermés dans des pseudo-kystes. Leur morphologie est identique à celle des bradyzoïtes. Les formes observées dans les cellules sont ovoïdes et mesurent environ  $4\mu\text{m} \times 2,5\mu\text{m}$ , celles libres dans le sang sont en forme de croissant ou de banane et mesurent de  $6\mu\text{m}$  à  $8\mu\text{m} \times 2,5\mu\text{m}$ , cette seconde forme semble représenter la forme âgée de la première.

## 3. Les kystes (Pols, 1960 ; Wallace et Frenkel, 1975 ; Shkap *et al*, 1988 ; Dubey, 1993)

Les kystes sont de forme globuleuse et de grande taille ( $600\mu\text{m}$  à  $1$  à  $2\text{mm}$  de diamètre), ils ne sont pas cloisonnés et contiennent des bradyzoïtes, évoqués précédemment (Figure n° 1). La paroi des kystes est épaisse et organisée en trois zones (Figure n° 3):

- une membrane interne correspondant à la paroi de la vacuole parasitophore de la cellule hôte qui emprisonne les bradyzoïtes,
- une membrane intermédiaire représentant le protoplasme de la cellule hôte hypertrophiée et aplatie contenant tous les organites caractéristiques des cellules eucaryotes et plusieurs nuclei,
- une zone hyaline constituant une capsule rigide à l'origine de la forme du kyste.

Une réaction adventitielle de nature conjonctive se met en place autour de la cellule parasitée, produisant des fibres de collagène parallèles à la surface du kyste, des fibroblastes peuvent aussi s'accumuler (Figure n° 2). Une paroi secondaire appartenant uniquement à l'hôte est ainsi créée. Les bradyzoïtes sont enchâssés dans une matrice granuleuse qui remplit l'espace intracellulaire.

## 4. Fonctionnalité et structure moléculaire

D'un point de vue fonctionnel, la microscopie électronique met en évidence la présence des organites habituels chez un eucaryote, c'est à dire: une membrane cytoplasmique, un protoplasme, une vacuole, un reticulum, des ribosomes, un appareil de Golgi, une membrane nucléaire et de la chromatine. Des organites particuliers à relier à la mobilité et au pouvoir infestant sont également identifiables, ainsi on observe une membrane cytoplasmique modifiée, des microtubules, des micropores et le complexe apical caractéristique du phylum des *Apicomplexae*, formé des anneaux polaires, du conoïde, des rhoptries et des micronèmes. (Pols, 1960 ; Shkap *et al*, 1988)

En 2000, en Espagne, une étude a été menée afin d'étendre les connaissances actuelles sur la structure moléculaires des kystes de *Besnoitia besnoiti*, elle est basée sur l'immunoréactivité face à des anticorps monoclonaux, et permet de mettre en évidence la présence ou non d'enzymes et de protéines impliquées dans la perméabilité membranaire. Les observations qui ont été faites, ont révélé la présence:

- d'une activité ATPase de la pompe à sodium et à potassium dans la

cellule hôte et les kystes à bradyzoïtes, révélant une dépendance énergétique du parasite vis-à-vis de la cellule hôte pour la différenciation cellulaire ou l'activation

- de phosphatases alcalines, permettent la régulation de la phosphorylation des protéines et du processus de maturation
- de protéines S100 et de calmodulin (protéines responsables de la régulation intracellulaire du calcium) permettant la régulation de la mobilité des microtubules et jouant sur la perméabilité membranaire, régulant ainsi la croissance cellulaire
- de protéines de choc hsp60 et hsp70, permettant l'adaptation et donc la survie dans de nouvelles conditions environnementales pendant la différenciation dans l'hôte, et leur implication dans l'infection et la virulence

Certains kystes se sont révélés positifs vis-à-vis de l'immunoréactivité et d'autres négatifs, cela démontre une différence métabolique entre ces deux types de kyste. Il en a été conclu que les bradyzoïtes pouvaient exister sous deux formes.

- une forme métabolique active correspondant au développement et à la maturation, avant que les bradyzoïtes n'acquièrent leur capacité infectieuse
- une forme dormante

On ne sait pas encore si ces deux phases se suivent obligatoirement ou si elles peuvent être discontinues. (Irigoien *et al*, 2000)

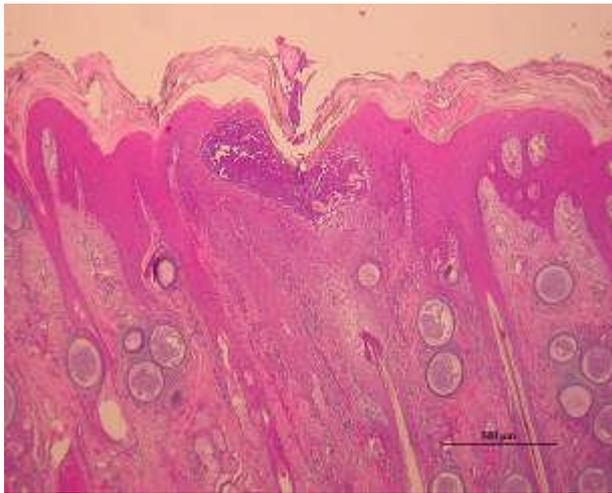


Figure n° 1 : Localisation des kystes à bradyzoïtes dans le derme, coloration hemalun-éosine (x 50)  
(Photo : Unité de dermatologie, ENVL)



Figure n° 2 : Kystes à bradyzoïtes, coloration hemalun-éosine (x 400)  
(Photo : Unité de dermatologie, ENVL)

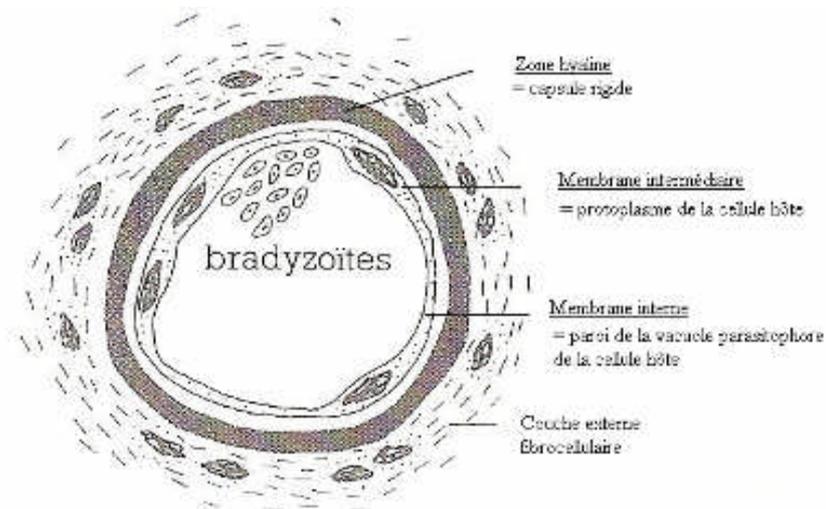


Figure n° 3 : Schéma d'un kyste de *Besnoitia besnoiti* (d'après Franc *et al* 1987, modifié)

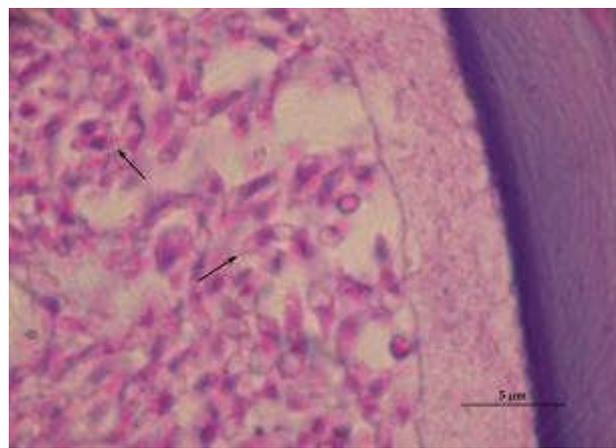
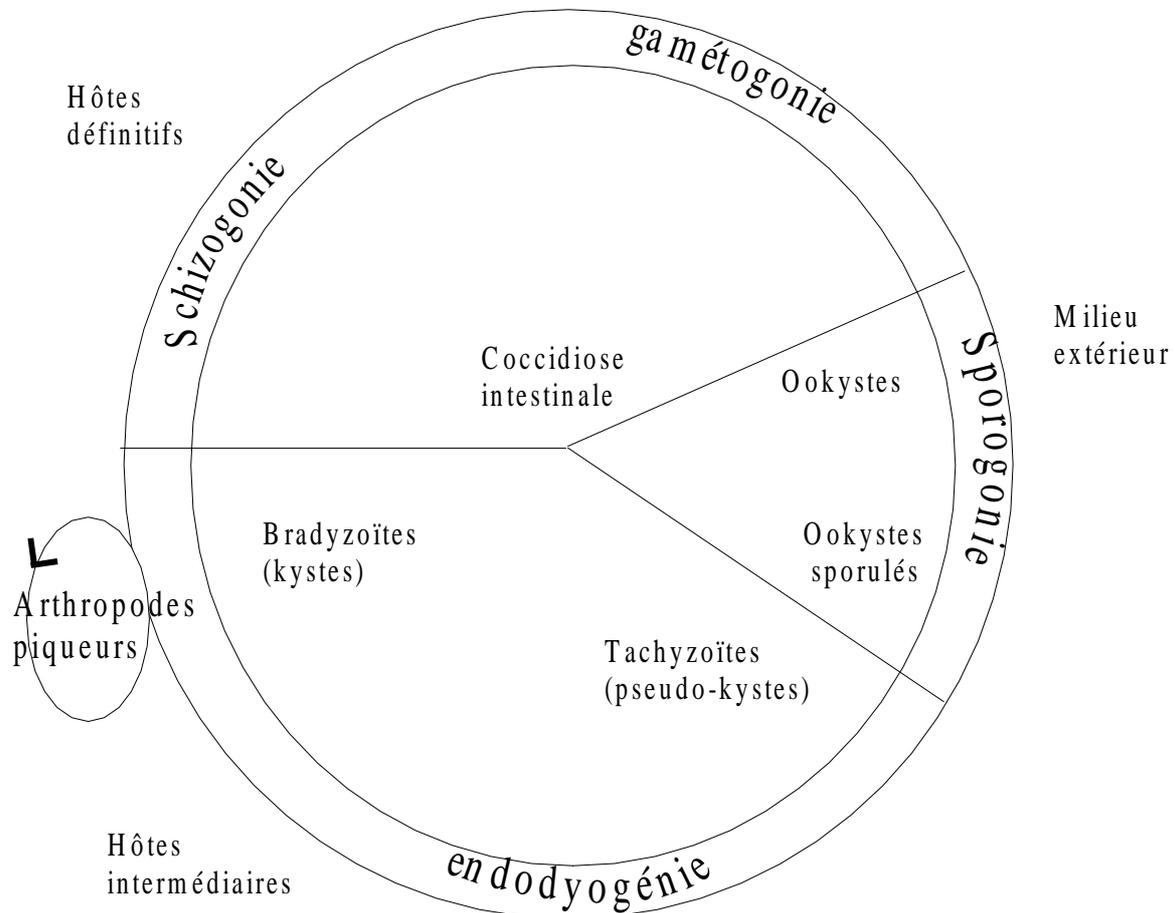


Figure n° 4 : Bradyzoïtes, coloration hemalun-éosine, (x 1000)  
(Photo : Unité de dermatologie, ENVL)

## C. Cycle parasite

*Besnoitia besnoiti* est un parasite stricte, dixène. Le cycle parasite est de type coccidien avec un hôte définitif et un hôte intermédiaire, des arthropodes piqueurs peuvent également intervenir (Bigalke, 1967 ; Wallace et Frenkel, 1975, Euzeby, 1987) (Figure n° 5).



**Figure n° 5 : Cycle parasite de *Besnoitia besnoiti***

### 1. Cycle chez l'hôte définitif (Pols, 1960 ; Wallace et Frenkel ; 1975, Euzeby, 1980 ; Franc et Cadiergues, 1999)

Chez l'hôte définitif l'évolution est une coccidiose intestinale, dont l'expression clinique n'a jamais été observée jusqu'ici. L'infection des hôtes définitifs se fait par ingestion de kystes contenant le parasite, puis il y a envahissement de l'épithélium intestinal avec évolution en cellules végétatives que l'on nomme tachyzoïtes. A la fin de leur croissance, il y a multiplication asexuée par schizogonie, dans les monocytes et parfois dans les neutrophiles, donnant naissance à des schizontes jeunes. Puis par division des noyaux et accumulation de cytoplasme autour de chaque noyau-fils, les schizontes deviennent mûrs, on parle alors de mérozoïtes.

La reproduction sexuée se met alors en place, on parle de gamétogonie. Elle met en jeu des centaines de microgamètes mâles flagellés et un seul macrogamète femelle immobile. La fécondation a lieu dans l'épithélium intestinal et produit un ookyste qui sera évacué dans les fécès.

La sporulation se fait dans le milieu extérieur, en deux à quatre jours, il en résulte un ookyste sporulé contenant deux sporocystes, renfermant chacun quatre sporozoïtes, ce seront les éléments à l'origine de la contamination des hôtes intermédiaires.

La durée de la période pré-patente varie selon les ouvrages, de six à huit jours (Euzéby, 1987) à une à quatre semaines (Ohayon, 1986; Sahun, 1998), la période patente dure en moyenne onze jours (Wallace et Frenkel 1975).

A noter que la multiplication par schizogonie ou endodyogénie est possible dans la lamina propria de l'intestin grêle et en localisation exentérale. Les mérozoïtes ainsi produits permettent la réinfection de l'épithélium intestinal, donc une recrudescence de coccidiose.

## 2. Cycle chez l'hôte intermédiaire (Euzéby, 1980, Euzéby, 1987 ; Franc *et al*, 1987)

Comme évoqué précédemment l'infestation des hôtes intermédiaires se fait par ingestion d'ookystes sporulés par l'intermédiaire de végétaux souillés. Il y a alors libération des zoïtes dans la lumière intestinale qui traversent la muqueuse et envahissent les cellules endothéliales des vaisseaux, siège de la multiplication asexuée. Elle se fait par schizogonie et surtout par endodyogénie, phénomène qui s'apparente à une division binaire, et aboutit à la formation de tachyzoïtes. Ceux-ci s'accumulent et forment des pseudo-kystes qui éclateront sous leur action nécrosante, ils seront alors libres dans le sang ou associés à des monocytes et coloniseront de nouvelles cellules. Lors de cette phase, on considère qu'il y a parasitémie, donc extension à tout l'organisme.

Puis sous l'action de phénomènes immunitaires la multiplication ralentie, les formes parasitaires pénètrent dans les fibroblastes et les histiocytes et forment des éléments à multiplication lente, les bradyzoïtes, qui s'accumulent en très grand nombre et constituent des kystes, pouvant être infestant pendant plus de neuf ans. Ces kystes sont à l'origine de l'infection des hôtes définitifs.

Par ailleurs les parasites peuvent être transmis mécaniquement entre hôtes intermédiaires par des arthropodes piqueurs. Dans la plupart des publications ce sont les bradyzoïtes qui constituent l'élément de dissémination, pour d'autres ce sont les tachyzoïtes (Euzéby, 1987), et enfin certains pensent que les deux sont possibles (Cortes *et al*, 2005).

Le cycle présenté ici reprend les travaux de Peteshev *et al*. Depuis, au vu des observations sur le terrain, la validité de ce cycle est remise en question, et certains s'interrogent sur l'existence d'autres cycles.

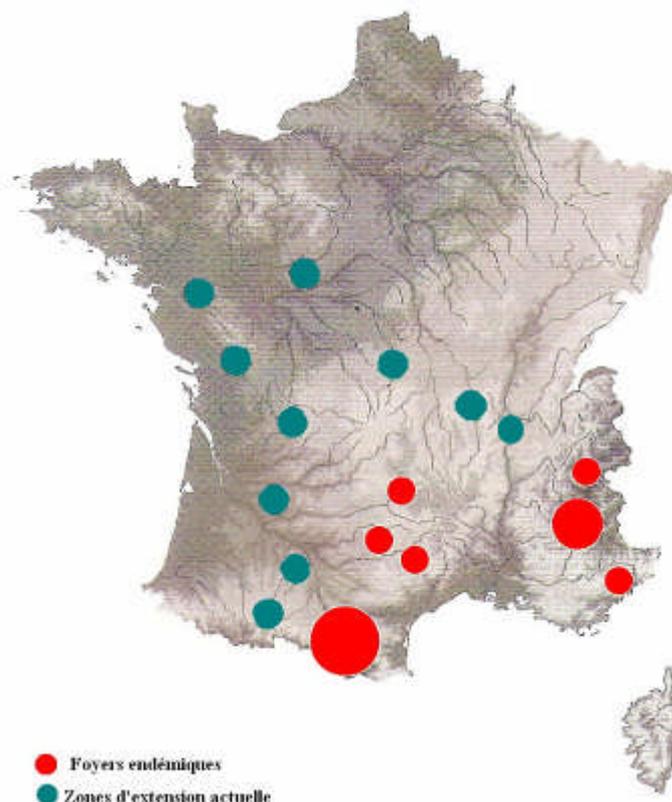
### **III.Epidémiologie**

#### **A.Epidémiologie descriptive**

##### **1.Répartition géographique (Cortes *et al*, 2005 ; Franc, 1996 ; Franc et Cadiergues, 1999, Legrand, 2003 ; Alzieu, 2007)**

Dans le monde, la majorité des foyers de Besnoitiose bovine se situe sur l'ensemble du continent africain, et plus particulièrement dans le Sud, des foyers sont également recensés en Israël et au Kazakhstan, et quelques uns en Chine, au Venezuela et en Inde.

En Europe, la maladie est actuellement endémique en Espagne, au Portugal et en France, des cas ont également été décrits en Italie. En France, jusqu'aux années 1980, la localisation principale était le sud-ouest et plus particulièrement une zone qui s'étendait des hautes vallées de l'Ariège et de l'Aude vers le piémont ariégeois, audois et celui des Pyrénées Orientales. A partir de 1990, des foyers dispersés apparaissent dans les Hautes Pyrénées, le Massif central et les Deux Sèvres, puis en 2001 un foyer majeur apparaît dans les Alpes, enfin en 2003 la maladie s'étend à l'Ouest et aux Pays de la Loire (Figure n° 6).



**Figure n° 6 : Localisation des foyers de besnoitiose bovine en France**

## 2. Espèces affectées

*Besnoitia besnoiti* est un parasite dixène. Les hôtes définitifs admis sont le chat et le lynx (Wallace, Frenkel 1975), mais Sahun dans sa thèse émet l'hypothèse de l'existence d'autre mammifère sauvage (renard, genette, chat sauvage) comme hôte définitif (Sahun, 1998).

L'infestation parasitaire touche de nombreux hôtes intermédiaires: ongulés domestiques et sauvages (bovins, chèvre, mouton, zébu, gnou bleu, impala) (Bigalke *et al.*, 1967), divers petits rongeurs (campagnols, rat musqué, gerbille géante), le phacochère, mais aussi les oiseaux. Cependant la maladie ne s'exprime que chez les espèces les plus sensibles, c'est à dire les bovins domestiques et la chèvre. Les autres hôtes intermédiaires naturels constituent des réservoirs et jouent un rôle épidémiologique surtout en Afrique (Franc *et al.*, 1987; Ellis *et al.*, 2000).

