

Sommaire

<i>Sommaire</i>	11
<i>Introduction et historique</i>	17
<i>Epidémiologie</i>	21
1. Epidémiologie descriptive	24
a. Répartition géographique	24
i. Histoire des foyers français	24
ii. Répartition mondiale	25
b. Animaux atteints	26
i. Espèces	26
ii. Age	27
iii. Sexe	28
iv. Mode d'élevage	28
c. Saison	30
d. Besnoitiose maladie/portage asymptomatique	31
2. Epidémiologie analytique	32
a. Transmission lors de cohabitation	32
b. Transmission iatrogène	34
c. Rôle des arthropodes piqueurs	34
i. Mouche tsétsé (<i>Glossina brevipalpis</i>)	35
ii. Tabanidés	35
iii. Stomoxes (<i>Stomoxis calcitrans</i>)	37
iv. Culex et autres moustiques	37
v. Conclusion partielle sur les arthropodes	37
d. Autres type de transmission	38
e. Transmission par ingestion d'oocystes	39
i. Travaux de Peteshev	39
1. Première expérience	39
2. Deuxième expérience	39

3.	Troisième expérience	40
ii.	Travaux de Diesing	40
iii.	Conclusion partielle	41
3.	Epidémiologie synthétique	41
a.	Le cycle primaire	41
b.	Le cycle secondaire	42
	<i>Etude du parasite</i>	45
1.	Place dans la classification	47
a.	Classification à partir de critères phénotypiques	47
b.	Classification à partir de critères moléculaires	48
c.	<i>Besnoitia besnoiti</i> et <i>Besnoitia caprae</i>	50
d.	<i>Besnoitia besnoiti</i> souche bovine et <i>Besnoitia besnoiti</i> souche sauvage	50
2.	Morphologie	51
a.	Le kyste	51
b.	Les zoïtes	54
i.	Le cytosquelette	54
ii.	Le complexe apical	55
iii.	Les membranes	56
iv.	Organelles	56
v.	Les bradyzoïtes	56
vi.	Les tachyzoïtes, forme proliférative	57
vii.	Les oocystes	57
3.	Culture et isolement de souches	59
a.	Intérêt de la culture de souches de <i>Besnoitia besnoiti</i>	59
b.	Type de cellule utilisé	59
c.	Conditions optimales	60
d.	Les infections expérimentales	60
i.	Rongeurs et lagomorphes	60
ii.	Ruminants	60
4.	Résistances aux agents physiques, chimiques et biologiques	61
a.	Résistance des formes prolifératives dans le sang	61

i.	Travaux de Cuillé, Chelle et Berlureau en 1936 _____	61
ii.	Travaux de Pols en 1960 _____	61
b.	Résistance dans les kystes _____	63
5.	Physiopathologie (à partir de différents apicomplexa) _____	64
a.	Le déplacement des parasites extracellulaires _____	64
b.	Le mode d'invasion des cellules hôtes _____	64
c.	La formation des pseudokystes et des kystes _____	65
d.	La reproduction asexuée (sur cultures cellulaires) _____	68
e.	La reproduction sexuée _____	70
	<i>Symptômes et lésions</i> _____	71
1.	Symptômes _____	73
a.	Phase fébrile _____	73
b.	Phase des œdèmes _____	73
c.	Phase de sclérodermie _____	74
d.	Atteinte de l'appareil reproducteur _____	79
i.	Chez le mâle _____	79
ii.	Chez la femelle _____	79
2.	Lésions _____	79
a.	Lésions macroscopiques _____	79
b.	Lésions microscopiques _____	81
i.	Phase fébrile et phase des œdèmes _____	81
ii.	Phase de sclérodermie _____	82
	<i>Diagnostic</i> _____	85
1.	Suspicion épidémiologique _____	87
2.	Diagnostic clinique _____	87
a.	A partir des symptômes généraux _____	87
b.	A partir des symptômes cutanés et oculaires _____	87
3.	Diagnostic différentiel _____	88
a.	Symptômes généraux _____	88
b.	Symptômes cutanés _____	88