## 3. Facteurs de variation

### **a) Variations saisonnières**

Les différentes enquêtes épidémiologiques réalisées précédemment mettent en évidence un aspect saisonnier de la maladie, il semblerait qu'elle apparaisse surtout pendant l'été, en particulier de juillet à septembre, avec un maximum de cas au mois d'août. Cependant des cas se sont déjà déclarés au printemps et parfois même en hiver, cela pourrait peut-être s'expliquer par une réactivation de kystes chez des porteurs latents (Euzeby, 1980).

Cette saisonnalité est sans doute à relier à la présence des vecteurs mécaniques que sont les arthropodes piqueurs (tabanidés, stomoxes), en effet la température extérieure a une influence directe sur la fécondité, le taux de survie des oeufs et le développement des larves de *Stomoxys calcitrans* (Legrand, 2003).

### **b) Influence de la race, de l'âge et du sexe**

Les animaux de tout âge peuvent être atteints, mais la clinique s'observe surtout chez les jeunes animaux, et jamais en dessous de six mois (Cortes *et al.*, 2006b).

Il ne semble pas y avoir de différence de réceptivité entre mâle et femelle, en réalité le pourcentage d'infection est proportionnel à l'effectif relatif dans les élevages. Mais la sensibilité des mâles est plus importante, les formes sont plus graves et le taux de mortalité est plus important (Legrand, 2003).

Des études menées en Ariège révèlent un pourcentage plus élevé d'atteinte des races Gasconne et Limousine, cependant ces valeurs sont à relier à la répartition des races dans cette région. Il semblerait plus approprié de relier la sensibilité à un mode d'élevage plutôt qu'à une race, en effet il apparaîtrait que les élevages allaitants soient plus touchés, cela tient à la conduite d'élevage en extérieur. Il ne faut pas omettre l'importance épidémiologique des estives dans la conduite d'élevage (Goldman et Pipano, 1983 ; Ferrie, 1984; Sahun 1998 ; Legrand, 2003).

Une épizootie de Besnoitiose bovine a été observée dans une ferme gouvernementale au Nigeria en 1979, les animaux croisés semblaient plus atteints que les animaux pure race (Kumi-Diaka *et al*, 1981).

## B.Epidémiologie analytique

### 1. Maladie contagieuse

Afin de démontrer l'aspect contagieux de la Besnoitiose bovine, Bigalke exposa, dans des conditions expérimentales très proches des conditions naturelles, 40 bovins sains au contact de 31 bovins chroniquement affectés, donc porteurs de kystes. Le taux de transmission fût de l'ordre de 100%, mais la maladie n'apparaissait que sous forme de cas sub-clinique ou innaparents.

Au vu du taux de transmission obtenu, la contagiosité de la maladie paraît évidente. Dans cette expérience les bovins porteurs de kystes, chroniquement atteints jouent le rôle de réservoirs de parasites à partir desquels se transmet la maladie, mais le mode de transmission est inconnu (Bigalke, 1968).

### 2. Sources d'agents pathogènes (Figure n° 7)

Les hôtes définitifs libèrent, dans leurs fèces, des ookystes infestant pour les hôtes intermédiaires (Wallace et Frenkel, 1975). Chez l'hôte intermédiaire, par reproduction asexuée ils produisent des tachyzoïtes qui se transformeront en bradyzoïtes, ces deux éléments seront à l'origine de la contamination d'autres hôtes intermédiaires (Euzéby, 1980). Seuls les bradyzoïtes assurent la transmission aux hôtes définitifs, ils proviennent d'hôtes intermédiaires ou de porteurs inapparents que sont les rongeurs sauvages (Wallace et Frenkel, 1975 ; Ferrie, 1984). Les kystes à bradyzoïtes persistent au moins neuf ans, voir pendant toute la vie de l'animal (Euzéby, 1980).

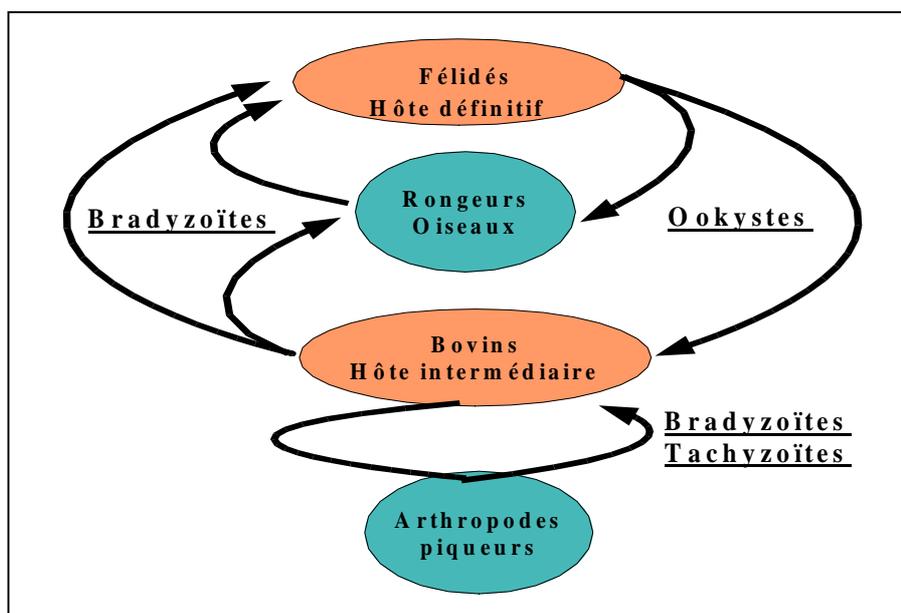


Figure n° 7 : Sources d'agents pathogènes

### 3. Modes de transmission

#### a) Cycle Félidés-Bovins-Arthropodes

Jusqu'ici le cycle paraissant le plus probable est celui découvert par Peteshev *et al* en 1974, faisant intervenir les Félidés, comme hôte définitif, les Bovins, comme hôte intermédiaire et des arthropodes piqueurs, Stomoxes et Tabanidés, comme vecteur (Bigalke, 1967) (Figure n° 8).

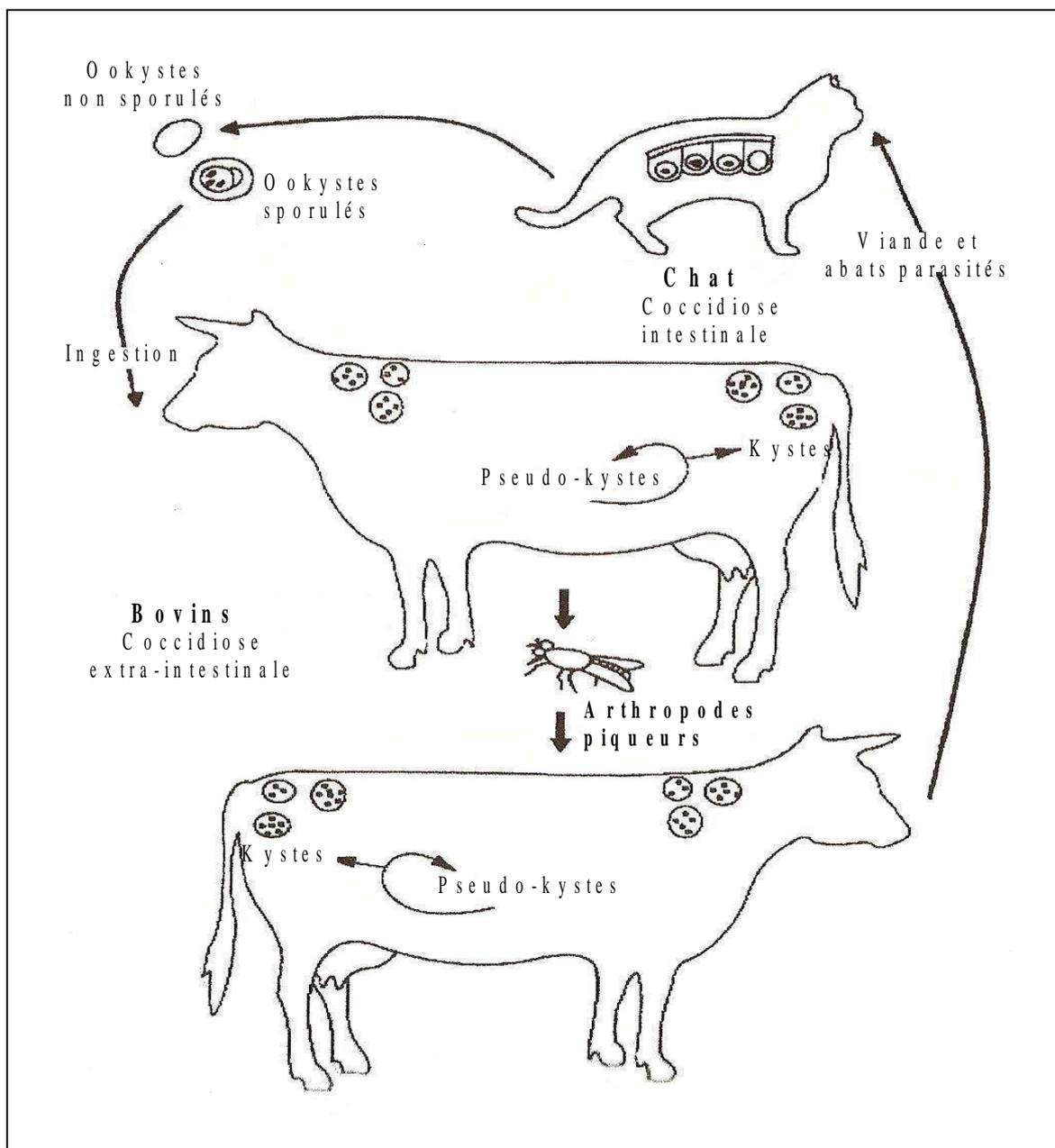


Figure n° 8 : Cycle Félidés-Bovins-Arthropodes

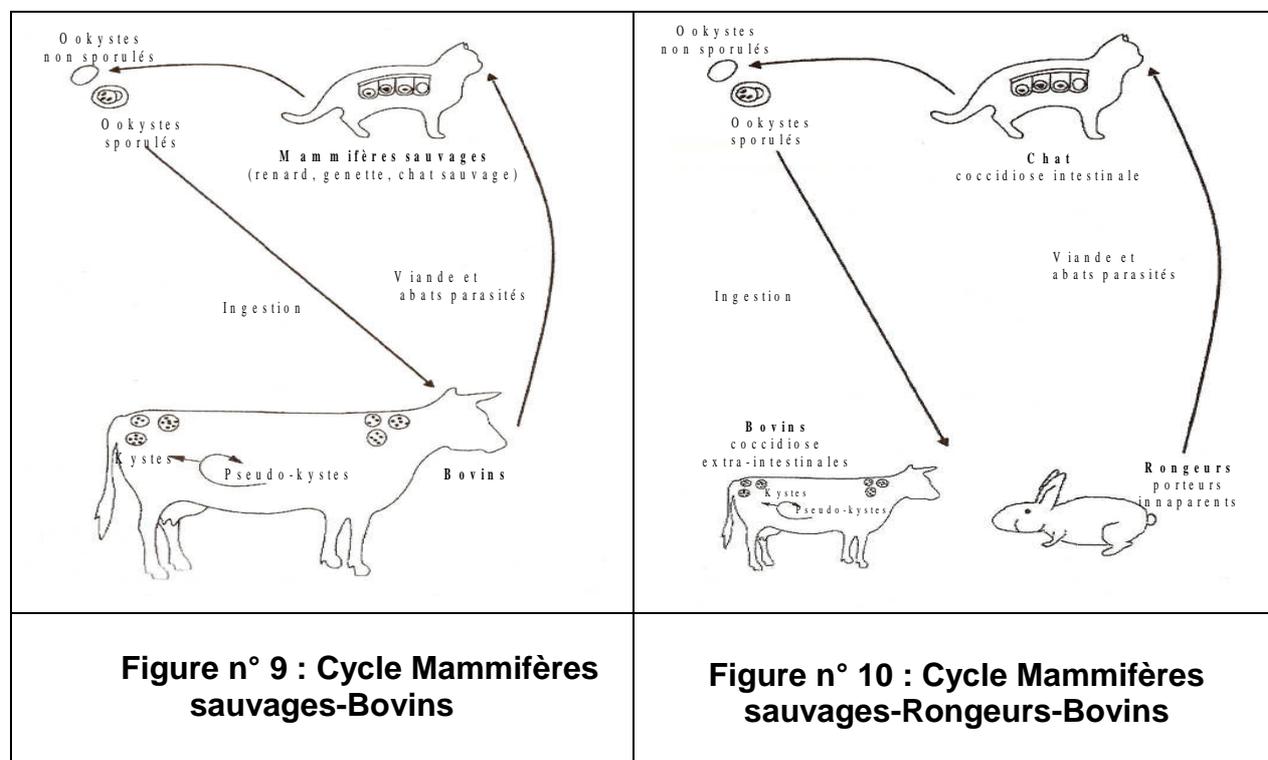
D'autres cycles épidémiologiques ont été proposés pour expliquer la transmission, un cycle Mammifères sauvages-Bovins, et un Cycle Mammifères sauvages-Rongeurs-Bovins.

## b) Autres cycles

L'existence d'un mammifère sauvage comme hôte définitif a été envisagée. On pense alors, compte tenu de leur distribution sur le territoire, au renard (*Vulpes vulpes*), à la genette (*Genetta genetta*) et au chat sauvage (*Felis sylvestris*) (Bigalke, 1967). Il y aurait infestation au pâturage par ingestion d'ookystes, les arthropodes piqueurs ne joueraient alors qu'un rôle minime dans l'apparition de cas clinique aigus (Ohayon, 1986) (Figure n° 9).

Dans ce modèle de transmission, l'infestation des mammifères sauvages pose le même problème que pour les chats car la relation proie-prédateur est très faible.

On peut aussi supposer que des porteurs inapparents interviendraient. Il s'agirait de petits rongeurs, comme les muridés, bien que leur infection expérimentale est impossible, ou plus probablement de lapin car il présente une grande réceptivité à l'infection expérimentale, voir des oiseaux. Si cette hypothèse s'avérait exacte, un cycle Mammifères sauvages-Rongeurs-Bovins serait envisageable, ainsi la réinfestation des hôtes définitifs serait plus facile (Ohayon, 1986) (Figure n° 10).



Ces deux hypothèses de cycles ne sont pas totalement satisfaisantes car les expériences de contamination de bovins par voie orale n'ont jamais données de résultats très concluants (Ferrie, 1984).

Il semblerait que des tachyzoïtes puissent être présents dans les sécrétions lacrymales, ainsi la transmission par des arthropodes non piqueurs serait également possible (Cortes *et al*, 2005).

Aucune de ces hypothèses n'est entièrement satisfaisante, l'épidémiologie de cette maladie parasitaire reste incertaine. La combinaison de plusieurs de ces cycles pourrait être la meilleure explication. Cependant, jusqu'ici, la voie de transmission principale semble être celle faisant appel aux arthropodes piqueurs comme vecteurs mécaniques, en effet ce modèle permet d'expliquer la saisonnalité de la maladie et la forte contagion au pâturage.

## **IV. Etude clinique**

### **A.Symptômes**

Les éléments symptomatiques majeurs observés chez les animaux infestés par *Besnoitia besnoiti* sont surtout de type cutané, cependant, très souvent chez les mâles et rarement chez les femelles, ils peuvent être associés à des troubles de la reproduction.

L'évolution de la maladie se fait le plus souvent en trois phases successives après une période d'incubation de six à dix jours, mais le portage latent est possible et peut s'observer chez les animaux par la présence de kystes au niveau de la sclère oculaire (Franc et Cadiergues 1999).

Les deux premiers stades de la maladie sont souvent confondus car la première phase passe inaperçue (El-Hadef Elokki-Bouchair, 1987).

#### **1.Période fébrile**

Elle dure entre trois et dix jours.

Il y a apparition brutale d'un syndrome fébrile avec une forte hyperthermie, oscillant entre 40° et 42°C, abattement, tachypnée, tachycardie, anorexie et ralentissement de la rumination (Alzieu, 1991 ; Cortes *et al.*, 2005). On observe également une photophobie marquée, conduisant les animaux à s'isoler dans des zones d'ombre. Les animaux atteints piétinent et leurs déplacements sont diminués (Franc *et al.*, 1987).

Cette phase est aussi définie par une congestion de la peau et des muqueuses, essentiellement localisée aux zones de peau fine, c'est à dire l'encolure, la face interne des cuisses, la région périnéale, les oreilles et le chanfrein. A ces endroits les poils sont hérissés et le pincement du pli de peau est douloureux (Franc et Cadiergues, 1999).

L'inflammation des muqueuses oculaires et pituitaires déclenche des écoulements constants et abondants de type séro-muqueux puis mucopurulent (Legrand, 2003).

La symptomatologie de cette période n'est pas caractéristique, pourtant il est important d'effectuer un bon diagnostic différentiel car la réussite du traitement dépend de la rapidité de sa mise en oeuvre.

#### **2.Phase des oedèmes**

Cette phase dure entre une et deux semaines, et suit normalement la première. Elle semble parfois initier le processus, mais cela s'explique plutôt par un défaut d'observation de la première phase. Il semblerait que l'importance de la phase soit fonction de la gravité du syndrome fébrile (Legrand, 2003).

Le syndrome fébrile diminue rapidement et fait place aux signes locaux dominés par l'apparition d'oedèmes, ceux-ci se situent aux régions déclives et à la tête (Cortes *et al.*, 2005). L'oedème des paupières, du chanfrein et de la périphérie

des naseaux occasionne un rétrécissement des ouvertures oculaires et nasales, la respiration est alors bruyante (Franc *et al.* 1987; Alzieu, 1991).

Le piétinement évoqué précédemment est aggravé par l'oedème des membres (Figure n° 11), généralement plus marqué au niveau des postérieurs, la marche est de plus en plus difficile et la flexion des articulations est douloureuse (Franc et Cadiergues, 1999).

Chez la femelle, il y a oedème de la mamelle, celle-ci est chaude et douloureuse, les trayons peuvent parfois être violacés à leur base et la sécrétion lactée diminue (Franc *et al.*, 1987; Franc et Cadiergues, 1999; Legrand, 2003). Chez le mâle, les testicules sont douloureux, il y a orchite. Il semblerait qu'à long terme l'infertilité puisse être due à la phase des oedèmes (Alzieu, 1991; Cortes *et al.*, 2005).

En dehors des zones d'oedème la peau est chaude et douloureuse, on note un épaissement, ainsi qu'une perte de souplesse et d'élasticité (Legrand, 2003 ; Cortes *et al.*, 2005).

Aux symptômes locaux évoqués précédemment s'ajoute une hypertrophie des ganglions lymphatiques superficiels (Alzieu, 1991; Franc et Cadiergues, 1999). Par ailleurs de rares cas de diarrhée et d'avortement ont été rapportés (Legrand, 2003; Cortes *et a.*, 2005).

### 3.Phase de sclérodémie

La phase de sclérodémie s'installe progressivement et dure plusieurs mois. A cette période le diagnostic clinique est aisé car les symptômes sont caractéristiques de la maladie.

L'état de l'animal s'améliore temporairement. Les oedèmes disparaissent et font place aux lésions de dépilation et de sclérodémie (Legrand, 2003).

L'épaississement et le plissement de la peau s'aggravent (Figure n° 12). Les dépilations siègent essentiellement au niveau des zones de pliure (Figure n° 13). A long terme, les zones dépilées prennent l'apparence de cuir tanné et apparaissent plus foncées, délimitant ainsi des zones plus claires qui correspondent aux régions dépilées, on parle alors d'un aspect « tigré » ou « zébré » (Alzieu, 1991; Legrand, 2003). On peut parfois observer la chute de lambeaux de peau (Franc et Cadiergues, 1999).

La peau étant très fragilisée, les mouvements entraînent la formation de crevasses au niveau des articulations, des escarres se créent, puis il peut y avoir complication par surinfection bactérienne, ces lésions siègent au niveau des genoux et des jarrets, avec le temps on les observe en regard de toutes les articulations ainsi que sur le mufle et le pourtour des lèvres (Franc et Cadiergues, 1999).

La respiration est rendue difficile et bruyante par le rétrécissement des naseaux (Franc *et al.*, 1987).

Les onglons s'allongent par manque d'usure et se déforment (Figure n° 14).

L'animal ne se lève et ne se déplace pratiquement plus, il est en souffrance. Il y a amaigrissement, le bovin devient une non valeur économique, puis la mort survient à long terme (Legrand, 2003).

En phase chronique, six à sept semaines après l'infection se développent des kystes parasitaires très caractéristiques (Cortes *et al.*, 2005). Ils sont facilement identifiables à l'oeil nu et ressemble à des grains de semoule (Franc et Cadiergues, 1999), on les observe à jour frisant au niveau de la conjonctive sclérale, de la pituitaire et des muqueuses oculaires (Euzeby, 1987) (Figure n° 15).

L'adénopathie généralisée persiste pendant plusieurs mois (Euzeby, 1987).

Dans certains cas, l'infestation se manifeste d'emblée par une phase chronique avec des kystes. Il existe des porteurs latents, c'est à dire des animaux sérologiquement positifs mais qui ne présentent pas de signes cliniques (Alzieu, 1991).

#### 4. Troubles de la reproduction

Plusieurs auteurs rapportent l'observation d'avortements durant la première ou la deuxième phase de la maladie (Euzeby, 1987; Legrand, 2003). Cependant il n'a pas pu être démontré que *Besnoitia besnoiti* peut être responsable d'infertilité chez les femelles (Nobel *et al.*, 1981).

Chez les mâles les troubles de la reproduction ont une importance considérable, car souvent ils conduisent à la stérilité, elle peut être définitive ou passagère (Euzeby, 1987).

Ainsi on observe une baisse de la libido, une forte inflammation du scrotum accompagnée d'épaississement et de plissement (Figure n° 16). L'analyse de la semence révèle une oligo ou une azoospermie selon la sévérité d'atteinte, en cas d'azoospermie, le sperme apparaît dépourvu de spermatozoïdes et transparent, on assiste également à une détérioration progressive de la qualité de la semence avec augmentation du nombre d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes (Sekoni *et al.*, 1992).

Certains auteurs rapportent un contenu scrotal entièrement froid, dévitalisé et gangréneux. Il n'y a pas d'atteinte de l'urètre pénien et pelvien, ni des vésicules séminales et de la prostate (Kumi-Diaka *et al.*, 1981).

Chez les femelles, la peau de la mamelle et des trayons peut également s'épaissir et se craqueler. La mamelle se flétrit et s'assèche (Figure n° 17).



**Figure n° 11: Œdème au niveau des membres**  
(Photos L. Gavet et B. Leterrier)



**Figures n° 12 : Epaissement et plissement généralisé de la peau**  
(Photo I. Freudiger)



**Figure n° 13 : Dépilations et sclérodémie**  
(Photo I. Freudiger)



**Figure n° 14 : Allongement et déformation des onglons**  
(Photo I. Freudiger)



**Figure n° 15 : Kystes oculaires**  
(Unité de Dermatologie ENVL)



**Figure n° 16 : Inflammation, épaissement et plissement du scrotum**  
(Photo I. Freudiger)



**Figure n° 17 : Epaissement et fissures des mamelles**  
(Photo L. Gavet et B. Leterrier)

## **B.Lésions**

*Besnoitia besnoiti* présente un tropisme marqué pour les cellules endothéliales, en particulier celles du système vasculaire. Les lésions observables sont déterminées par celui-ci.

### 1.Les lésions macroscopiques

En phase aiguë, le tableau lésionnel général évoque celui d'une septicémie, on répertorie essentiellement des lésions congestivo-hémorragiques (Legrand, 2003). En phase chronique, les lésions caractéristiques sont les kystes parasitaires.

#### La carcasse:

On observe une congestion généralisée de la carcasse et au niveau des grandes cavités, de la péritonite et de la pleurésie fibrineuse, mais pas de kystes (McCully *et al.*, 1966, Legrand 2003).

En phase chronique la carcasse peut être hydrocachectique, reflet de la dénutrition de l'animal, souvent la saisie est totale (Legrand, 2003).

De très nombreux kystes sont visibles dans le tissu conjonctif sous-cutané (McCully *et al.*, 1966)(Figure n°18).

#### Les noeuds lymphatiques:

Les noeuds lymphatiques sont réactionnels. On observe de la congestion, des œdèmes, et des foyers hémorragiques (Figure n° 19) (Basson *et al.*, 1970).

#### L'appareil locomoteur:

Au niveau des articulations il est possible de constater des arthrites séro-fibrineuses avec pétéchies ou ecchymoses (Basson *et al.*, 1970). Des marbrures blanchâtres au niveau de certains groupes musculaires sont identifiables, il s'agit de foyers de dégénérescence et de nécrose musculaires (Franc *et al.*, 1987).

En phase chronique, on peut trouver des kystes dans le muscle, mais le plus souvent ils se situent au niveau des aponévroses, des fascias, du conjonctif inter-musculaire, des capsules articulaires, des tendons et du périoste des os distaux des membres (McCully *et al.*, 1966, Franc *et al.*, 1987).

#### L'appareil respiratoire:

La trachée et les poumons sont congestionnés, il peut aussi y avoir des œdèmes plus ou moins étendus et présence de pétéchies. Parfois on note des hémorragies du pharynx et du larynx, ainsi que des foyers nécrotiques sur le larynx (Basson *et al.*, 1970).

Les kystes parasitaires se trouvent localisés à la muqueuses pituitaire, conjonctivale, sinusale, au pharynx, à la trachée, aux bronches et au parenchyme pulmonaire (McCully *et al.*, 1966, Franc *et al.*, 1987).

### L'appareil cardiovasculaire

L'endocarde des ventricules contient des kystes. L'intérieur des vaisseaux apparaît granuleux en raison des nombreux kystes contenus dans la paroi. On trouve aussi fréquemment des kystes au niveau des valves cardiaques (McCully *et al.*, 1966).

### Les organes abdominaux:

Le foie peut être plus ou moins marbré. De temps en temps il a été rapporté une légère spénomégalie (McCully *et al.*, 1966), une dégénérescence des reins, une stase biliaire et quelques ulcères de la caillette. Des pétéchies sont observables au niveau de l'endocarde, des reins, de l'abdomen, de la vésicule biliaire, de la glande pituitaire et de la caillette (Basson *et al.*, 1970, Franc *et al.*, 1987).

### La peau:

La peau est érythémateuse, épaissie, on parle de kérateodermie, elle perd sa souplesse en formant des plis. On observe du squamosis avec des squames-croûtes autour des orifices. Les lésions cutanées sont de type verruqueux (Franc *et al.*, 1987). On observe aussi de la congestion, des pétéchies disséminées et des ecchymoses, principalement au niveau des extrémités (Basson *et al.*, 1970).

Parfois les lésions cutanées et le nombre de kystes sont très limités, il semblerait que la dissémination des kystes augmente avec la sévérité de la maladie (Basson *et al.*, 1970).

### L'appareil reproducteur:

Chez le mâle, des lésions bilatérales d'orchite et d'épididymite sont observées (Legrand, 2003), les testicules et les tubes séminifères sont atrophiés, sclérosés et contiennent des foyers de nécrose (Figure n° 20) (Cortes *et al.*, 2006b, Franc *et al.*, 1987).

Des images de calcification des testicules, multiples ou focales, ont été décrites chez des taureaux atteints de besnoitiose chronique (Legrand, 2003). Des kystes sont observés dans le scrotum et les testicules. (Nobel *et al.*, 1977).

Chez les femelles, les seules lésions observables sont des kystes, on en trouve dans la muqueuse vaginale, les parois veineuses de l'appareil génital, le myomètre et l'endomètre des cornes utérines et moins fréquemment du corps utérin. Aucun cas de kystes dans les ovaires ou les oviductes n'a été répertorié (Nobel *et al.*, 1981).

Il est possible d'observer, mais pas systématiquement, la formation de granulome autour des kystes.

### Les yeux:

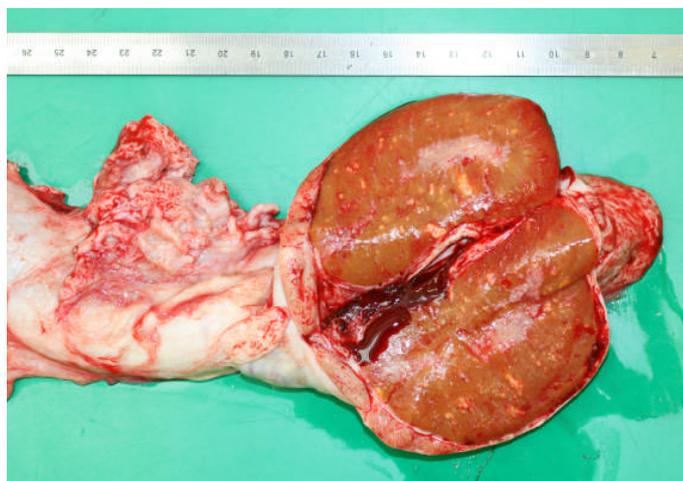
Les kystes sont présents au niveau des zones vascularisées de l'oeil, c'est à dire, l'iris, la sclère et la conjonctive (Legrand, 2003).



**Figure n° 18 : Nombreux kystes dans le tissu conjonctif sous cutané  
(Unité d'anatomie pathologique)**



**Figure n° 19 : Nœuds lymphatiques réactionnels  
(Unité d'anatomie pathologique)**



**Figure n° 20 : Foyers de dégénérescence testiculaires  
(Unité d'anatomie pathologique)**

## 2. Les lésions microscopiques

La majorité des lésions macroscopiques observées sont le résultat de lésions microscopiques de type vasculaire, elles touchent essentiellement les petites et moyennes veines, parfois les veines jugulaires et quelques artères (Basson *et al.*, 1970, McCully *et al.*, 1966). Les kystes se retrouvent à tous les niveaux de la paroi vasculaire, intima, media, adventice, ils sont souvent saillis en amas, dans la lumière (McCully *et al.*, 1966).

Durant la phase aiguë, dans les endothéliums, les pseudo-kystes sont entourés par des granulomes inflammatoires, il y a lésion des vaisseaux et formation de thrombi à l'origine d'infarctus, puis de nécrose (Euzéby, 1987). Il y a formation de multiples petites lésions de thrombophlébite à l'origine de foyers hémorragiques dans presque tous les organes (Legrand, 2003).

Les muscles sont le siège d'une dégénérescence dite de Zenker pouvant être accompagnée de fragmentation, de microcavitation, de lyse et parfois même de minéralisation (Basson *et al.*, 1970).

Des thromboses se mettent en place dans les vaisseaux des capsules articulaires, des tendons et des hypophyses (Basson *et al.*, 1970).

Au niveau du foie, on observe une dégénérescence hyaline des hépatocytes avec vacuolisation cellulaire à laquelle est associée des changements vasculaires et quelques petits foyers de nécrose (Basson *et al.*, 1970; Legrand, 2003).

L'observation des reins révèle de la dégénérescence vacuolaire et quelques foyers de réaction interstitielle cellulaire.

Dans les poumons, on retrouve un petit nombre de parasites dans la paroi des alvéoles et dans l'endothélium des bifurcations artérielles.

Les noeuds lymphatiques sont hyperplasiques, congestionnés et hémorragiques, mais dépourvus de kystes (McCully *et al.*, 1966; Basson *et al.*, 1970).

Au niveau de l'appareil reproducteur mâle, on constate une importante nécrose de coagulation des tubes séminifères et une calcification dystrophique, ainsi que la fibrose et l'infiltration du scrotum et du contenu scrotal par des cellules mononucléées, en particulier au lieu de rupture des kystes (Kumi-Diaka *et al.*, 1981; Sekoni *et al.*, 1992). L'analyse de la semence montre un petit nombre de cellules spermatiques géantes multinucléées. Ces lésions sont observées plutôt en phase chronique (Basson *et al.*, 1970).

Les kystes contenus dans la muqueuse de l'endomètre sont entourés par une zone homogène constituée de collagène, elle-même entourée par une légère réaction tissulaire, formée de quelques couches de macrophages et de cellules rondes. Autour des kystes plus âgés, sont associés quelques neutrophiles, éosinophiles et lymphocytes (Nobel *et al.*, 1977).

Dans la peau, en phase aiguë, on retrouve des tachyzoïtes dans l'endothélium des vaisseaux puis dans les histiocytes périvasculaires. En phase chronique, les kystes se situent dans le derme sur toute sa hauteur mais jamais dans l'épiderme. Les kystes sont entourés d'une zone de densification du derme, avec fibrose. Au

début il y a formation d'un infiltrat inflammatoire riche en éosinophile (McCully *et al.*, 1966), puis dans les lésions plus âgées la fibrose prend le dessus. Les nombreux kystes présents dans le derme repoussent les annexes jusqu' à les étouffer, voir les écraser. Il y a alors dépilation par écrasement des poils et des follicules pileux, et dilatation des glandes par accumulation de mucus en raison de l'obstruction des canaux excréteurs (Franc *et al.*, 1987).

A la périphérie des kystes, il y a infiltration du derme par des fibroblastes et des fibres conjonctives et mise en place d'une néovascularisation (Legrand, 2003). Des réactions interstitielles lymphocytaires autour des kystes et près des zones de nécrose peuvent se mettre en place (Legrand, 2003).

## **C.Pronostic**

Le pronostic vital est sombre car la mort peut survenir dans 10% des cas pendant la phase aiguë, il s'améliore si le diagnostic et le traitement sont faits précocement (Alzieu, 1991). Le pronostic économique est très mauvais car les animaux deviennent des non valeurs économiques, le cuir est inutilisable et la fertilité des mâles est très affectée (Euzeby, 1987).

## **V.Diagnostic**

### **A.Diagnostic épidémio-clinique**

Le contexte épidémiologique est à prendre en considération dans le diagnostic de la besnoitiose, en effet cette maladie n'est pas présente sur l'ensemble du territoire français, sa suspicion précoce est facilitée dans les zones endémiques. Il faut également prendre en considération l'aspect saisonnier malgré l'existence de cas hivernaux (Euzeby, 1987).

Le diagnostic clinique, lors de la première phase de la maladie, est difficile, en effet cette phase est peu caractéristique et ressemble au début de beaucoup de maladie infectieuse, en particulier respiratoire. Parfois elle peut même passer inaperçue et être associée à la phase des oedèmes.

Lors de la deuxième période, dans les zones où la maladie sévit, les oedèmes des membres, de la tête et des parties déclives sont un premier signe d'appel très évocateur.

En phase de sclérodémie, l'épaississement, le plissement de la peau, la chute de poil voir de lambeaux de peau sont très caractéristiques. Durant cette phase le diagnostic est facilité par la présence de kystes au niveau de la sclère oculaire, signe caractéristique de besnoitiose. Ces kystes permettent également de détecter les animaux porteurs sains chez qui, ils sont le seul signe visible.

### **B.Diagnostic différentiel**

#### **1. Phase fébrile**

Durant cette phase, les signes cliniques accompagnant l'hyperthermie ne sont pas caractéristiques, le diagnostic différentiel porte donc sur les maladies infectieuses respiratoires. Il faut prendre en compte le nombre d'animaux atteints et leur âge, en effet en cas de maladies infectieuses respiratoires la contagion est très importante et les animaux atteints sont plutôt jeunes.

Les broncho-pneumonies entrent aussi dans le diagnostic différentiel de la besnoitiose, la différence pourra être faite par un examen clinique approfondi avec auscultation pulmonaire (Franc *et al.*, 1987).

Il est également nécessaire de faire la différence avec le coryza gangréneux pouvant être à l'origine de jetage et d'un syndrome fébrile intense, cependant à ces signes sont souvent associées une kératite bleue bilatérale et une adénopathie généralisée. Le contexte épidémiologique favorable est la coexistence entre bovins et ovins (Legrand, 2003).

## 2. Phase des oedèmes

Les nombreux oedèmes et le caractère congestif de cette phase peuvent laisser penser à une morsure par des vipères.

L'Ehrlichiose rentre également dans le diagnostic différentiel de cette phase, ainsi que tous les oedèmes d'origine cardiaque.

## 3. Phase de sclérodermie (Franc *et al.*, 1987, Legrand 2003)

Lorsque les premiers signes cutanés de la phase de sclérodermie s'installent, il est nécessaire d'établir un diagnostic différentiel avec d'autres dermatoses bovines provoquant un état kératoséborréique. On différencie les origines probables de celles peu probable (Tableaux n° 2 et 3). Lorsque la troisième phase est installée, les signes cliniques sont très caractéristiques, le diagnostic est donc sans équivoque.

**Tableau n° 2 : Diagnostic différentiel de la besnoitiose bovine :  
Hypothèses probables**

	<b>Description</b>	<b>Symptômes communs à la besnoitiose</b>	<b>Symptômes différents de ceux de la besnoitiose</b>
<b>Le syndrome dermatite prurigineuse de la vache laitière</b>	Intoxication par des ensilages contenant de l'acide sulfurique ou du formol	Kératodermie	Hyperthermie Hémorragie interne diffuse
<b>Intoxication par des naphthalènes chlorés</b>		Etat kératoséborréique évoluant vers la sclérodermie Troubles de la reproduction Troubles respiratoires	Larmolements, jetage, ptyalisme
<b>Parakératoses</b>	Héréditaire ou consécutive à une carence en zinc	Plaques douloureuses Mauvais état général	
<b>Intoxication par les vesces, les trèfles et le lupin</b>		Alopécie possible Croûtes voir par ulcération grattage	Dermatite papuleuse Conjonctivite, congestion et oedème des paupières Jetage Salivation abondante Diarrhée

Les hypothèses les plus probables sont aussi des maladies rarissimes, c'est pourquoi le diagnostic différentiel lors de la troisième phase clinique est assez simple.