4. Diagnostic expérimental	89
a. Diagnostic direct au microscope	90
a. Histologie	90
b. Cytologie	90
b. Diagnostic biologique	91
a. Les différentes méthodes existantes	91
i. Le SFT (Sabin Feldman Dye Test)	91
ii. La fixation du complément	91
iii. L'immunodiffusion en gel	91
iv. L'immunofluorescence indirecte (IFT, IFAT)	92
v. L'ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay	92
vi. Le Western Blot	92
vii. Les PCR	93
b. Les comparaisons des méthodes de diagnostic	94
c. Conclusion partielle	95
Traitement	97
1. Diurétiques et saignées	99
2. Formol et Lugol	99
3. Anti-infectieux	99
a. Travaux de Pols en 1960	99
b. Travaux de Shkap en 1985 et 1987	100
i. <i>In vivo</i> sur des gerbilles et <i>in vitro</i>	100
ii. Sur des lapins	100
c. Travaux de Cortes en 2007	101
4. Sur le terrain en France	101
a. Traitement en phase aigue ou en phase des œdèmes	101
b. Traitements en phase de sclérodermie	102
Prophylaxie	105
1. Prophylaxie médicale	107
a. Développement d'un vaccin vivant	107
b. Pistes de recherche d'un vaccin inactivé :	109

2. Prophylaxie sanitaire	110
a. En zone indemne	110
b. En zone d'enzootie	110
1. Elimination des sujets porteurs de parasites	110
2. Contrôle des arthropodes piqueurs	112
i. Lutte contre les mouches adultes sur les bovins	112
ii. Lutte contre les mouches dans le milieu extérieur	113
Conclusion	115
Table des figures :	119
Table des tableaux	121

Introduction et historique

Rapport-Gratuit.com

La besnoitiose bovine est une maladie des bovins provoquée par le protozoaire *Besnoitia besnoiti*. Elle est connue depuis l'antiquité, en effet, Caton en parle sous le nom d'éléphantiasis des bovins.

En 1884, Cadéac décrit les symptômes de « l'éléphantiasis ou anasarque des bovins » chez des bovins du sud de la France (21).

Le parasite responsable a été décrit pour la première fois par Besnoit et Robin en 1912 en France sur une vache infectée chroniquement (6). Ils parlent alors de sarcosporidiose cutanée. Mais Marotel, en 1912, met le doigt sur le fait que jamais chose identique n'avait été décrite et décide de nommer le parasite en cause *Sarcocystis besnoiti* en l'honneur de Besnoit.

En 1916, Franco et Borges (46) publient que cette maladie est très commune dans certains abattoirs portugais. Ils observent que la peau n'est pas l'unique organe touché. Ils décrivent de nombreux kystes dans les aponévroses musculaires des animaux contaminés « cela fait comme du sable ». Par mesure de précaution, la viande de ces animaux atteints était considérée comme impropre à la consommation humaine.

Jusqu'à Babudieri (1932) et Enigk (1934), le parasite est considéré comme faisant parti des coccidies intestinales (Eiméridés, Globidés). Mais en 1953, Jellison décrit des kystes blancs contenant de nombreux éléments parasitaires sur une souris et Frenkel montre que ce nouveau parasite se multiplie par division binaire comme *Toxoplasma gondii*. En 1954, Pols montre que *Besnoitia besnoiti* se multiplie aussi par fission/division binaire et que sa morphologie est identique à *Toxoplasma gondii*.

Cette maladie chronique n'est responsable que d'une mortalité assez faible. Cependant, elle entraîne de lourdes pertes économiques dans les régions du monde touchées : les animaux infectés, s'ils ne meurent pas, deviennent alors des non-valeurs économiques soit par infertilité soit par baisse de production.

La besnoitiose est une maladie en expansion, aussi bien en Europe où elle est de plus en plus présente que dans notre pays où de plus en plus de départements sont atteints.

Les traitements réalisables sur le terrain ne permettent pas la guérison totale des animaux touchés et il n'existe pas de traitement efficace en phase chronique.

En plus du diagnostic clinique ou histologique de nouvelles méthodes ont été développées pour permettre un diagnostic plus rapide et pour mener à bien des enquêtes épidémiologiques.

Une bonne connaissance de cette maladie devrait permettre de mieux la diagnostiquer, de comprendre les modifications épidémiologiques et de mettre en œuvre des mesures de lutte adaptées.

Epidémiologie

1. Epidémiologie descriptive

a. Répartition géographique

i. Histoire des foyers français

1. Foyer pyrénéen ou du Sud ouest (42)

La besnoitiose était endémique dans de nombreuses zones du Sud-ouest de la France entre 1800 et 1960 (bordure sud du Massif Central, hautes vallées de l'Aude, Gers, Hautes Pyrénées, Adour et Ouest Gironde).

On peut le subdiviser en 7 foyers principaux :

- Sainte Affrique, Castres, Castelnaudary : la maladie y était enzootique mais il semble que ce foyer ait disparu dans les années 1970.
- Entre Fleurance et Nérac, du Gers au Lot et Garonne : la besnoitiose y était enzootique à la fin du siècle dernier avec des phases épizootiques durant les étés chauds et secs qui ont eu lieu en 1893 et 1900. La maladie s'y est raréfiée. En 1983, elle y avait quasiment disparue.
- Autour de Tarbes : la maladie y a été sporadique mais semble avoir disparue.
- Autour de Sainte Foy la Grande (Lot et Garonne, Gironde, Dordogne) : c'est le plus vieux foyer connu en France. Il semble avoir disparu dans le courant de la seconde moitié du XIX^{ème} siècle.
- Pyrénées Atlantiques, Pays Basque : la maladie y était enzootique avec des flambées épizootiques, elle n'y est plus présente aujourd'hui.
- Toulouse, Muret : la maladie y est connue dès le XIX^{ème} siècle. Elle y est toujours présente de nos jours de manière sporadique.
- Hautes vallées de l'Aude et de l'Ariège : ce foyer, mis en évidence vers 1950 existe encore de nos jours, il est même en extension (66).

Ainsi, des foyers de besnoitiose ont disparus. Entre 1970 et 1980, la maladie s'est retrouvée confinée aux Hautes vallées de l'Aude et de l'Ariège.

Mais, à partir de 1990, le nombre de cas de besnoitiose a augmenté et la maladie s'est rapidement étendue aux régions voisines. Elle est aussi présente aujourd'hui dans le Gers (4).

2. *Extension en France*

A partir des années 1990, des foyers de besnoitiose ont été signalés dans des zones dispersées (Hautes Pyrénées, Massif Central, Deux Sèvres) puis de façon plus groupés dans les Alpes à partir de 2001 et enfin par foyers localisés à l'Ouest et dans les pays de la Loire (1).

En effet, depuis 2002, des cas de besnoitiose ont été repérés dans le Haut Queyras (05, Hautes Alpes) et dans le massif du Parpaillon, en région PACA. Dans 55 élevages, deux cent cinquante bovins étaient touchés.

En 2004, la besnoitiose est diagnostiquée dans le Var

En 2005, elle est diagnostiquée à Monteynard, dans l'Isère.

La Figure 2 montre les départements français dans lesquels la besnoitiose est présente.

ii. Répartition mondiale

Bien que décrite pour la première fois en France, la besnoitiose bovine est une maladie des pays subtropicaux et méditerranéens (Figure 1).

Elle a été observée en Afrique du Sud pour la première fois par Homeyr en 1945 et elle est endémique dans certaines régions comme le Transvaal (8, 85).

En Israël, elle a été décrite initialement par Neumann (72) en 1960 chez des vaches allaitantes.

En Ouganda, elle a été décrite pour la première fois sur des bovins *Bos indicus* en 1968 par Bwangamoi (17).

Au Kazakhstan, c'est Khvan (63) qui fait le premier rapport de besnoitiose en 1968 également.

En Corée du Sud (65), Lee fait montré que la besnoitiose était endémique en 1970.

En Europe, elle est présente dans les pays méditerranéens.

Au Portugal, elle est décrite depuis la fin du XIX^{ème} siècle (46).

En Espagne (58, 67), elle a été décrite pour la première fois en 2000. Elle ne semble pas avoir une grande importance économique.

En Italie, la besnoitiose est connue depuis 1994 (50). Elle est aussi présente dans la zone frontalière avec la France dans les Alpes Maritimes (68).