**Tableau n° 3 : Diagnostic différentiel de la besnoitiose bovine :  
Hypothèses peu probables**

	<b>Etiologie</b>	<b>Symptômes communs à la besnoitiose</b>	<b>Symptômes différents de ceux de la besnoitiose</b>
<b>Les gales</b>	<i>Sarcoptes scabiei</i> <i>Psoroptes ovis</i> <i>Chorioptes bovis</i>	Epaississement de la peau, +/- croûtes : lésions secondaires au grattage	Prurit marqué et généralisé
<b>Les phtirioses</b>	<u>Anoploures</u> : <i>Linognathus vituli</i> , <i>Haematopinus eurysternus</i> , <i>Haematopinus quadripertusus</i> , <i>Solenoptes capillatus</i> <u>Mallophages</u> : <i>Bovicola bovis</i>	Epaississement de la peau, +/- croûtes : lésions secondaires au grattage	Prurit Plissement cutané moins marqué
<b>La démodécie</b>	<i>Demodex</i>		Lésions discrètes, nodulaires
<b>La dermatophilose</b>	<i>Dermatophilus congolensis</i>	Peau épaissie et rugueuse Alopécie Légère fissuration de la peau Adénopathie	Hérissement en pinceau de quelques touffes de poils Nodules fermes et secs

## **C.Diagnostic expérimental**

Compte tenu des conséquences économiques de la besnoitiose, il est important, pour maintenir le commerce dans les zones atteintes, de pouvoir vérifier le statut indemne des animaux (Cortes *et al.*, 2006a). Pour cela, le diagnostic expérimental est utile car il permet de confirmer les suspicions cliniques par histologie et de détecter les formes inapparentes par sérologie, cependant il a l'inconvénient d'être tardif (Franc *et al.*, 1987).

### 1.Mise en évidence directe du parasite

#### **a) Raclage cutané**

En phase chronique, la peau est épaissie dans son ensemble car elle est infiltrée par de très nombreux kystes. C'est pourquoi il est possible de récolter des kystes par simple raclage cutané. On les observe ensuite au microscope après écrasement entre deux lames, le grossissement 50 est suffisant (Figure n° 21).



**Figure n° 21 : Kystes dans un raclage cutané (x 100)  
(Photo Unité de Dermatologie, ENVL)**

### **b) Technique du copeau**

En phase chronique, on peut également observer des kystes par réalisation d'un fin copeau cutané, observation au microscope.

### **c) Histologie**

L'histologie sert uniquement à confirmer une suspicion clinique. On peut réaliser une biopsie d'un lambeau de conjonctive portant des kystes, sous anesthésie locale. Après dissection du prélèvement, on écrase quelques kystes entre lame et lamelle, on observe alors de nombreux bradyzoïtes. La coloration n'est pas nécessaire.

L'observation peut également être faite sur le produit de raclage de la conjonctive, réalisé à l'aide d'une lame de microscope ou d'une lame de scalpel (Sannusi, 1991), puis fixé à l'alcool méthylique et coloré pendant 30 minutes dans du Giemsa tamponné par du phosphate à 10% (Franc et Cadiergues, 1999).

Il est également possible de faire des biopsies cutanées, à partir desquelles on réalise des coupes histologiques. La coloration la plus utilisée est l'hématoxyline-éosine. Au microscope, on observe des kystes constitués d'une paroi épaisse renfermant des bradyzoïtes (Franc et Cadiergues, 1999).

L'histologie est une bonne méthode diagnostique pour les animaux atteints cliniquement, mais elle ne permet pas de dépister les malades sub-cliniques ou chroniques, car la quantité de kystes présents est faible et leur localisation variable (Cortes *et al.*, 2006a).

#### **d) Amplification génique**

On utilise la PCR (Polymerase Chain Reaction) afin d'amplifier des séquences d'ADN spécifique de *Besnoitia besnoiti*.

Les travaux les plus récents datent de 2007, Cortes *et al.*, ont développé une PCR permettant d'amplifier le gène ITS1 (Internal Transcribed Spacer), marqueurs spécifique de la famille des Toxoplasmatinés, à partir de biopsies cutanées de bovins infectés (Cortes *et al.*, 2007).

Cette technique a l'avantage d'être sensible et très spécifique, mais sa mise en œuvre est coûteuse et nécessite beaucoup de temps, de matériel et d'expérience.

### 2.Méthodes sérologiques

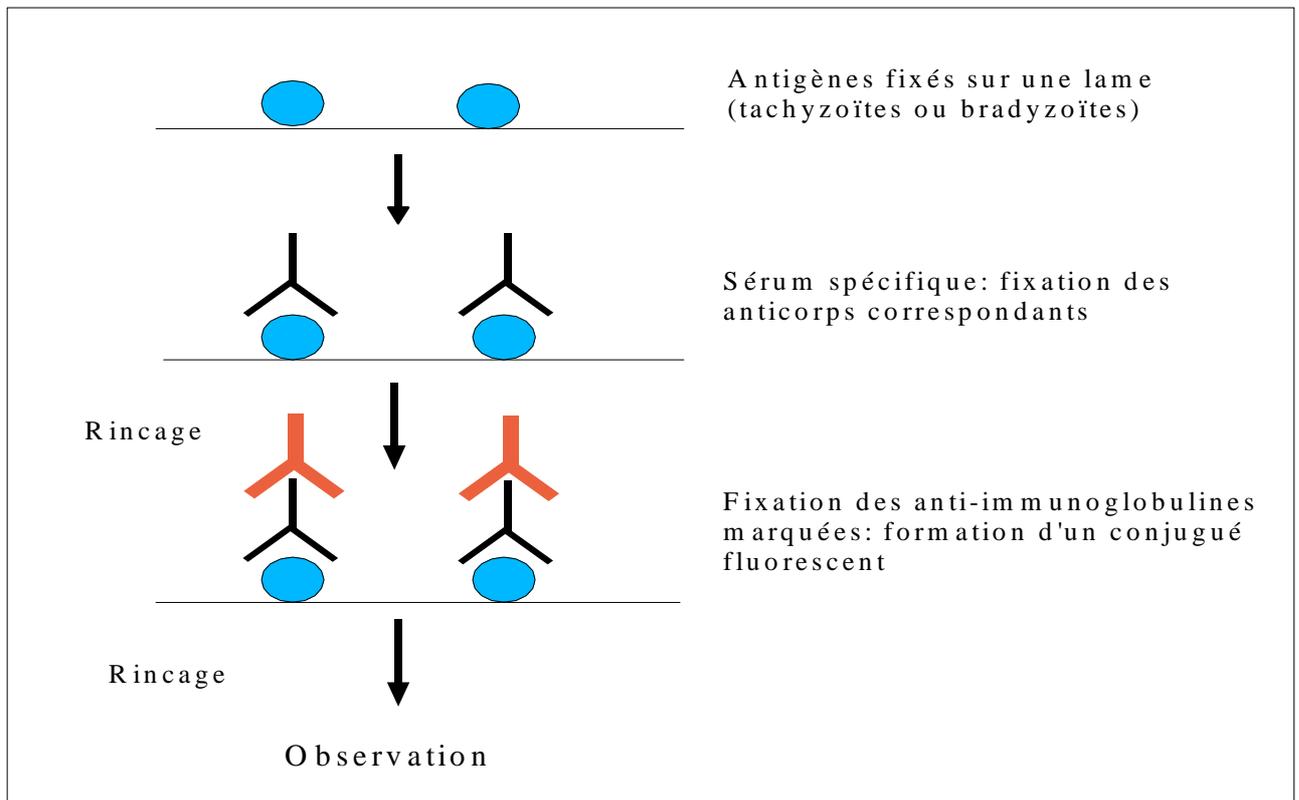
La sérologie consiste à mettre en évidence des anticorps sériques anti-*Besnoitia*, marqueurs de la réponse immunitaire. Ils apparaissent entre le 15ème et le 18ème jours et atteignent leur titre maximal entre le 30ème et le 40ème jour. Avec le temps les anticorps peuvent disparaître, on parle du phénomène d'anergie (Franc *et al.*, 1987). L'intérêt de la sérologie est de détecter les porteurs inapparents.

Les méthodes de diagnostic sérologique sont nombreuses, mais seuls trois sont réellement utilisables pour le diagnostic de la besnoitiose, l'immunofluorescence indirecte, l'ELISA et le Western blot. La fixation du complément et l'immunodiffusion sur gélose ne sont pas exploitables car elles mettent en jeu de nombreuses réactions croisées, de plus l'immunodiffusion sur gélose est peu sensible (Shkap *et al.*, 1988).

#### **a) Immunofluorescence indirecte (IFI)**

Le principe de cette technique est de mettre en contact des antigènes (tachyzoïtes issus du liquide d'ascite de gerboise expérimentalement infectée, ou bradyzoïtes d'origine bovine), et le sérum étudié, si ce sérum contient des anticorps correspondants, il y a fixation sur l'antigène (El-Hadef Elokki-Bouchair, 1987). Ce complexe formé est mis en évidence par un conjugué fluorescent anti-immunoglobuline (Figure n° 22) (Ohayon, 1998). Le seuil de positivité varie de 1/16 à 1/64 selon les auteurs (Euzeby, 1987, Franc et Cadiergues, 1999).

Il s'agit d'une méthode de diagnostic semi-quantitative, car elle mesure la fluorescence par comptage visuel sous microscope. Cette méthode n'est pas standardisée, il existe donc des différences entre laboratoires. De plus la mise en œuvre de cette technique est lourde, elle n'est donc pas utilisable pour le diagnostic de groupe (Ohayon, 1998).



**Figure n° 22 : Principe de l'immunofluorescence indirecte pour la détection de *Besnoitia besnoiti***

Il existe des réactions croisées au sein même du genre *Besnoitia*, entre les différentes espèces (Wallace et Frenkel, 1975), et également avec *Toxoplasma gondii*, mais pas avec *Neospora caninum* (Franc et Cadiergues, 1999; Cortes *et al.*, 2006a) ou pour des faibles titres d'Anticorps (Shkap *et al.*, 2002), elles dépendent de la nature du sérum et des caractéristiques du conjugué utilisé et de sa dilution (Goldman et Pipano, 1983). La spécificité et la sensibilité de ce test sont assez bonnes, la sensibilité est d'ailleurs bien supérieure à celle de l'examen oculaire (Franc *et al.*, 1987), mais pour rester élevée elle nécessite l'utilisation d'un antigène homologue (Euzéby, 1987).

### **b) ELISA**

Le principe de l'ELISA est le même que celui de l'IFI, seul la mise en évidence du complexe antigène-anticorps diffère, en effet celui-ci est révélé par la fixation d'un anticorps secondaire couplé à une enzyme capable de dégrader un substrat spécifique. Cette réaction enzymatique entraîne une coloration quantifiable par spectrophotométrie (Legrand, 2003). La dilution retenue pour le seuil de positivité est de 1/64°.

L'ELISA a une bonne spécificité et une très bonne sensibilité, de plus elle est facilement utilisable, c'est donc un bon outil diagnostique pour un premier dépistage de masse dans les enquêtes de terrain (Shkap *et al.*, 1984). Il existe des réactions croisées avec *Toxoplasma gondii* mais pas avec *Neospora caninum* (Cortes *et al.*, 2005).

### **c) Western blot**

Le principe du Western blot est identique à celui de l'IFI ou de l'ELISA, seul la préparation de l'antigène diffère. Les antigènes sont récupérés après séparation des protéines par électrophorèse, puis transferts sur une membrane.

On utilise souvent ce test en association avec d'autres plutôt qu'en tant qu'outil diagnostique seul. Le Western blot possède une meilleure spécificité que l'ELISA, il permet donc de détecter les faux positifs dus aux réactions croisées, c'est pourquoi Cortes *et al.*, en 2006, l'ont utilisé en association avec l'ELISA. D'après eux, dans les zones où on trouve peu voire pas de cas, il est nécessaire de recourir à une association ELISA-Western blot (Cortes *et al.*, 2006a).

## VI. Pathogénie et Immunité

### A. Pathogénie

Lors de coccidiose en générale, l'invasion des cellules hôtes se fait par pénétration active et phagocytose. Dans le cas de *Besnoitia besnoiti*, il y aurait invagination de la membrane cellulaire par extension d'un pôle antérieur du tachyzoïte et pénétration active (Reis *et al.*, 2006). Cependant on n'observe pas la formation de pseudopodes, qui sont normalement la preuve de la phagocytose, or Neuman en 1974 a mis en évidence par microscopie électronique, la présence de micro-pseudopodes entourant le parasite dans une vacuole phagocytaire typique.

Bien que le processus de pénétration de *Besnoitia besnoiti* soit complexe et non élucidé dans sa globalité, on peut avancer qu'il met en jeu à la fois pénétration active et phagocytose. (Shkap *et al.*, 1988)

En phase aiguë, sur le plan clinique, on observe un syndrome fébrile accompagné d'une congestion des muqueuses et de la peau, puis des oedèmes et une polyadénomégalie.

Cette phase initiale correspond à l'épisode de parasitémie pendant lequel l'ensemble de l'organisme et plus particulièrement les cellules endothéliales des vaisseaux sont envahies par des tachyzoïtes.

Les lésions observées en phase aiguë sont principalement de type vasculaire. La prolifération des tachyzoïtes dans les cellules endothéliales des vaisseaux causerait vascularite, périvascularite et thrombose, en particulier au niveau des capillaires et des petits vaisseaux sous-cutanés, au niveau des fascias, des testicules et des cellules muqueuses de l'appareil respiratoire supérieur (Cortes *et al.*, 2005). Les lésions vasculaires et les thromboses seraient à l'origine de la congestion, des foyers hémorragiques, et d'infarctissement particulièrement au niveau des testicules et de la peau.

Les oedèmes s'expliqueraient par la destruction des endothéliums vasculaires et l'augmentation de perméabilité au niveau des capillaires (Euzeby, 1987).

La prolifération des tachyzoïtes entraînerait la rupture des pseudo-kystes, il s'en suivrait une réaction inflammatoire avec prédominance des cellules mononucléées et prolifération des histiocytes au niveau du site de rupture. Des polynucléaires éosinophiles et neutrophiles seraient également présents mais surtout pendant la phase initiale, leur nombre augmenterait au niveau des zones de nécrose et à proximité des kystes morts. Le degré de nécrose dépendrait du statut immunitaire de l'hôte (Dubey, 1993; Basson *et al.*, 1970).

La gravité des lésions vasculaires primaires laisserait à penser qu'une toxine interviendrait en augmentant la perméabilité vasculaire et aurait des effets dégénératifs et nécrosants, particulièrement au niveau des vaisseaux (Basson *et al.*, 1970 ; Euzeby, 1987).

La sclérodermie observée en phase chronique de besnoitiose fait suite à l'organisation des oedèmes (Euzeby, 1987). Elle pourrait s'expliquer par l'importance du nombre de kystes se développant au niveau de la peau et par la réaction granulomateuse et la fibrose qui les accompagnent (Basson *et al.*, 1970).

Les kystes correspondent à la multiplication du parasite sous forme de bradyzoïtes dans les histiocytes et les fibroblastes du derme et du chorion des muqueuses.

Les avortements dépendraient plus de l'état toxi-infectieux de l'animal que des lésions au niveau de l'endomètre (Euzeby, 1987).

Chez le mâle, le nombre important de kystes dans l'espace interstitiel et sous les cellules épithéliales dans les tubes séminifères pourrait déplacer les cellules normales et interférer avec la spermatogénèse. Par ailleurs, une pression directe des kystes sur les cellules germinales épithéliales pourrait entraîner l'atrophie des tissus épидидymales et testiculaires. La diminution des échanges de chaleur et de sang au niveau du scrotum partiellement dévitalisé ou affiné contribuerait également à la dégénérescence des testicules et de l'épididyme (Kumi-Diaka *et al.*, 1981).

## B. Immunité

Chez les individus porteurs, les kystes restent vivants pendant au moins neuf ans (Franc, 1999), voir pendant toute la vie de l'animal (Euzeby, 1987). Il y a donc développement d'une immunité acquise chez les individus parasités, d'installation rapide, solide et durable, elle est de type prémunition car les kystes restent vivants.

Des anticorps IgM et IgG ont été mis en évidence dans le sang d'animaux infestés, cependant l'immunité est plutôt à médiation cellulaire, ce qui s'explique partiellement par le fait que, chez l'hôte intermédiaire, les parasites sont intracellulaires.

L'immunité acquise est spécifique de *Besnoitia besnoiti* (Euzeby, 1987).

Chez des veaux issus de mères chroniquement atteintes de besnoitiose, Shkap *et al* ont effectué un titrage d'anticorps à l'aide d'immunofluorescence indirecte, afin d'objectiver le transfert colostral d'anticorps anti-*Besnoiti*.

Ainsi chez quatre veaux issus de deux vaches chroniquement infectées, le taux d'anticorps est élevé dès le deuxième et troisième jour de vie, mais chez trois de ces veaux le taux d'anticorps ne reste détectable que jusqu'au deuxième ou quatrième mois. Par ailleurs, le titre d'anticorps mesuré dès la naissance dans le colostrum d'une des vaches affectées est élevé; 1/1024 (Shkap *et al.*, 1994).

Au vu de ces éléments, il semble qu'un transfert colostral d'anticorps anti-*Besnoiti* existe, cependant les modalités de transmission et le réel pouvoir protecteur de ces anticorps restent inconnus (Shkap *et al.*, 1994).

## **VII.Méthodes de lutte**

### **A.Traitement**

Le traitement doit être entrepris précocement, c'est-à-dire en phase fébrile ou au plus tard en phase des oedèmes. La réussite du traitement dépend de sa rapidité de mise en place.

#### **1.Antibiotiques**

Les premiers traitements mis en place visaient à réduire les oedèmes, on utilisait des diurétiques et on pratiquait la saignée (Franc *et al.*, 1987).

De bons résultats ont été rapportés avec l'utilisation de formol dilué à 10% dans du sérum physiologique, à raison de 30 ml trois fois à trois jours d'intervalle (Euzeby, 1987). Au Kazakhstan, en 1979, Uvaliev *et al* proposaient un traitement à base d'application locale de chlorophos et d'injection de lugol, pendant 45 jours. Il y aurait alors eu disparition de la plupart des kystes cutanés, la peau serait redevenue souple et le poil aurait repoussé en 3 semaines (Franc *et al.*, 1987, Legrand, 2003).

Désormais ce sont les sulfamides qui sont préférés, mais leur efficacité n'est pas totale, c'est pourquoi certains praticiens testent l'efficacité d'autres molécules.

La sulfamidothérapie doit être de 5 jours minimum, il est conseillé de commencer le traitement par voie intra-veineuse, puis le relais peut-être fait par voie parentérale ou orale (Alzieu, 2007). Les molécules utilisées sont :

- de la sulfadimérazine, à la dose de 150 à 200 mg/kg
- de la sulfadiméthoxine, à la dose de 60 à 80 mg/kg

*Besnoitia besnoiti* étant une coccidiose, on peut supposer que les molécules efficaces habituellement pourraient l'être dans ce cas, c'est pourquoi certains praticiens associent aux sulfamides de la spiramycine à 100 000 UI/kg, efficace sur *Toxoplasma gondii*, ou du toltrazuril par voie orale à raison de 80ml/100kg mélangé avec 40ml de propylène glycol et 40ml d'eau, mais il n'existe pas d'AMM pour cette préparation. L'utilisation de toltrazuril est discutable, car ce traitement est onéreux pour des résultats variables (Franc et Cadiergues, 1999).

Des essais ont été réalisés avec de l'halofuginone, mais ils n'ont pas été concluants (Sahun, 1998).

L'Oxytétracycline longue action pourrait être prometteuse, car elle protège complètement les gerbilles et les lapins atteints de besnoitiose, malheureusement chez les bovins les résultats sont variables (Legrand, 2003).

Pour l'instant le traitement utilisé habituellement est la sulfaminothérapie, cependant les résultats ne sont pas complètement satisfaisants, c'est pourquoi il est nécessaire d'associer une prophylaxie sanitaire.

## 2. Autres

Pour le bien être des animaux, on associe un traitement symptomatique. On peut utiliser des anti-inflammatoires adaptés, non stéroïdiens en phase fébrile, pour leur propriété anti-pyrétique et anti-inflammatoire, comme du kétoprofène, de l'acide tolfénamique ou de la flunixin, on préférera des corticoïdes en phase d'œdème pour leur propriété anti-oedémateuse (Alzieu, 2007). Si les oedèmes sont trop importants, il est possible d'utiliser des diurétiques en plus, comme de la diurizone® (Legrand, 2003).

Une autre piste de traitement a été étudiée en 1995 par Shkap et ses collaborateurs, faisant appel à la sérothérapie. Il s'agissait d'utiliser un anticorps monoclonal dirigé contre le stade tachyzoïte de *Besnoitia besnoiti*. In vitro la multiplication des cellules parasitaires étaient inhibée, mais malheureusement in vivo cet anticorps monoclonal n'empêchait pas la mort des animaux infectés (Shkap et al., 1995).

## **B. Prophylaxie**

### 1. Médicale

En Afrique du Sud, il existe un vaccin élaboré à partir d'une souche de *Besnoitia besnoiti* isolée sur un ruminant sauvage, le Gnou. La souche récupérée est cultivée sur cellules rénales d'agneau ou de singe jusqu'au stade de tachyzoïtes immunogènes qu'on injecte en sous-cutané. Cela confère une immunité d'environ quatre ans, mais le rappel est conseillé tous les deux ans (Euzéby, 1987). Les animaux sont protégés grâce à l'immunité cellulaire résultant de la présence de kystes parasitaires (Franc et al., 1987).

Ce vaccin empêche les animaux de tomber malades mais pas leur infection, il reste donc des porteurs asymptomatiques (Cortes et al., 2005). Sur le terrain il a quand même permis d'éviter l'apparition de la maladie dans 100% des cas, donc de réduire l'importance d'un foyer de besnoitiose existant (Franc et Cadiergues, 1999).

Le vaccin n'est pas autorisé en France.

### 2. Sanitaire

La prophylaxie sanitaire mise en place n'est pas la même selon que l'on est en zone indemne ou en zone d'endémie.

En zone indemne, il est essentiel de protéger la zone et de ne pas introduire d'animaux porteurs qui seraient source de contagion pour les autres. L'idéal pour cela serait un contrôle sérologique à l'introduction des animaux, mais le test n'étant pas encore disponible en routine seule l'analyse des facteurs de risque (zone de provenance des animaux, mode d'élevage) est possible.

En cas d'apparition d'un cas clinique en zone indemne, il est préférable d'euthanasier l'animal le plus rapidement possible (Alzieu, 2007).

En zone d'enzootie, l'idéal est d'éliminer les animaux malades, mêmes ceux guéris car on les considère comme toujours porteurs, et les animaux porteurs de kystes. Cette mesure peut être parfois difficilement applicable car le nombre d'animaux atteints peut être très élevé.

La seule mesure préventive vis-à-vis de la transmission du parasite est la protection contre les insectes piqueurs. Il faut agir contre les tabanidés dont leur période d'activité se situe entre mai et septembre, et contre les stomoxes qui vivent à l'intérieur et à l'extérieur. Il peut donc être judicieux de traiter les supports inertes, car les stomoxes s'y posent une grande partie de leur temps. Pour une meilleure efficacité, on préférera, pour appliquer sur les murs, des produits à effet fulgurant et qui ont une rémanence.

La plupart du temps les produits sont directement appliqués sur les animaux, cela a l'avantage de les protéger même au pâturage. Il existe différentes formes galéniques : des pulvérisations, des aérosols, des pour-on et des boucles auriculaires. Les molécules les plus souvent utilisées sont les pyréthriinoïdes. L'administration par pulvérisation et par aérosol procure la même efficacité, cependant il est nécessaire de la répéter toute les 3 à 4 semaines pour avoir une efficacité maximale. Les pour-on ont une durée d'action supérieure aux autres formes galéniques, une seule administration est donc suffisante pour toute la saison estivale, mais ils ont l'inconvénient, comme les boucles auriculaires, de diffuser préférentiellement dans les parties antérieures du corps (Franc, 1997). On préférera les formes galéniques permettant une diffusion sur l'ensemble du corps plutôt que celles à diffusion plus locales (Alzieu, 2007). Pour que les traitements insecticides soient efficaces, il est important de respecter la fréquence, la dose et le mode d'administration préconisés par les fabricants.

Pour être efficace, la prophylaxie sanitaire doit être appliquée pendant plusieurs années consécutives (Franc *et al.*, 1987).



## **DEUXIEME PARTIE:**

**Etude épidémiologique de l'épizootie de  
besnoitiose bovine dans les départements des  
Alpes-de-Haute-Provence et des Hautes-Alpes**



Il y a encore quelques années, la besnoitiose bovine n'existait en France que dans la région sud-ouest. Depuis 2004, de nouveaux cas se sont déclarés dans les départements des Alpes de Haute Provence et des Hautes Alpes.

Devant l'inquiétude grandissante des éleveurs et le peu d'information disponible pour les vétérinaires, nous avons voulu en savoir plus sur le parasite en cause et étudier l'épizootie qui touchait cette région. Nous nous sommes donc associés à la FRGDS (Fédération Régionale des Groupements de Défense Sanitaire) de la région PACA (Provence Alpes Côte d'Azur) qui avait entrepris la récolte des données sur le terrain.

A partir de ces données, nous avons étudié les caractéristiques épidémiologiques de ce foyer.

## I. Matériel et méthode

### A. Population cible et période d'étude

La population cible prise en compte pour l'étude est représentée par tous les bovins des départements des Alpes-de-Haute-Provence et des Hautes-Alpes (Figure n° 23). Cela concerne 844 exploitations et 45 117 bovins (Tableau n° 4).

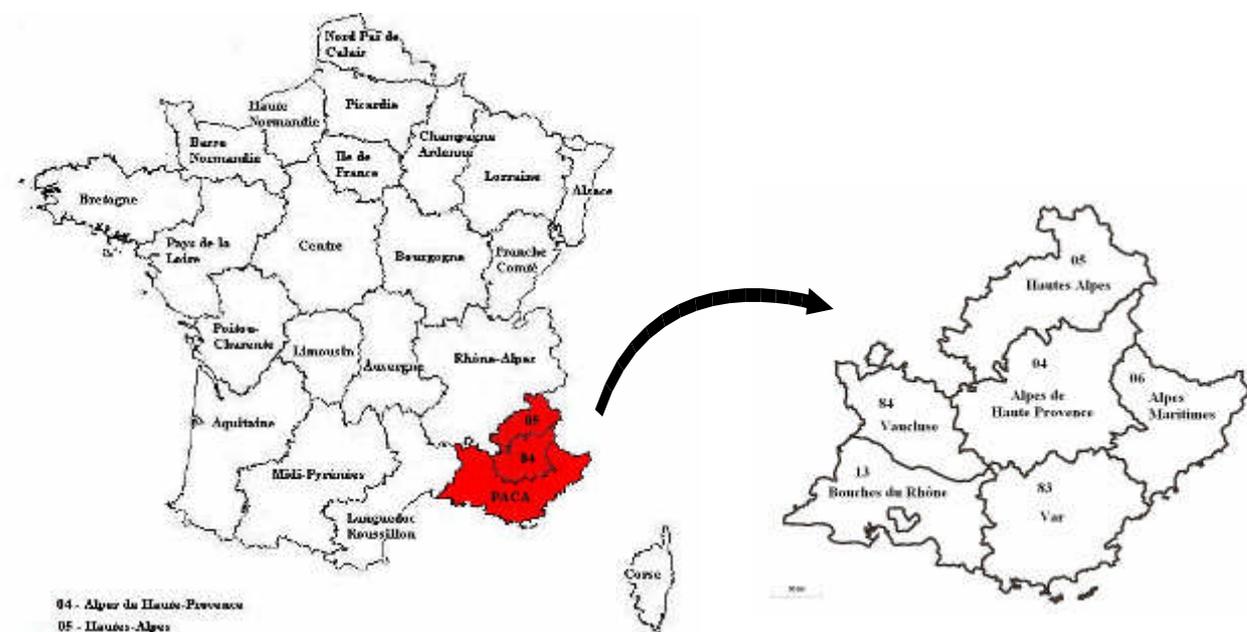


Figure n° 23 : Localisation de la région PACA

**Tableau n° 4 : Nombre d'exploitations et d'animaux présents dans les Alpes-de-Haute-Provence et les Hautes-Alpes**

	Département des Alpes de Haute Provence (04)	Département des Hautes Alpes (05)	Total
Nombre d'exploitation présentes	252	592	844
Nombre d'animaux présents	12 240	32 877	45 117

Les données ont été récoltées entre avril 2004 et fin mars 2007 par les vétérinaires des cabinets d'Embrun, Seyne les Alpes, Barcelonnette, Veyne et Saint Bonnet en Champsaur.

## B. Définition des cas

Nous avons définis deux états comme critères d'inclusion des animaux dans l'étude.

- Les malades : ce sont les animaux ayant présenté des signes cliniques caractéristiques de besnoitiose, diagnostiqués par les vétérinaires sur le terrain. Il peut s'agir de symptômes de la première, la deuxième ou la troisième phase clinique.
- Les porteurs de kystes : ce sont les animaux n'ayant pas exprimé de signes cliniques mais chez qui des kystes caractéristiques ont été observés au niveau de la sclère oculaire.

## C. Récolte des données

Les informations sont régulièrement collectées par les vétérinaires des 5 cabinets participant à l'étude, puis centralisées au niveau de la FRGDS de la région PACA.

Les informations sont récupérées lors de la visite du vétérinaire pour un animal malade. Si un diagnostic de besnoitiose bovine est fait, un rapport du vétérinaire est envoyé à la FRGDS et les informations sont mises à jour.

Lors de la visite de prophylaxie annuelle, la présence de kystes de *Besnoitia besnoiti* est recherchée par examen de la sclère oculaire en lumière rasante, et les animaux sont examinés afin de détecter ceux présentant des signes cliniques de besnoitiose chronique et qui n'auraient pas été déclarés par l'éleveur. La première campagne de dépistage a débutée en 2006 lors de la prophylaxie. A noter que seul le vétérinaire de Seyne les Alpes a une démarche systématique, les autres vétérinaires ne recherchent les kystes oculaires que dans les élevages à risque et ceux où il y a déjà eu des malades.

D'autre part des visites supplémentaires ont été effectuées sur le terrain en avril 2007 afin de questionner 9 éleveurs, considérés comme intéressants par les vétérinaires traitants, pour compléter les données.

## D. Constitution d'échantillons de la population totale

Afin de disposer de valeurs de référence pour comparer les valeurs observées, deux échantillons ont été constitués par les membres du FRGDS. Ces échantillons regroupent tous les bovins présents entre janvier 2003 et février 2007 dans les exploitations situées dans une zone considérée comme la plus atteinte. Cette zone se situe à cheval entre le département des Hautes-Alpes et celui des Alpes-de-Haute-Provence (Figure n° 24).

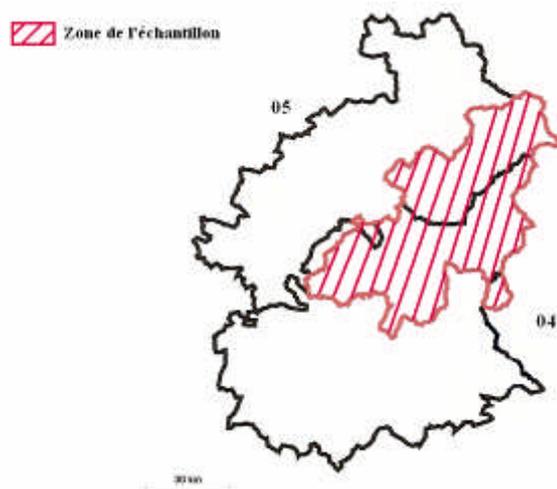


Figure n°24 : Zone d'échantillonnage

Le premier échantillon est constitué de 20 260 bovins et contient 19 races différentes. Pour étudier les variations liées au sexe, un deuxième échantillon a été réalisé, il s'agit du même que le premier, mais tous les bovins restés moins de six mois sur l'exploitation ne sont pas comptabilisés, on obtient alors un échantillon de 16 700 bovins.

## E. Test statistique du Chi-deux

Afin d'objectiver une différence entre les valeurs observées sur le terrain et la population totale, on utilise le test statistique du Chi-deux (Toma *et al.*, 2001).

Dans nos calculs on retire le nombre de bovins atteints du nombre de bovins de l'échantillon pour n'avoir que la population saine comme référence.

Par ailleurs, on calcule les valeurs attendues, c'est-à-dire les valeurs que l'on observerait si le pourcentage était le même que celui de la population totale. La comparaison entre les valeurs observées et les valeurs attendues permet d'argumenter la différence significative calculée précédemment.

A l'aide du logiciel R on peut également calculer la part que prend chaque valeur dans le calcul de l'indice du Chi-deux.

## II. Résultats

### A. Epidémiologie descriptive

#### 1. Situation en région PACA entre 2004-2007

Entre début avril 2004 et fin mars 2007, tous les cas ont été observés dans les départements des Hautes-Alpes et des Alpes-de-Haute-Provence, 62 exploitations ont été touchées, soit 7,3% de la totalité des exploitations des deux départements, et 340 animaux, soit 0,75% de la totalité des bovins des deux départements (Figure n° 25).

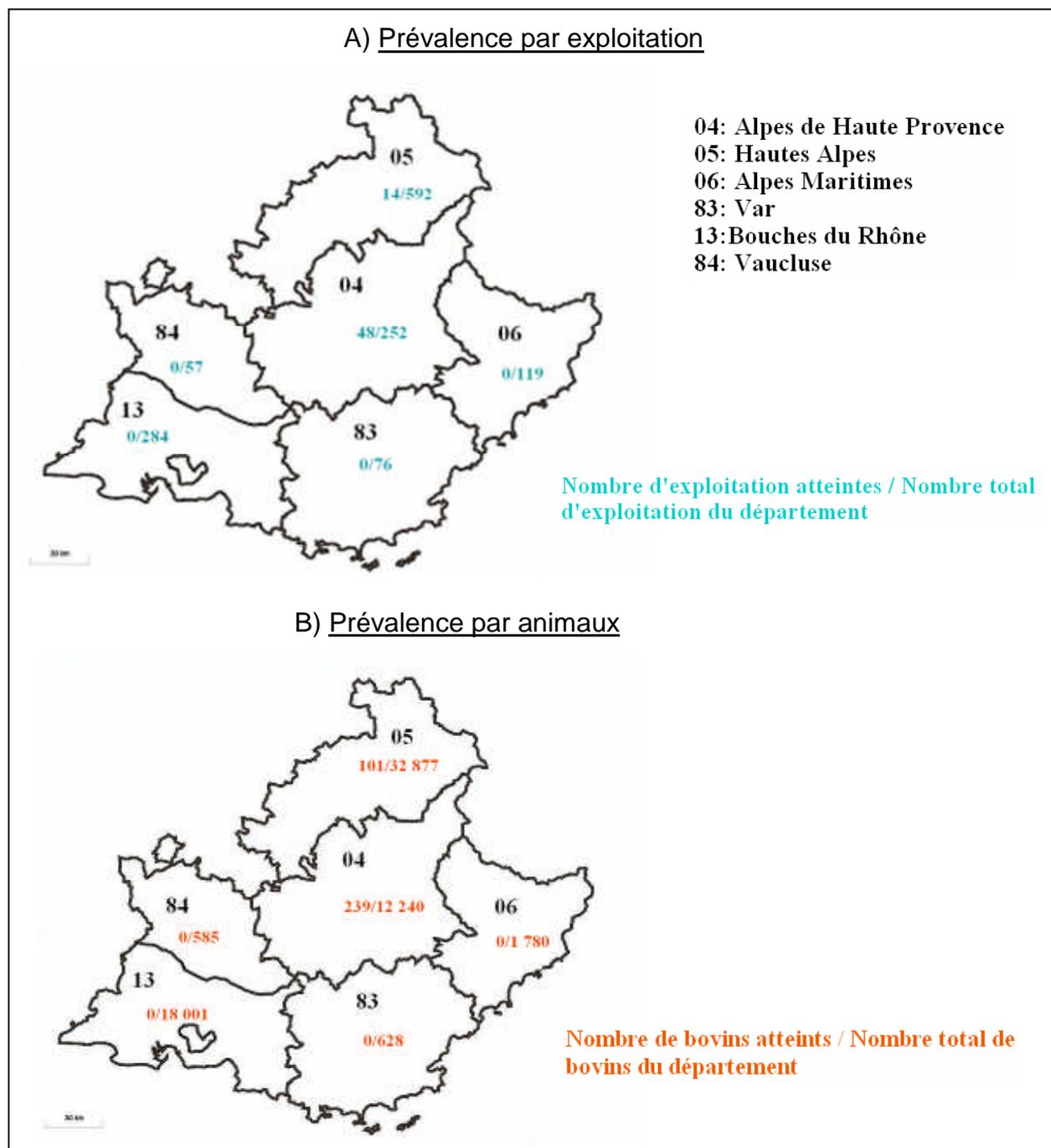
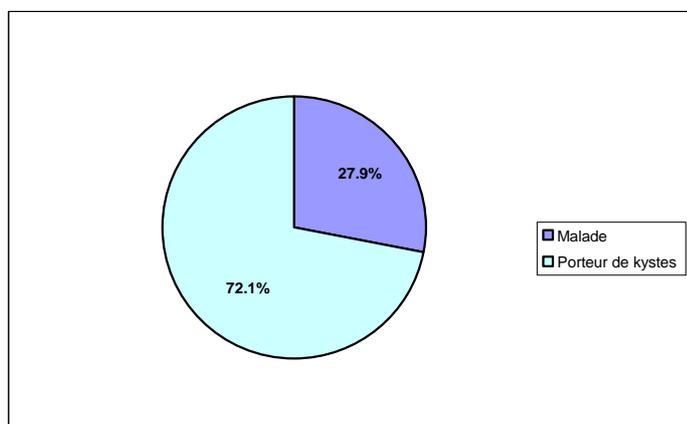


Figure n° 25 : Prévalence globale de la besnoitiose en région PACA, entre avril 2004 et mars 2007

Sur le terrain, on observe deux types d'expression de l'infestation par *Besnoitia besnoiti*, les malades et les porteurs de kystes. On compte 95 animaux malades pour 245 animaux porteurs de kystes, la proportion de porteurs de kystes est environ 2,6 fois supérieure à celle des malades (Figure n° 26).