Elle pose depuis des décennies de gros problèmes économiques dans des régions d'Afrique du Sud, ainsi qu'au Kazakhstan et en Israël, pays dans lesquels la prévalence de la maladie est élevée. En Israël, la prévalence était de l'ordre de 76% (71) et de 72,3% en 1984 dans le Transvaal (Afrique du Sud) (59).

b. Animaux atteints

i. Espèces

Besnoitia besnoiti est capable d'infecter les bovins *Bos taurus*, *Bos indicus*.

En France, les animaux atteints sont de race Charolaise, Blonde d'Aquitaine, Gasconne, Limousine, Brune des Alpes et plus rarement Prim'Holstein ou Montbéliarde. Mais ce sont les animaux de race Gasconne qui semblent les plus couramment touchés. Il faut préciser que dans les zones d'endémie, c'est la race gasconne qui prédomine (42, 43). De plus le mode d'élevage en estive, semble être un facteur de risque.

En Israël, ce sont surtout les races allaitantes qui sont touchées, comme les Charolaises, Brune des Alpes, Hereford, Brahma, Turque (47, 52, 97).

Au Kazakhstan, les animaux touchés sont des races Sainte Gertrude, Blanche du Kazakhstan ou encore des croisements de ces races.

En Afrique du Sud, les animaux touchés sont de race Afrikander, Prim'Holstein, Hereford, South Devon, Bonsmara, Brahma, Shorthorn, Jersey, Simmental, Ngunis, ou des croisements de ces races (8).

Il semblerait que les croisements ou que les animaux non nés en zone d'enzootie soient plus sensibles à la maladie (91, 97). Les auteurs s'interrogent donc sur l'existence d'une immunité de prémunition.

Des kystes de *Besnoitia* ont été retrouvés chez d'autres ruminants sauvages et domestiques comme les caprins, ovins et antilopes. Il n'y a pas de certitude à l'heure actuelle sur leur appartenance à l'espèce *Besnoitia besnoiti*.

En effet, de grandes similitudes existent entre *Besnoitia besnoiti* et *Besnoitia caprae* tant au niveau génétique qu'au niveau ultrastructure (38, 76) mais le comportement biologique est différent. En effet, les souches infectant les caprins ne permettent pas l'infection des bovins, lapins, souris, hamster, cobayes et rats (76).

Une étude a été réalisée au Parc Kruger entre 1964 et 1965 par McCully et coll. sur les antilopes. Des kystes de *Besnoitia* ont été retrouvés inopinément dans le système cardiovasculaire de gnou bleu (*Connochaetes taurinus*), d'impalas (*Aepyceros melampus*) et de koudou (*Tragelaphus strepsiceros*) (69). Les lésions principales sont vasculaires et il n'existe aucune lésion cutanée.

Nous discuterons dans la partie ayant trait à la classification du genre *Besnoitia*, l'existence ou non de plusieurs souches de *Besnoitia besnoiti*¹.

ii. Age

Les animaux sont rarement infectés avant le sevrage (8, 59, 85). Dans son enquête épidémiologique sur 5018 bovins d'Afrique du sud, Bigalke n'a trouvé qu'un seul veau non sevré contaminé par la maladie.

Janitchke et Bigalke ont détecté la présence d'anticorps chez un veau de moins d'un mois. Ils se sont posé la question du passage d'anticorps via le colostrum. En 1994, Shkap et al ont démontré qu'il y avait bien un passage d'anticorps via le colostrum mais se posent la question de l'efficacité de protection de ces anticorps contre une exposition naturelle (97).

La classe d'âge la plus touchée est celle des 2 - 4 ans en Ariège (figure 3). Par contre, en Afrique du sud, l'incidence est basse chez les génisses et les taurillons (8), la plus haute incidence est entre 3 et 6 ans.

En Corée du Sud, Lee et coll. ont évalué l'incidence de la besnoitiose en recherchant des kystes de la conjonctive sclérale. L'incidence la plus élevée est trouvée chez les animaux de 5 à 8 ans (10 à 12%), par contre les cas cliniques sont recensés généralement chez des animaux plus jeunes (65).