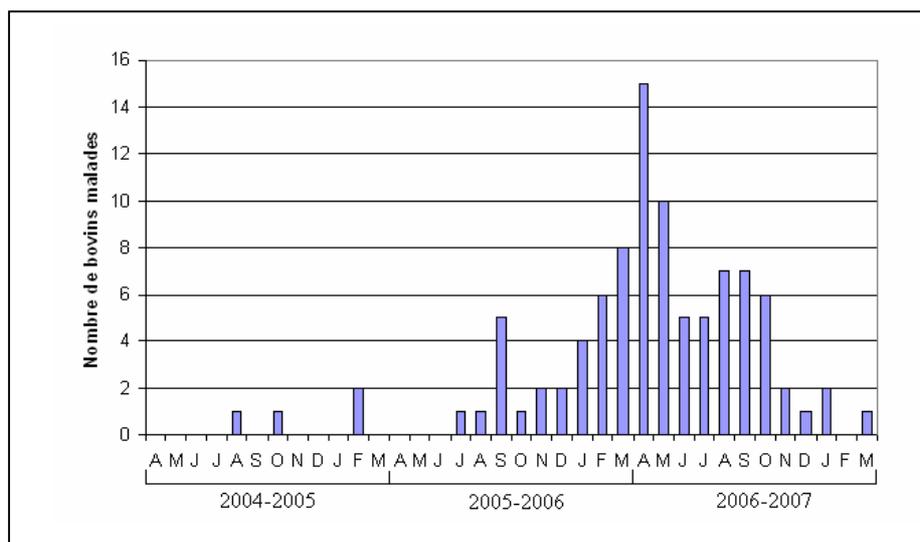


**Figure n° 26 : Répartition des malades et des porteurs de kystes observés sur le terrain entre avril 2004 et fin mars 2007**

## 2. Incidence mensuelle des bovins malades

Seul les malades ont été pris en compte pour suivre la saisonnalité des cas car les porteurs de kystes ne sont en général détectés que lors de la prophylaxie annuelle.

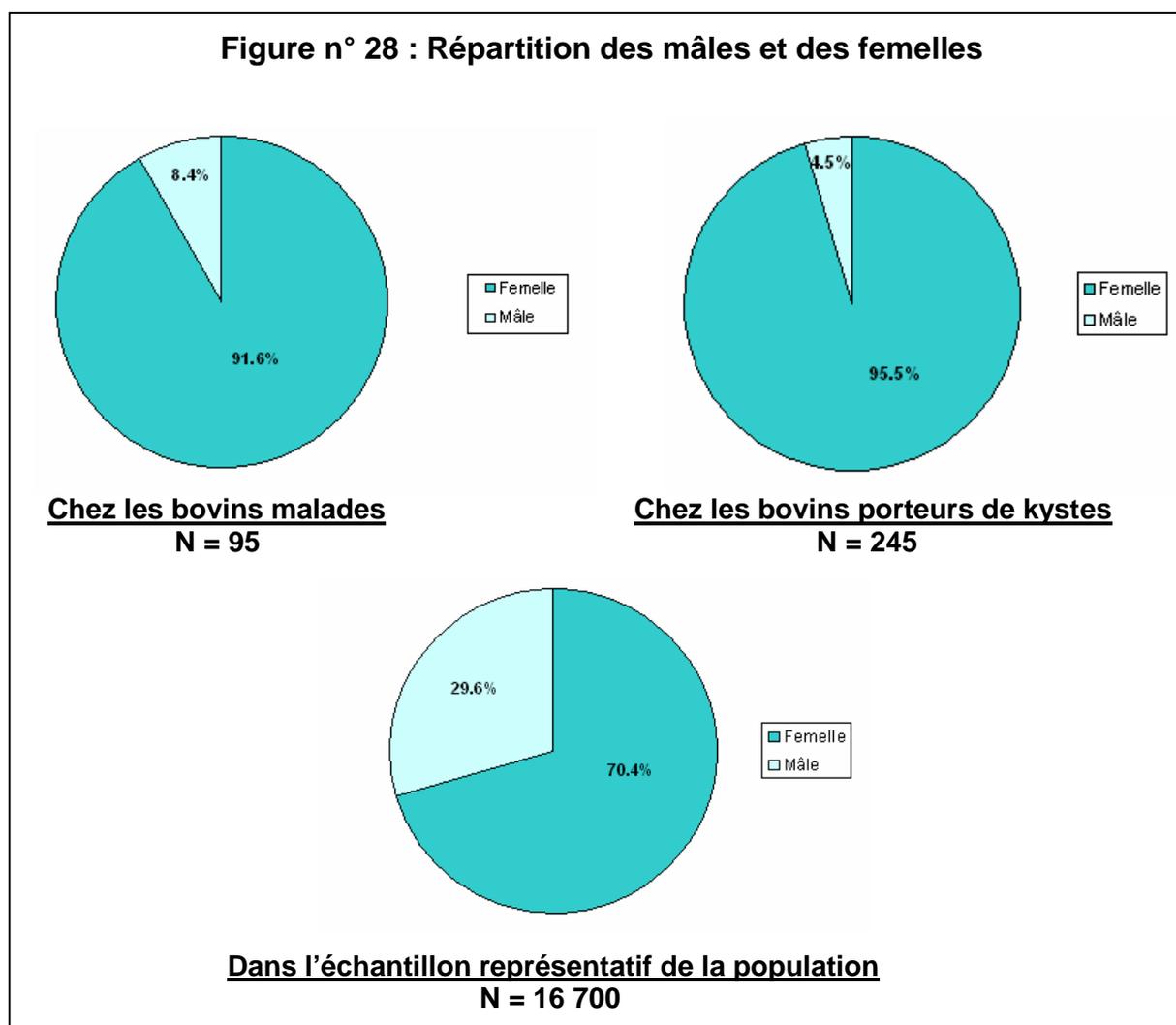
Les cas apparaissent régulièrement depuis le mois de juillet 2005. La période durant laquelle il y a le plus de malades s'étend de mars à octobre 2006, avec un pic en avril. On observe une diminution du nombre de malades en juin et juillet 2006 (Figure n° 27).



**Figure n° 27 : Incidence mensuelle des malades entre avril 2004 et mars 2007**

### 3. Variations en fonction du sexe

Dans la population bovine des départements des Hautes-Alpes et des Alpes-de-Haute-Provence le rapport entre les femelles et les mâles est de 2,4. Mais chez les malades et les animaux porteurs de kystes, ce rapport est respectivement de 10,5 et de 21,2 (Figure n° 28).



D'après le test du Chi-2, la différence de répartition des sexes est très significative entre les malades et l'échantillon de la population totale et entre les porteurs de kystes et l'échantillon de la population totale, par contre elle ne l'est pas entre les malades et les porteurs de kystes (Tableau n° 5). Les femelles sont donc beaucoup plus touchées que les mâles.

**Tableau n° 5 : Résultats des tests de Chi-2 réalisés sur la répartition des sexes**

Test du Chi-2	Valeur de p	Différence
Malades / Echantillon représentatif de la population totale	9.503e-06	<b>Significative</b>
Porteurs de kystes / Echantillon représentatif de la population totale	< 2.2e-16	<b>Significative</b>
Malades / Porteurs de kystes	0,25	<b>Non significative</b>

## 4. Variations en fonction de l'âge

### a) Chez les malades

La plupart des malades sont âgés de 6 ans et moins, il représente 71,6% de la totalité des malades, mais ce sont les animaux de moins de 4 ans qui sont le plus touchés, en effet ils représentent 53,7% de la totalité (Figure n° 29).

Après analyse de la répartition des malades chez les moins de 2 ans, on observe qu'en fait ce sont surtout les animaux âgés de un an et plus qui sont atteints (Figure n° 30).

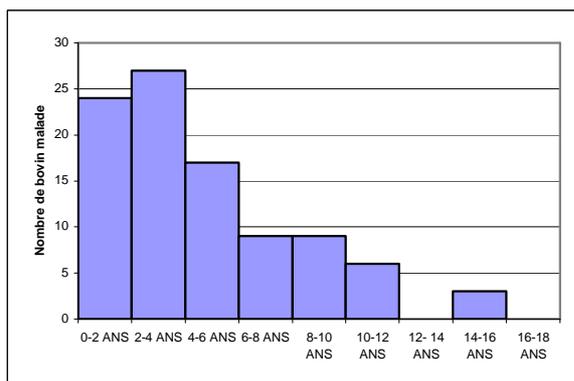


Figure n° 29 : Répartition des malades en fonction de l'âge

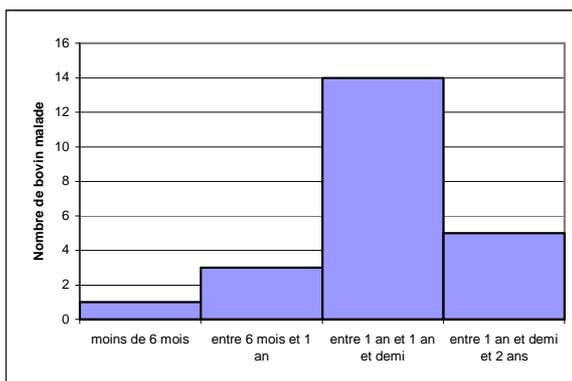


Figure n° 30 : Répartition des malades chez les animaux de moins de 6 mois

### b) Chez les porteurs de kystes

On trouve des porteurs de kystes dans toutes les catégories d'âge mais le nombre est plus important chez les animaux âgés entre 2 et 6 ans. Ces deux catégories représentent 47,7% de tous les porteurs de kystes (Figure n° 31).

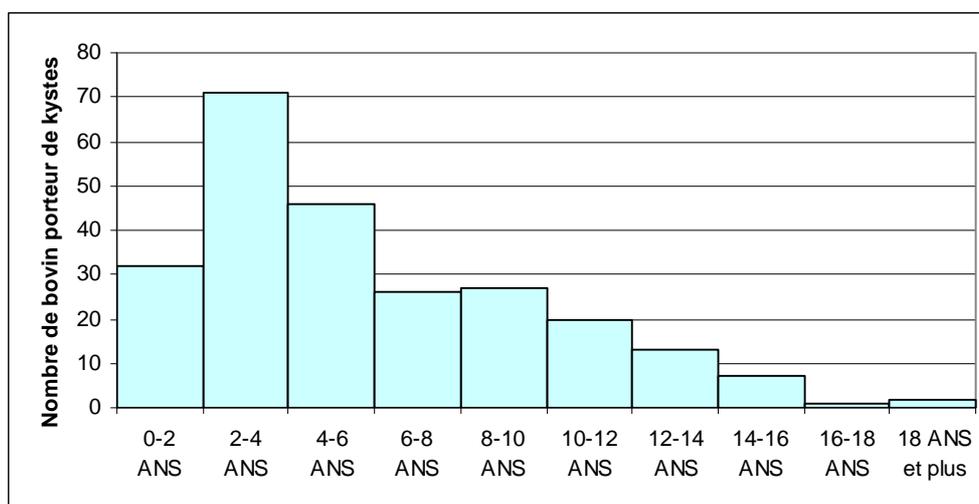
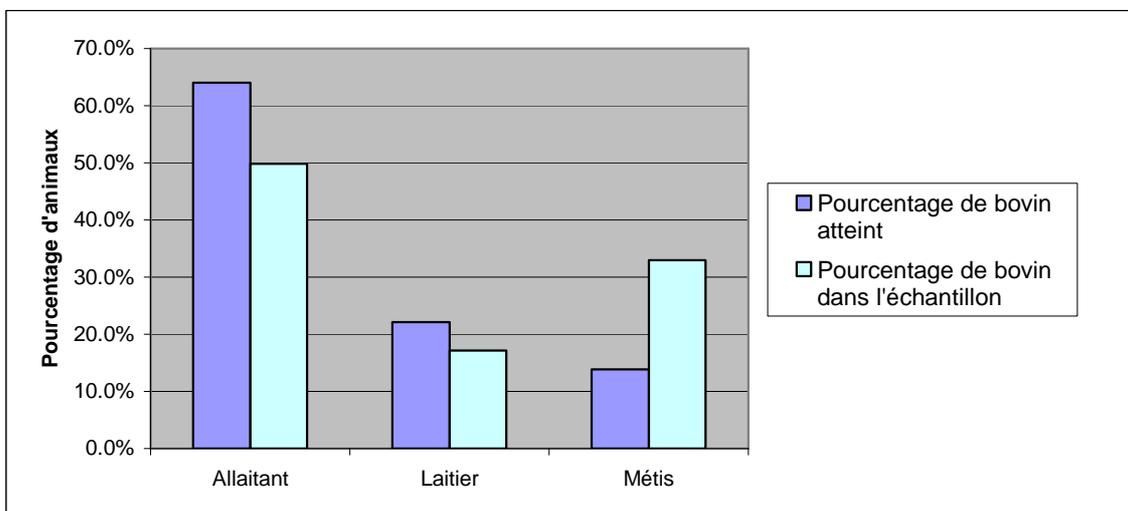


Figure n° 31 : Répartition des animaux porteurs de kystes en fonction de l'âge

## 5. Variations en fonction de la race

Dans un premier temps, afin d'observer la tendance générale, nous avons réalisé 3 grandes classes de races : allaitant, laitier et métis (Figure n° 32).



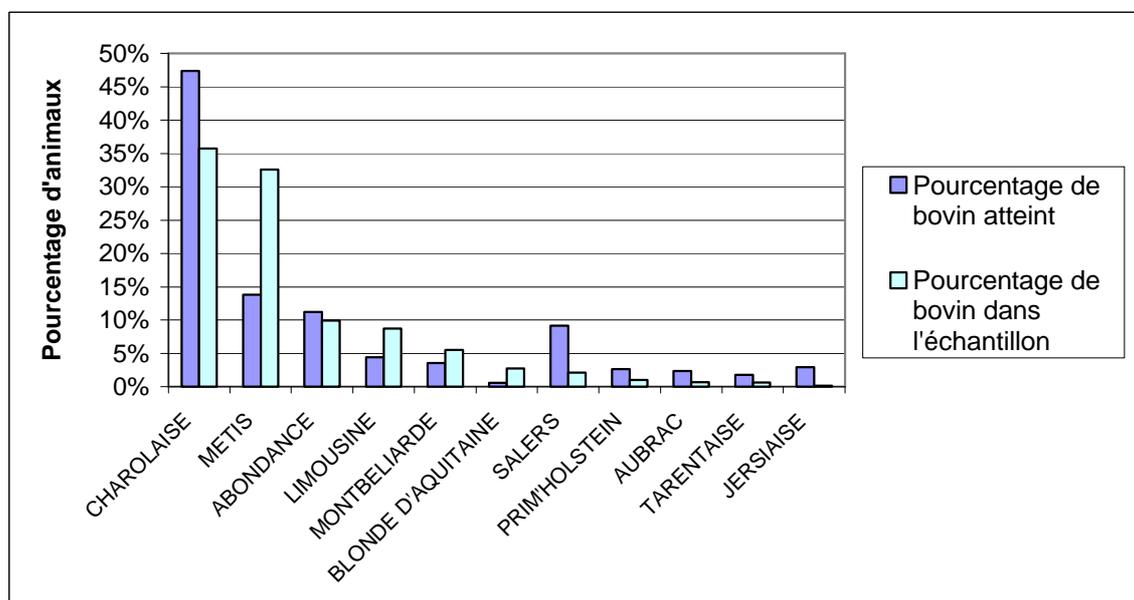
**Figure n° 32 : Répartition des animaux en fonction des trois classes de race**

Lorsque l'on effectue un test du chi-deux entre la population observée et l'échantillon de la population, la valeur de  $p$  est de  $8.58e-13$ , la différence est donc très significative. Les valeurs participant le plus au calcul du chi-2 sont la valeur observée chez les allaitant et celle observée chez les métis. Les allaitants sont 1,3 fois plus touchés que la valeur attendue, alors que les métis le sont 2,4 fois moins (Tableau n° 6).

**Tableau n° 6 : Valeurs observées et valeurs attendues dans les 3 catégories de races**

	Valeurs observées	Valeurs attendues
<b>Allaitant</b>	217	170
<b>Laitier</b>	75	58
<b>Métis</b>	47	111

Les races les plus représentées dans la population totale sont les races charolaise et métis. En nombre c'est la race charolaise la plus touchée, en effet elle représente 47,3% de la totalité des animaux atteints. Par contre les races métis sont beaucoup moins touchées que les autres, seul 13,8% des animaux sont atteints alors qu'elles représentent 32,6% des races dans la population totale (Figure n° 33).



**Figure n° 33 : Répartition des animaux en fonction de la race**

D'après le test du Chi-deux, la différence de répartition des races est très significative entre la population observée et l'échantillon de la population, en effet la valeur du p est inférieure à  $2.2e-16$ . Les valeurs participants le plus au calcul du Chi-deux sont les valeurs observées pour les races Jersiaise, Prim Holstein, Salers et Métis. En effet les Jersiaises sont 10 fois plus atteintes par rapport à la valeur attendue, les Prim Holstein 3 fois plus, les Salers 4,4 fois plus et les Métis 2,7 fois moins (Tableau n° 7).

**Tableau n° 7 : Valeurs observées et valeurs attendues du nombre de bovins atteints dans les différentes races**

	Valeurs observées	Valeurs attendues
Métis	47	111
Charolais	161	121
Abondance	38	34
Tarentaise	6	2
Montbéliarde	12	19
Limousine	15	29
Jersiaise	10	1
Blonde d'Aquitaine	2	9
Salers	31	7
Prim Holstein	9	3
Aubrac	8	2

## 6. Variations en fonction du mode d'élevage

Afin de mettre en évidence un éventuel lien entre le mode d'élevage et l'atteinte par *Besnoitia besnoiti*, nous avons différencié le mode d'élevage allaitant et laitier.

**Tableau n° 8 : Nombre d'animaux des deux catégories de mode d'élevage**

	<b>Allaitant</b>	<b>Laitier</b>
Nombre d'animaux observés	217	75
Nombre d'animaux de l'échantillon	9902	3402

Le test du Chi-deux ne met pas en évidence de différence significative entre les deux modes d'élevage, en effet le p vaut 0,981 (Tableau n° 8).