En conclusion, il semble que la maladie atteigne les animaux après le sevrage. Les cas cliniques se développent surtout chez des animaux jeunes et l'incidence de la maladie augmente avec l'âge, en effet, Goldman et Pipano conclue que chaque nouvelle saison de pâture augmente le risque d'exposition à la maladie (52).

¹ Voir Section Etude du parasite, Place dans la classification

iii. Sexe

Le sexe ne semble pas influencer la réceptivité des animaux à la maladie (42, 66) par contre, il semble que les mâles, qu'ils soient castrés ou non, développent des formes plus graves que les femelles. En effet, le taux de mortalité est deux fois plus élevé chez les mâles dans les clientèles d'Ariège (66).

En Afrique du Sud, il ne semble pas qu'il y ait de différence de réceptivité entre les femelles et les mâles. Par contre, sur 112 animaux ayant développé une besnoitiose clinique, 66% étaient des mâles (8).

En Israël, selon l'enquête épidémiologique de Goldman, réalisée en 1983, les bovins mâles ont des titrages en anticorps anti-*Besnoitia* plus élevé que les femelles (52), ils sont plus souvent séropositifs. Le profil d'atteinte suivant l'âge est également différent (Figures 4 et 5). Aucune explication n'a pu être donnée pour éclaircir ces données.

Les mâles semblent donc plus gravement atteints que les femelles.

iv. Mode d'élevage

En Israël, les bovins laitiers semblent moins atteints que les bovins allaitants. En effet, en 1970, Frank (47) trouve 8% des bovins laitiers atteints contre 40% des bovins allaitants sur 1671 sérums récoltés en Israël. Il faudrait déterminer les facteurs jouant sur ceci. Une hypothèse proposée par plusieurs équipes (8, 47, 88) est la possible transmission par des tiques car ils ont observé que les bovins allaitants étaient bien plus parasités que les laitiers. Il y a aussi l'hypothèse de transmission par des insectes piqueurs².

L'élevage en Afrique du sud, région aride où les animaux se retrouvent dans les zones d'abreuvement, est favorable à une transmission par des arthropodes piqueurs (8).

Il en est de même en France où ce sont les bovins allaitants qui sont le plus touchés. Or dans nos systèmes d'élevage, ces animaux vivent en plein air et sont régulièrement harcelés par des insectes piqueurs.

Le fait d'être élevé à l'extérieur est un facteur de risque important concernant l'épidémiologie. Toutefois, dans notre enquête un vétérinaire exerçant en Lozère rapporte un cas de besnoitiose diagnostiqué par Western Blot sur une vache laitière ayant toujours vécu en étable fermée (93).

² Voir Epidémiologie analytique, transmission par des arthropodes piqueurs

**Incidence de la Besnoitiose clinique en fonction de l'age,
enquêtes épidémiologiques dans le Sud ouest Français**

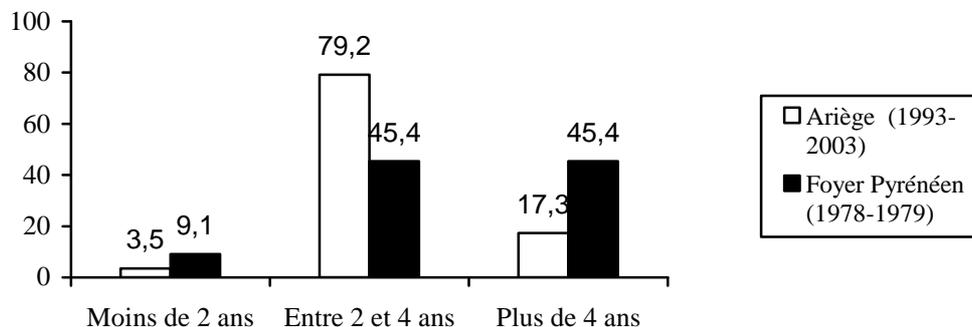


Figure 3: Répartition des cas cliniques en fonction des classes d'âge, en pourcentage, d'après les enquêtes de Ferrie (1978-1979) (42) et Legrand (1993-2003) (66)