## B. Evolution dans l'espace et dans le temps

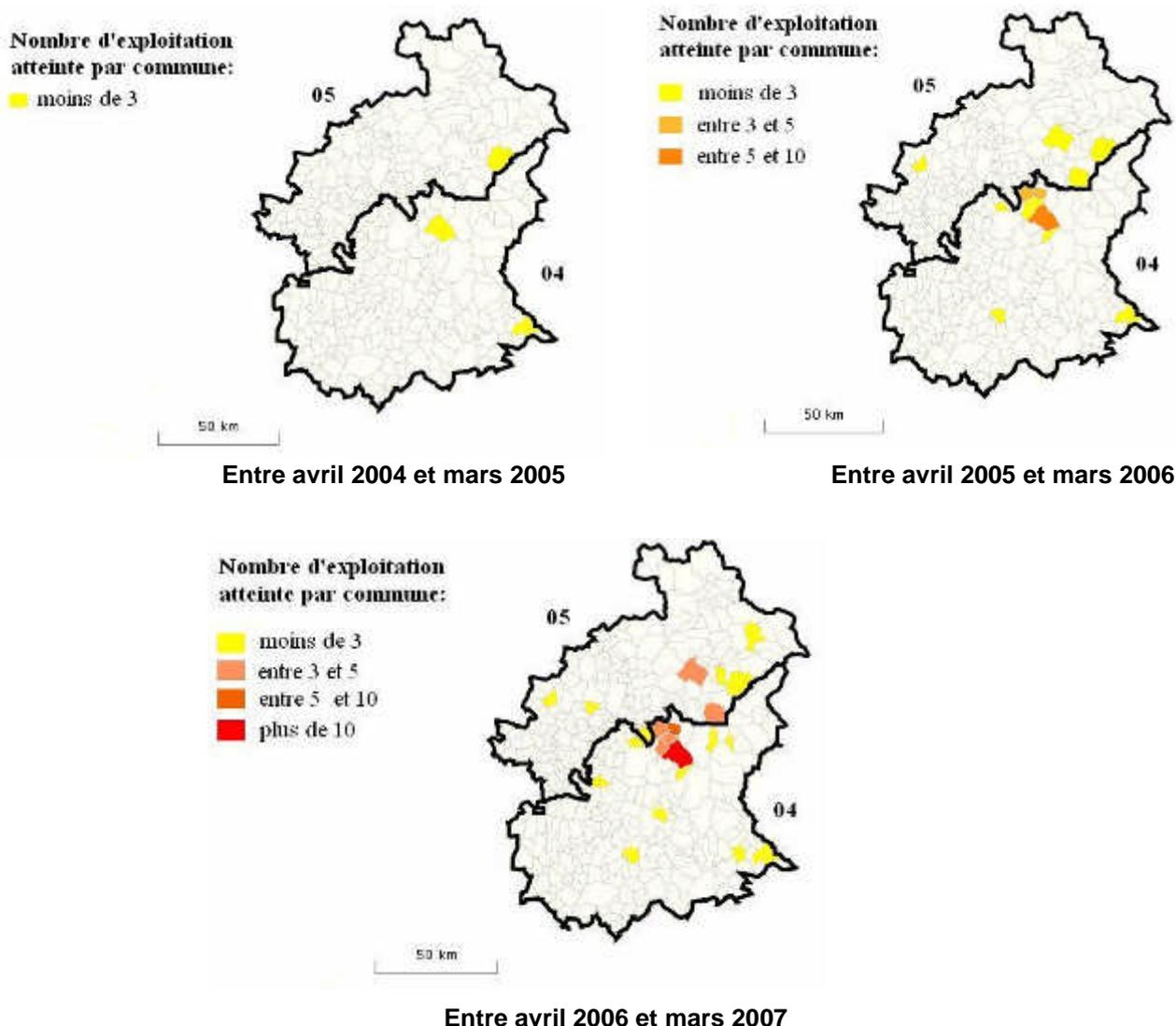
### 1. Evolution géographique (Figure n° 34)

La Besnoitiose bovine s'étend géographiquement dans les départements des Alpes-de-Haute-Provence et des Hautes-Alpes. En effet, entre avril 2004 et mars 2005, seules 3 communes étaient touchées, puis 13 entre avril 2005 et mars 2006, et enfin 23 entre avril 2006 et mars 2007. La plupart des communes touchées sont concentrées sur la limite entre les deux départements.

Dans le département des Alpes-de-Haute-Provence, une des premières communes atteintes et celle regroupant le plus d'exploitations touchées, sur les trois années d'étude, est Seyne les Alpes. Très proche on compte 8 communes atteintes dont 4 regroupant entre 3 et 10 exploitations atteintes.

Dans le département des Hautes-Alpes, la majorité des communes touchées sont regroupées dans l'Embrunnais mais ne se touchent pas. Durant la troisième année d'observation, deux communes regroupent entre 3 et 5 exploitations atteintes.

**Figure n° 34 : Répartition des exploitations atteintes de besnoitiose dans les Alpes-de-Haute-Provence (04) et les Hautes-Alpes (05)**



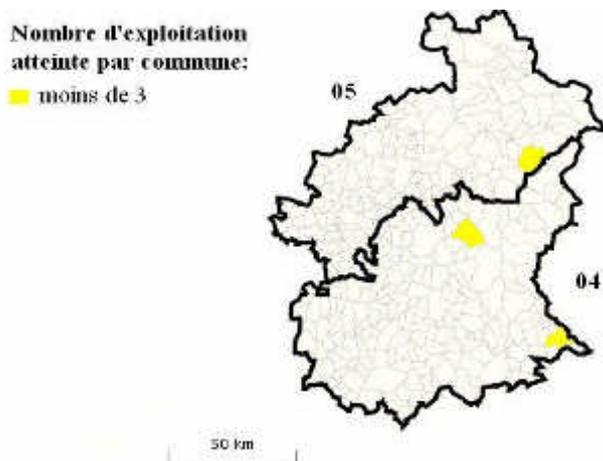
## 2. Evolution dans le temps (Figure n° 35)

L'épicentre semble se situer à la limite entre les deux départements et plus exactement aux alentours de Seyne les Alpes et dans l'Embrunnais. Les nouveaux cas apparaissent en tache d'huile à partir de cet épicentre.

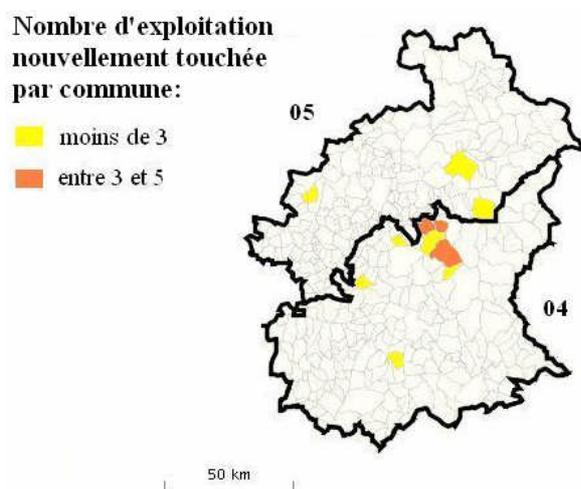
Le foyer principal, c'est à dire la localisation ou il y a le plus d'exploitation nouvellement infectées se situent à Seyne les Alpes et dans les communes avoisinantes. On compte 5 communes dans lesquelles de nouveaux foyers sont détectés.

Le foyer que l'on peut considérer comme secondaire, en terme de nombre d'exploitation nouvellement atteinte, se situe dans l'Embrunnais, c'est surtout entre avril 2006 et mars 2007 que de nouveaux cas apparaissent, on compte 5 commune touchées.

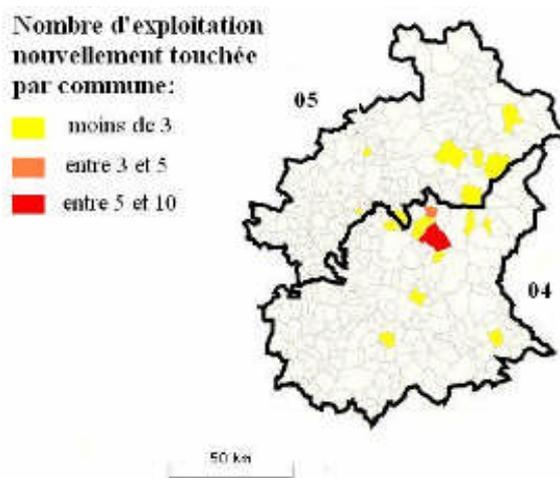
**Figure n° 35 : Répartition des exploitations nouvellement atteintes de besnoitiose dans les Alpes-de-Haute-Provence (04) et les Hautes-Alpes (05)**



Entre avril 2004 et mars 2005



Entre avril 2005 et mars 2006



Entre avril 2006 et mars 2007

Le test du Chi-2 permet d'objectiver l'évolution de la proportion des animaux malades et porteurs de kystes entre avril 2005 et mars 2006 et entre avril 2006 et mars 2007 (Tableaux n° 9 et 10). La première période n'est pas prise en compte car trop peu de cas y ont été déclarés.

La différence entre ces deux périodes est significative, en effet p vaut 0.0002345.

**Tableau n° 9 : Valeurs observées et valeurs attendues chez les malades durant la deuxième et la troisième période d'étude**

<b>Malades</b>	<b>Valeurs observées</b>	<b>Valeurs attendues</b>
avril 2005 à mars 2006	30	18
avril 2006 à mars 2007	61	73

**Tableau n° 10 : Valeurs observées et valeurs attendues chez les animaux porteurs de kystes durant la deuxième et la troisième période d'étude**

<b>Porteurs kystes</b>	<b>Valeurs observées</b>	<b>Valeurs attendues</b>
avril 2005 à mars 2006	35	47
avril 2006 à mars 2007	209	197

# III. Discussion

## A. Matériel et méthode

### 1. Récolte des données

Les données de notre étude sont récoltées par cinq cabinets vétérinaires présents sur le terrain. Les informations concernant les animaux malades sont rapportées après le diagnostic clinique de besnoitiose. Les porteurs de kystes sont recherchés lors de la visite de prophylaxie annuelle, dans tous les élevages de la clientèle de Seyne les Alpes et seulement dans les élevages atteints ou à risque dans les autres clientèles. Donc le dépistage de tous les animaux des départements des Alpes-de-Haute-Provence et des Hautes-Alpes n'est pas systématique, sauf dans la clientèle de Seyne les Alpes. On peut donc supposer que le nombre total de porteurs de kystes est sous estimé.

Dans le cadre de notre étude la FRGDS avait commencé à récolter les données avant notre intervention, nous avons donc adapté nos recherches. Pour l'avenir, afin de faciliter l'interprétation, il serait important d'établir un protocole standard et systématique de récolte des données dans ces deux départements, en fonction des informations recherchées.

### 2. Représentativité des échantillons

La zone d'échantillonnage comprend 53 exploitations et 317 animaux atteints pour 62 exploitations et 340 animaux atteints au totale. La période d'étude (avril 2004 à mars 2007) est comprise à un mois près dans la période d'échantillonnage (janvier 2003 à février 2007), il n'y a eu aucun changement profond de l'élevage dans cette région durant cette période. On peut donc considérer que nos échantillons reflètent la distribution des sexes et des races de la population totale des départements des Alpes-de-Haute-Provence et des Hautes-Alpes, et en particulier dans la zone principale d'épizootie. Dans un souci d'exactitude du sexe ratio tous les animaux de moins de 6 mois n'ont pas été pris en compte pour l'échantillon utilisé pour comparer la répartition des sexes.

On peut donc effectuer des comparaisons, par le test du Chi-deux, entre la population de bovins atteints et les échantillons de la population totale des deux départements étudiés, et tirer des conclusions par rapport à la population totale.

### 3. Test du Chi-deux

Toutes les valeurs attendues de notre étude ne sont pas supérieures à cinq, il s'agit normalement d'une condition nécessaire à l'application du test du Chi-deux (Toma *et al.*, 2001).

Cependant le logiciel R permet de répéter un très grand nombre de fois le même test, ainsi lorsque la valeur obtenue est toujours la même on considère que

l'on peut conserver les petits effectifs (Ihaka, 1996). C'est pourquoi dans notre étude des races, nous avons pu conserver les races Tarentaise, Jersiaise, Prim'Holstein et Aubrac.

## **B. Facteurs de risque**

### **1. La saison**

Dans notre étude on observe une saisonnalité de la maladie, la majorité des cas cliniques s'étalant entre mars et octobre 2006 avec un creux aux mois de juin et juillet. Or dans les études épidémiologiques réalisées précédemment le maximum de cas cliniques était observé de juillet à septembre avec un pic au mois d'août, cette répartition était interprétée par la période d'activité des arthropodes vecteurs (Legrand 2003). Le décalage de saisonnalité entre notre étude et les précédentes pourrait peut-être s'expliquer par l'impact des hausses de températures, lors de l'année 2006, sur l'activité des vecteurs. Cependant pour confirmer cette différence, il est nécessaire de disposer des données des prochaines années.

Par ailleurs, on observe des cas cliniques même en hiver. Cette observation avait déjà été faite dans l'étude de Legrand, de 2003, menée sur dix ans, en Ariège. La période d'incubation étant de 6 à 10 jours (Franc et Cadiergues, 1999), le développement de la maladie en dehors des périodes d'activité des arthropodes vecteurs ne peut pas s'expliquer par une simple transmission vectorielle par des mouches (stomoxes, tabanidés) avec déclaration clinique de la maladie après incubation.

La transmission pourrait alors se faire à partir de bovins chroniquement atteints par l'intermédiaire d'autres arthropodes piqueurs présents dans les élevages en hivers, comme les poux, ou par l'ingestion d'ookystes rejetés par les hôtes définitifs pouvant se contaminer par ingestion d'autres hôtes intermédiaires, comme des rongeurs (Wallace et Frenkel, 1975, Sahun, 1998). Cependant cette dernière hypothèse reste à confirmer car une étude menée par Diesing *et al.* en 1988 n'avait pas permis de mettre en évidence d'ookystes infectants dans les fèces de nombreux carnivores, ou très peu. Afin d'explorer le rôle des rongeurs comme réservoir du parasite, il faudrait rechercher des ookystes dans leur organisme.

Une autre explication est envisageable, l'animal pourrait s'infester durant l'été et rester porteur latent (Alzieu, 1991) pendant une période à l'issue de laquelle le parasite se diffuserait de nouveau dans l'organisme déclenchant des symptômes cliniques, l'événement déclencheur pourrait être un déficit immunitaire (Diesing *et al.*, 1988).

### **2. Le sexe**

Les femelles seraient plus sensibles que les mâles. En effet le test du Chi-deux comparant la répartition des sexes dans la population atteinte et l'échantillon représentatif de la population met en évidence une différence significative aussi bien chez les malades que chez les porteurs de kystes. Cette caractéristique n'avait jamais été mise en évidence précédemment (Goldman et Pipano, 1983, Legrand, 2003).

Cependant, bien que tous les animaux de moins de six mois n'aient pas été pris

en compte, la proportion de mâles dans l'échantillon semble élevée. Il serait judicieux, pour confirmer nos conclusions, de comparer le sexe ratio par classe d'âge.

### 3. L'âge

Dans notre étude la maladie s'observe surtout chez les jeunes animaux, en particulier ceux âgés de un à six ans. On note un nombre légèrement plus élevé de bovins atteints chez les deux à quatre ans et un seul bovin de moins de six mois atteint. Cette sensibilité des plus jeunes vis-à-vis de la maladie avait déjà été décrite précédemment (Alzieu, 2007; Cortes *et al.*, 2005) mais l'atteinte préférentielle des bovins de deux à quatre ans apparaissait plus nettement. Pour confirmer cette différence, il faudrait comparer la répartition des classes d'âge dans la population atteinte et dans la population totale et également vérifier qu'il n'y ait pas de différence de répartition dans ces deux départements par rapport aux autres zones d'endémie. On pourrait également supposer qu'avec une pression d'infection supérieure dans ces départements à celle des autres zones d'endémie, le nombre de bovins atteints soit plus élevé et qu'un plus grand nombre de classe d'âge soit atteint.

On retrouve le plus de porteurs de kystes chez les bovins âgés de deux à six ans, bien que toutes les catégories d'âge soient atteintes. Le nombre de bovins atteints diminue progressivement avec l'augmentation de l'âge, cela pourrait être corrélée à la réforme des animaux.

Dans toutes les zones d'endémie étudiées, la prévalence des malades et des porteurs de kystes est plus importante chez les jeunes animaux. Les jeunes semblent donc être plus sensible, le seuil minimum d'infestation déclenchant des symptômes aigus serait peut-être plus bas.

### 4. La race

On a constaté dans notre étude que les races Jersiaise, Prim Holstein et Salers étaient préférentiellement touchées. C'est la première fois que l'on met en évidence une sensibilité accrue en fonction de la race. Cependant étant donné le faible effectif de ces races nos observations restent à confirmer. En effet dans le calcul du Chi-deux, plus le dénominateur est petit, plus la valeur du Chi-deux est grande (Toma *et al.*, 2001) et donc plus elle participe au calcul du Chi-deux global (Ihaka, 1996).

Par ailleurs il apparaît très nettement que les animaux métissés, donc issus d'un croisement entre races, sont beaucoup moins atteints que les animaux de race pure. On peut alors imaginer qu'il existerait une résistance liée à la génétique plus importante en cas de croisements. Pour approfondir cette hypothèse, il faudrait étudier les croisements de races effectués.

C'est la première fois que l'on met en évidence une sensibilité ou une résistance liées à la génétique des races, auparavant seule une étude, réalisée au Nigeria en 1979, révélait au contraire une plus grande réceptivité des animaux issus d'un triple croisement de races (Kumi-Diaka *et al.*, 1981).

## 5. Le mode d'élevage

Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative du nombre de bovins atteints en fonction du mode d'élevage. Pourtant dans les départements étudiés, la conduite d'élevage est très différente chez les allaitantes et les laitières, en effet seul les troupeaux allaitants et les génisses laitières pratiquent la transhumance lors de laquelle ils sont susceptibles d'être mélangés.

Jusqu'ici on pensait que les troupeaux allaitants étaient plus à risque que les laitiers (Goldman et Pipano, 1983), la période de pâturage étant plus longue, le risque de contact avec le vecteur était augmenté (Legrand, 2003).

Il serait nécessaire d'approfondir les interactions entre bovins, entre bovins et arthropode vecteurs et entre bovins, mammifères sauvages et rongeurs pour comprendre l'absence de différence, alors que les modes d'élevage et donc les risques d'infection semblent bien différents.

### **C. L'épizootie des Alpes-de-Haute-Provence et des Hautes-Alpes**

Le premier cas a été diagnostiqué par analyse d'un prélèvement histologique en août 2004 dans le département des Hautes-Alpes. Maintenant que la maladie est connue dans ces deux départements, il semblerait qu'on puisse suspecter l'apparition de premiers cas sporadiques dès 2002. A partir de 2005 les cas se sont multipliés dans l'Embrunnais, à Seyne les Alpes et dans ces alentours.

L'hypothèse pouvant le mieux expliquer l'apparition de la besnoitiose bovine dans ces départements serait l'introduction d'un animal porteur depuis une zone contaminée. Plusieurs cas seraient envisageables. Il pourrait s'agir d'un animal en phase d'incubation ayant déclaré la maladie après, d'un animal porteur de kystes sans autre signe clinique n'ayant pas été détectés (en effet les kystes passent facilement inaperçus si on ne les recherche pas), ou d'un animal infecté inapparent. Cela soulèverait deux hypothèses. La première serait qu'il existe des porteurs inapparents, c'est-à-dire des animaux infestés par *Besnoitia besnoiti* mais sans aucun signe clinique pas même des kystes oculaires, cela n'a jamais été démontré jusqu'ici. Des tests sérologiques dans des zones contaminées et la recherche parallèle de la présence de kystes oculaires ou non pourraient nous éclairer. La deuxième hypothèse serait que les porteurs inapparents, si ils existent, et les porteurs de kystes sans signes cliniques constitueraient un réservoir pour *Besnoitia besnoiti* malgré la faible quantité de parasite qu'ils renferment.

En épidémiologie il existe trois modes de transmission d'une maladie d'un troupeau infecté à un troupeau indemne, l'introduction, le voisinage et la résurgence. Dans notre cas on ne peut pas prendre en compte l'hypothèse de la résurgence car la maladie n'était pas présente avant. La diffusion de troupeau en troupeau, dans ces deux départements, suivrait donc deux voies, l'introduction à travers les achats et les pensions, et le voisinage, soit lors des mélanges sur les estives de troupeau de différents élevages, soit par voisinage de pâturage sans forcément mélange.

Deux zones endémiques se dégagent de l'étude, l'Embrunnais et Seyne les Alpes et ses alentours. La géographie de ces deux zones étant assez proche, en effet elles sont toutes deux constituées de vallées et de reliefs montagneux, on pourrait s'interroger sur l'impact de celle-ci sur la pérennisation et l'extension de la besnoitiose. Pour étudier ce facteur de risque, il serait intéressant d'analyser précisément le relief des zones atteintes et de le relier à l'écosystème des vecteurs.

Actuellement l'épizootie dans ces deux départements ne s'atténue pas. En effet la comparaison du nombre d'animaux malades et porteurs de kystes entre la deuxième et la troisième période d'étude met en évidence le caractère extensif de l'infection. De plus au vue des chiffres de l'année 2007, l'épizootie continue à progresser avec un pic de cas cliniques aigus de avril à octobre, atteignant des maximum aux mois d'avril, mai, août et septembre.

## **D. Incertitudes liées à la besnoitiose bovine**

Bien que la besnoitiose bovine soit connue depuis de nombreuses années, des éléments épidémiologiques demeurent obscurs.

Le rôle du chat comme hôte définitif est discuté. En effet Peteschiev *et al.*, en 1974 et Wallace et Frenkel, en 1975, démontraient le rôle du chat comme hôte définitif. Alors que Diesing, en 1988, avait recherché, lors d'une étude, des ookystes de *Besnoitia besnoiti* dans les fèces de nombreux *Felidae* et d'autres carnivores infestés expérimentalement, et n'avait mis en évidence qu'un nombre infime d'animaux excréant des ookystes qui n'entraînaient pas le développement de la maladie (Diesing *et al.*, 1988). Par ailleurs l'infestation des chats par ingestion de viande bovine contaminée semblerait très peu probable. C'est pourquoi d'autres cycles épidémiologiques complémentaires seraient envisageables. Ainsi les rongeurs pourraient constituer un hôte intermédiaire dont l'ingestion, plus probable que celle de viande bovine crue, contaminerait le chat qui libérerait ensuite des ookystes infectants. Par ailleurs les mammifères sauvages (renard, genette et chat sauvage) pourraient être hôte définitif, expliquant ainsi la contamination des bovins au pâturage ou les chats sont peu fréquents. On pourrait également penser à la contamination d'ongulés sauvages, hôte intermédiaire, qui constitueraient une autre source de parasites pour les bovins domestiques par transmission vectorielle (Sahun, 1998). Cette dernière hypothèse pourrait expliquer la pérennisation de la maladie dans une zone, malgré l'élimination des bovins malades ou porteurs.

Ainsi le cycle principal serait bien celui faisant intervenir chats, bovins et arthropodes, mais il serait complété par d'autres interactions épidémiologiques.

Par ailleurs, dans les études effectuées précédemment plusieurs hypothèses ont été avancées quant à l'élément infestant. Certains parlent des bradyzoïtes, d'autres des tachyzoïtes, voir des deux. Etant donné que les bradyzoïtes succèdent aux tachyzoïtes dans le cycle parasitaire, il semblerait probable que les deux éléments soient infestant : ainsi les tachyzoïtes interviendraient lors de la phase de parasitémie au début, puis ce seraient les bradyzoïtes, disséminés dans tout le derme, qui agiraient lors de la phase chronique.

Actuellement, en France, deux foyers endémiques sont identifiés, l'Ariège et les Alpes du Sud. Ces deux zones ont une géographie assez proche, en effet elles sont constituées de relief montagneux et de vallées. Ce type de géographie pourrait peut-être expliquer la pérennisation de l'infestation dans ces deux zones alors qu'ailleurs, pour l'instant, seuls des cas sporadiques sont observés.

Sur le terrain, on observe deux types d'expression de besnoitiose bovine : les malades et les porteurs de kystes.

Les malades correspondent aux animaux présentant des signes cliniques caractéristiques d'une ou de plusieurs phases de la maladie. Afin de protéger le reste du troupeau, il serait nécessaire d'isoler ces animaux des autres et de les traiter contre les insectes.

Les porteurs de kystes sont les animaux chez qui on observe uniquement des kystes caractéristiques au niveau de la sclère oculaire. On ne sait pas encore quel rôle épidémiologique et donc quel risque ils représenteraient pour les bovins sains. Il pourrait s'agir de porteurs sains après passage fugace du parasite ou après rémission sans que l'épisode clinique n'ait été observé. Cependant si ils constituaient un réservoir de *Besnoitia besnoiti* pour les animaux sains, la lutte contre l'extension de la maladie passerait par leur élimination. Par ailleurs étant donné la faible quantité de kystes présents dans leur organisme (McCully *et al.*, 1966), la transmission vectorielle semble limitée. Au contraire, on pourrait envisager l'existence d'un seuil minimal d'infestation à l'origine de la formation de quelques kystes conférant une certaine immunité vis-à-vis du développement de la maladie clinique (Bigalke, 1967). Dans ce cas, il serait préférable de les conserver dans les élevages.

Par ailleurs dans certains troupeaux la maladie persiste sous forme clinique alors que dans d'autre elle s'estompe, cela pourrait éventuellement s'expliquer par un statut immunitaire déficient de l'ensemble du troupeau (Wallace et Frenkel, 1975; Diesing, 1988).

Jusqu'ici la transmission à l'homme n'a jamais été confirmée ou infirmée. Aucun signe clinique proche de ceux de la besnoitiose n'aurait jamais été observé chez des éleveurs dont le troupeau était infesté. Pour l'instant il n'y a pas de saisie à l'abattoir due à la présence de kystes si il n'y a pas d'autres signes sur la carcasse ou les viscères.

## **E. Perspectives de travail**

Bien que la voie principale de transmission entre les bovins semble passer par les arthropodes piqueurs, certaines observations effectuées sur le terrain remettent en question la prédominance de cette voie de transmission. Afin d'établir avec certitude le rôle des arthropodes piqueurs, il faudrait mettre en évidence *Besnoitia besnoiti* par PCR dans leur organisme.

Par ailleurs pour confirmer les hypothèses émises précédemment quant à l'existence d'autres hôtes définitifs que le chat, il faudrait rechercher des ookystes infectants chez toutes les espèces susceptibles d'être hôte définitif. Quant aux autres hôtes intermédiaires, la confirmation nécessiterait la recherche de kystes à *Besnoitia besnoiti* dans tout leur organisme ou plus simplement par PCR.

Afin de mesurer l'étendue réelle de la besnoitiose en France, un test sérologique fiable et applicable à grande échelle serait nécessaire. Etant donné les récentes avancées scientifiques, on pourrait espérer que ce test soit disponible rapidement.

### **Conclusion de la discussion**

Désormais, en France, deux zones endémiques de besnoitiose bovine se détachent et de nombreux foyers sporadiques apparaissent de façon dispersée, on est alors amené à se demander si on est pas confronté à une maladie émergente à transmission vectorielle.

Devant l'extension actuelle, il est important de mettre en place un réseau d'épidémiosurveillance, afin de suivre l'évolution de cette maladie, d'approfondir nos connaissances et ainsi pouvoir lutter plus efficacement contre sa propagation.

# CONCLUSION

La besnoitiose bovine, encore mal connue et jusqu'ici limitée au sud-ouest, commence à se diffuser en France. Or depuis quelques années, de nombreux foyers sporadiques apparaissent, en particulier dans les départements des Hautes-Alpes et des Alpes de Haute Provence. Dans ces deux derniers, les premiers cas ont été suspectés au cours de l'année 2002, puis la maladie s'est étendue de manière épidémique. Devant l'inquiétude grandissante des éleveurs et des vétérinaires sur place, nous avons dressé un état des lieux de la situation au sein de ces départements et étudié l'épidémiologie du foyer.

L'infestation par *Besnoitia besnoiti* concerne 7,3% des exploitations bovines des Alpes de Haute Provence et des Hautes-Alpes. L'épizootie s'étend à partir de deux foyers principaux : l'Embrunnais et la vallée de Seyne les Alpes, mais le point de départ reste inconnu.

L'étude épidémiologique réalisée met en évidence une saisonnalité de la maladie avec un regroupement des cas cliniques au printemps, à la fin de l'été et au début de l'automne. Nous avons également montré que les femelles sont plus fréquemment atteintes que les mâles et que la plupart des animaux infestés par *Besnoitia besnoiti* ont entre 1 et 6 ans. Par ailleurs contrairement à ce qui a été pensé précédemment, nous n'avons pas pu mettre en évidence de facteur de risque lié au mode d'élevage, ce serait plutôt la race, donc la génétique, qui serait en cause. En effet les animaux métissés sont beaucoup moins atteints que les autres. Cependant, pour confirmer ces résultats, il serait nécessaire d'approfondir l'étude épidémiologique, en séparant les métis allaitants des métis laitiers et en prenant en compte les facteurs de risque liés aux mouvements d'animaux et en particulier ceux effectués lors de la transhumance.

A l'échelle nationale et internationale, afin de limiter l'extension de la besnoitiose bovine sans limiter la commercialisation, il serait nécessaire de mettre rapidement en place un dépistage sérologique des bovins issus de zones contaminées.

**Le professeur responsable  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon**

**Vu : Le Directeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon**

**Le président de la thèse**

Pour le Directeur et par délégation,  
**LA DIRECTRICE DE L'ENSEIGNEMENT**

**Professeur Françoise GRAIN**

**Vu et permis d'imprimer**

Lyon, le

**18 DEC.**

**Pour le président de l'Université,**

**Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,  
Professeur F.N GILLY**



# Bibliographie

- 1 - ALZIEU J.-P. (1991) - La besnoitiose bovine ou anasarque des bovins. Bulletin des GTV, 6, 157-161
- 2 - ALZIEU J.P. (2007) - L'extension de la besnoitiose bovine en France. Le Point vétérinaire, 276, 37-43
- 3 - BASSON P.A., McCULLY R.M., BIGALKE R.D. (1970) – Observations on the pathogenesis of bovine and antelope strains of *Besnoitia besnoiti*. Infection in cattle and rabbits. Onderstepoort journal veterinary research, 37, 2, 105-126
- 4 - BIGALKE R. D. (1967) – The artificial transmission of *Besnoitia besnoiti* from chronically infected to susceptible cattle and rabbits. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 34, 303-316
- 5 - BIGALKE R. D. (1968) - New concepts on the epidemiological features of bovine besnoitiosis as determined by laboratory and field investigations. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 35, 3-138
- 6 - BIGALKE R. D., VAN NIEKERK J. W., BASSON P. A., McCULLY R. M. (1967) – Studies on the relationship between *Besnoitia* of blue wildebeest and impala, and *Besnoitia besnoiti* of cattle. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 34, 7-28
- 7 - CORTES H., LEITAO A., VIDAL R., VILA-VICOSA M.J., FERREIRA M. L., CAEIRO V., HJERPE C. A. (2005) – Besnoitiosis in bulls in Portugal. The Veterinary Record, 157, 9, 262-267
- 8 - CORTES H., NUNES S., REIS Y., STAUBLI D., VIDAL R., SAGER H., LEITAO A., GOTTSTEIN B. (2006a) – Immunodiagnosis of *Besnoitia besnoiti* infection by ELISA and Western blot. Veterinary Parasitology, 141, 216-225
- 9 - CORTES H., REIS Y., WAAP H., VIDAL R., SOARES H., MARQUES I., PEREIRA DA FONSECA I., FAZENDEIRO I., FERREIRA M.L., CAEIRO V., SHKAP V., HEMPHILL A., LEITAO A. (2006b) – Isolation of *Besnoitia besnoiti* from infected cattle in Portugal. Veterinary Parasitology, 141, 226-233
- 10 - CORTES H., REIS Y., GOTTSTEIN B., HEMPHILL A., LEITAO A., MULLER N. (2007) – Application of conventional and real-time fluorescent ITS1 rDNA PCR for detection of *Besnoitia besnoiti* infections in bovine skin biopsies. Veterinary Parasitology, 146, 352-356
- 11 - DIESING L., HEYDORN A.O., MATUSCHKA F. R., BAUER C., PIPANO E., DE WAAL D. T., POTGIETER F. T. (1988) – *Besnoitia besnoiti*: Studies on the definitive host and experimental infections in cattle. Parasitology Research, 75, 114-117
- 12 - DUBEY J.P. (1993) – *Toxoplasma, Neospora, Sarcocystis*, and other tissue cyst-forming coccidia of Humans and Animals. In: KRELER J.P., Parasitic Protozoa 2d edition, vol.6, Academic Press INC, San Diego, 1-158

- 13 - EL-HADEF ELOKKI-BOUCHAIR G. (1987) – Contribution à l'étude de *Besnoitia besnoiti*. Développement chez les animaux de laboratoire, essai d'application au diagnostic de la besnoitiose bovine par réaction d'IFI. Mémoire de maîtrise en science vétérinaire, Alfort, 117pp.
- 14 - ELLIS J.T., HOLMDAHL O.J., RYCE C., NJENGA J.M., HARPER J.M., MORRISON D.A.(2000) – Molecular phylogeny of *Besnoitia* and the genetic relationships among *Besnoitia* of cattle, wildebeest and goats. *Protist*, 151, 329-336
- 15 - EUZEBY J. (1980) – Les coccidies parasites du chien et du chat: incidences pathogéniques et épidémiologiques. *Revue de Médecine Vétérinaire.*, 131, 1, 43-61
- 16 - EUZEBY J. (1987) - Protozoologie médicale comparée, vol. II, Fond Marcel Mérieux, Lyon,
- 17 - FERRIE J. (1984) – La besnoitiose bovine: revue bibliographique, observations personnelles. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse, 288 pp.
- 18 - FRANC M. (1996) – La besnoitiose bovine. In : Société française de buiatrie (eds.). Protozooses bovines actualités, Annecy, 3 Octobre 1996, Fondation Mérieux, Lyon, 47-55
- 19 - FRANC M. (1997) – La lutte chimique contre les mouches responsables de nuisances chez les bovins. *Le point vétérinaire*, 28, numéro spécial « Parasitologie des ruminants », 147-153
- 20 - FRANC M., GOURREAU J.-M., FERRIE J. (1987) – La besnoitiose bovine. *Le Point Vétérinaire*, 19, 107, 445-455
- 21 - FRANC M., CADIERGUES M.-C. (1999) – La besnoitiose bovine: attitude diagnostique et thérapeutique. *Bulletin des GTV*, 2, 45-50
- 22 - GOLDMAN M., PIPANO E. (1983) – Serological studies on bovine besnoitiosis in Israel. *Tropical Animal Health Production*, 15, 32-38
- 23 - IHAKA R. (1996) - Gentleman, R., R: a language for data analysis and graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 5, 299-314
- 24 - IRIGOIEN M., DEL CACHO E., GALLEGO M., LOPEZ-BERNARD M., SANCHEZ-ACEDO C. (2000) – Immunohistochemical study of the cyst of *Besnoitia besnoiti*. *Veterinary Parasitology*, 91, 1-6
- 25 - KUMI-DIAKA J., WILSON S., SANUSI A., NJOKU C.E., OSORI D. I. K. (1981) – Bovine besnoitiosis and its effect on the male reproductive system. *Theriogenology*, 16, 5, 523-530
- 26 - LEGRAND P. (2003) – La besnoitiose bovine en Ariège. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse, 87 pp.

- 27 - McCULLY R. M., BASSON P. A., VAN NIEKERK J. W., BIGALKE R. D. (1966) – Observations on *Besnoitia besnoiti* cysts in the cardiovascular system of some wild antelopes and domestic cattle. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 33, 245-276
- 28 - NOBEL T.A., NEUMANN M., KLOPFER U., PERL S. (1977) – Kystes de *Besnoitia besnoiti* dans les organes génitaux de la vache. Bulletin de l'académie vétérinaire de France, 50, 569-574
- 29 - NOBEL T.A., KLOPFER U., PERL S., NYSKA A., NEUMANN M., BRENNER G. (1981) – Histopathology of genital besnoitiosis of cows in Israel. Veterinary Parasitology, 8, 271-276
- 30 - OHAYON C.R. (1986) – La besnoitiose bovine bibliographie et travaux expérimentaux. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine de Créteil, 89 pp.
- 31 - POLS J.W. (1960) – Studies on bovine besnoitiosis with special reference to the aetiology. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 28, 265-356
- 32 - REIS Y., CORTES H., VISEU MELO L., FAZENDEIRO I., LEITAO A., SOARES H. (2006) – Microtubule cytoskeleton behavior in the initial steps of host cell invasion by *Besnoitia besnoiti*. FEBS letters, 580, 4673- 4682
- 33 - SANNUSI A. (1991) – A simple field diagnostic smear test for bovine besnoitiosis. Veterinary Parasitology, 39, 185-188
- 34 - SAHUN S. (1998) – La besnoitiose bovine en France: mise a point d'un test ELISA et enquête sur le terrain. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse, 114pp.
- 35 - SEKONI V. O., SANUSI A., ABATAN M. O. I., OYEDIPE E. O., REKWOT P. I., EDUVIE L. O. (1992) – Loss of libido and terminal sterility in a Fresian bull naturally infected with *Besnoitia besnoiti* in Northern Nigeria : A case report. Theriogenology, 37, 2, 533-549
- 36 - SHKAP V., UNGAR-WARON H., PIPANO E., GREENBLATT C. (1984) – Enzyme linked immunosorbent assay for detection of antibodies against *Besnoitia besnoiti* in cattle. Tropical animal health production, 16, 233-238
- 37 - SHKAP V., YAKOBSON B. A., PIPANO E. (1988) – Transmission and scanning electron microscopy of *Besnoitia besnoiti*. International Journal for Parasitology, 18, 6, 761-766
- 38 - SHKAP V., BIN H., LEOVICH B., PIPANO E. (1991) – *Besnoitia besnoiti*: quantitative in vitro studies. Veterinary Parasitology, 39, 207-213
- 39 - SHKAP V., PIPANO E., MARCUS S., KRIGEL Y. (1994) – Bovine besnoitiosis: transfer of colostral antibodies with observations possibly relating to natural transmission of the infection. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 61, 3, 273-275

40 - SHKAP V., PIPANO E., ZWERNEMANN B. (1995) – Activity of a monoclonal antibody against *Besnoitia besnoiti* endozoites. *Veterinary Research*, 26, 328-334

41 - SHKAP V., RESKE A., PIPANO E., FISH L., BASZLER T. (2002) - Immunological relationship between *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti*; *Veterinary Parasitology*, 106, 35-43

42 - TOMA B., DUFOUR B., SANAA M., BENET J.J., SHAW A., MOUTOU F., LOUZA A. (2001) – Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures, 2<sup>o</sup> édition,

43 - WALLACE G. D., FRENKEL J. K. (1975) – *Besnoitia* Species (Protozoa, Sporozoa, Toxoplasmatidae): Recognition of Cyclic Transmission by Cats. *Science*, 188, 369-371

**FREUDIGER Isabelle** - La besnoitiose bovine : étude épidémiologique de l'épizootie des Alpes-de-Haute-Provence et des Hautes-Alpes

**Thèse Vétérinaire** : Lyon 2008

**RESUME :**

La besnoitiose bovine s'étend en France depuis quelques années. Pourtant son épidémiologie demeure incertaine. A travers l'étude du foyer épizootique des Alpes-de-Haute-Provence et des Hautes-Alpes, nous avons dégagé les caractéristiques épidémiologiques de ce foyer.

**MOTS CLES :**

- BESNOITIOSE BOVINE
- PARASITOLOGIE
- DERMATOSE CHRONIQUE
- EPIDEMIOLOGIE

**JURY :**

Président :	Monsieur le Professeur PEYRON
1er Assesseur :	Monsieur le Professeur ZENNER
2ème Assesseur :	Madame le Professeur CHALVET-MONFRAY
Invité :	Monsieur le Professeur PIN

**DATE DE SOUTENANCE :**

18 janvier 2008

**ADRESSE DE L'AUTEUR :**

199 rue de Villard  
01210 ORNEX