**Pourcentage de vaches positives sur 335 vaches
Prévalence en Israël**

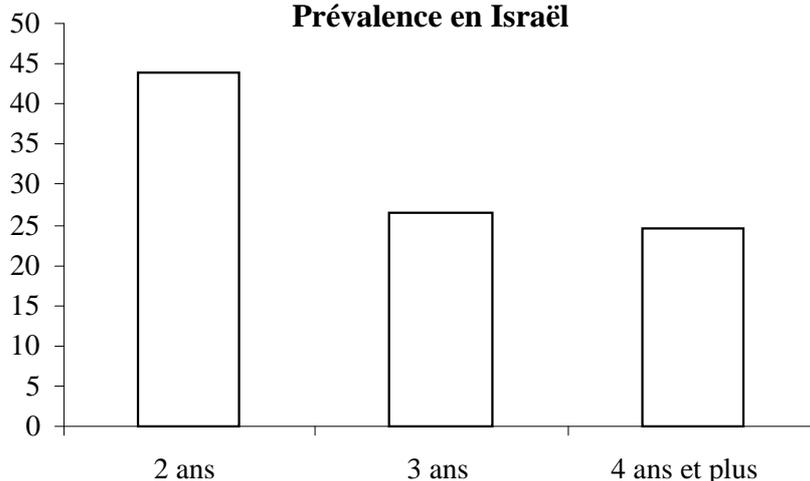


Figure 4: Taux de femelles positives en IFT d'après Goldman et Pipano(42, 43, 52)

**Pourcentage de taureaux positifs sur 1022 taureaux
Prévalence en Israël**

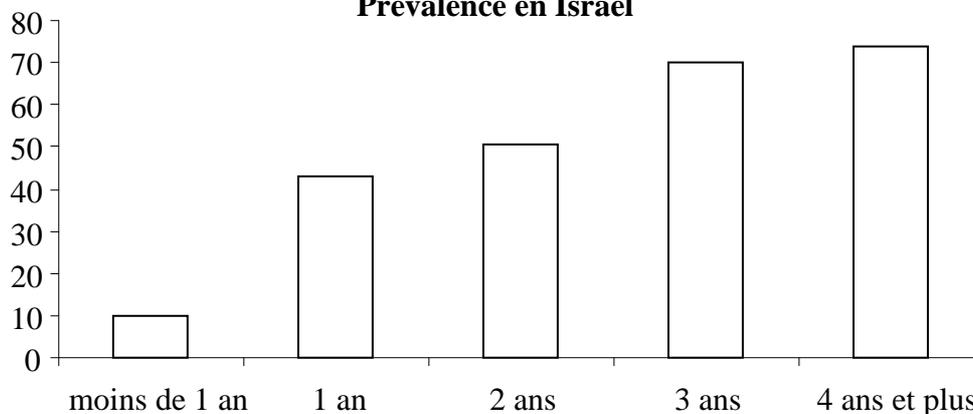


Figure 5 : Taux de mâles positifs en IFT d'après Goldman et Pipano (52)

c. Saison

Dès le début du XX^{ème} siècle, les paysans Pyrénéens avaient remarqué que « l'éléphantiasis » survenait exclusivement l'été (5). Cuillé et Chelle ne l'observent que de Juin à Décembre (30).

La maladie apparaît surtout en été, durant la période d'activité des insectes. En Afrique du Sud, c'est durant les mois de Décembre, Janvier, Février et Mars que l'incidence des cas cliniques augmente le plus, c'est-à-dire l'été. Les cas sont sporadiques au printemps, automne, hiver (8, 85). Il en est de même dans le foyer Pyrénéen (5, 42), on peut en effet bien voir sur les figures 6 et 7 la nette répartition saisonnière des cas de besnoitiose, durant les mois chauds.

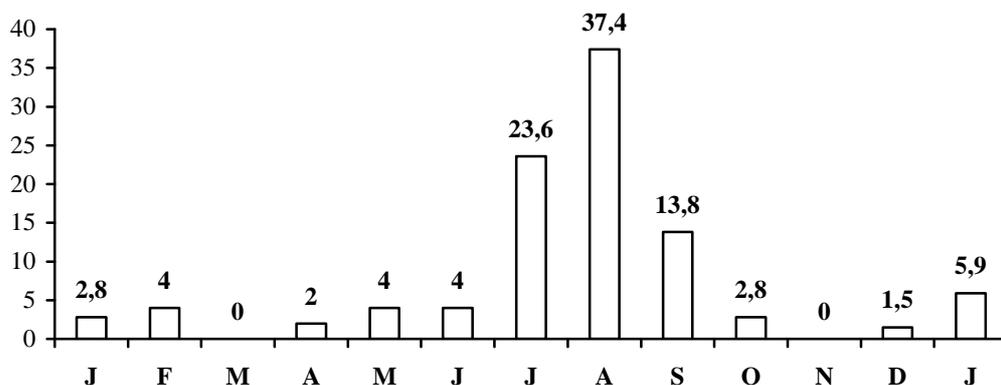


Figure 6: Répartition saisonnière en pourcentage de la besnoitiose bovine dans les hautes vallées de l'Aude et de l'Ariège entre 1975 et 1979 (42)

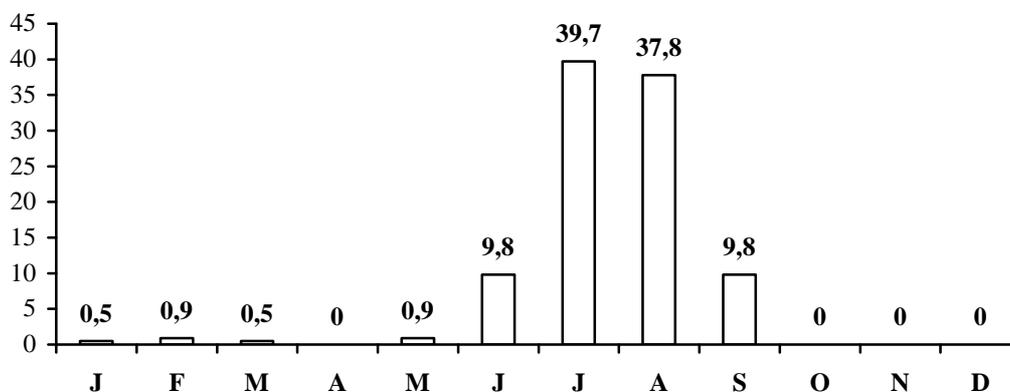


Figure 7: Répartition par mois des cas clinique de besnoitiose bovine observés par Legrand en Ariège entre 1995 et 1998 en pourcentage (66)

Cette répartition saisonnière des cas de besnoitiose maladie appelle des hypothèses concernant la transmission de la maladie. En effet, c'est durant ces mois d'été que la population d'arthropodes piqueurs est la plus importante. Pols, Bigalke et d'autres auteurs plus anciens se sont posé la question de la transmission de ce parasite par piqûre d'arthropodes.

d. Besnoitiose maladie/portage asymptomatique

Le nombre d'animaux qui développent une besnoitiose clinique n'est jamais très élevé dans un troupeau. Ceci a amené Pols en 1960 (85) à penser que certains animaux contractent la maladie sous une forme inapparente cliniquement et que cela les protège des formes sévères.

C'est Bigalke (8, 12) qui prouve en 1968 qu'une majorité des animaux sont en fait atteints par une infection subclinique (avec uniquement des kystes sur la conjonctive sclérale). Il a réalisé une enquête épidémiologique dans sept fermes d'Afrique du Sud. Une partie du cheptel de chaque ferme a été attentivement examiné, avec pour chaque animal, un dénombrement des kystes de la conjonctive sclérale et les commémoratifs de maladies, l'état de la peau.

Les animaux ont ainsi été répartis :

- Les animaux atteints de besnoitiose maladie : présence de kystes sur la conjonctive sclérale et lésions cutanées caractéristiques de la besnoitiose (kystes et sclérodermie).
- Les animaux atteints de besnoitiose subclinique ou inapparente : présence de kystes sur la conjonctive sclérale.

Sur les 5018 bovins observés, 427 (8,5%) avaient des kystes sur la sclère conjonctivale, 74 (1,5%) avaient des lésions cutanées, et 353 (7%) n'avaient pas de signes. Parmi les animaux atteints, 82,7% sont atteints de besnoitiose cliniquement inapparente.

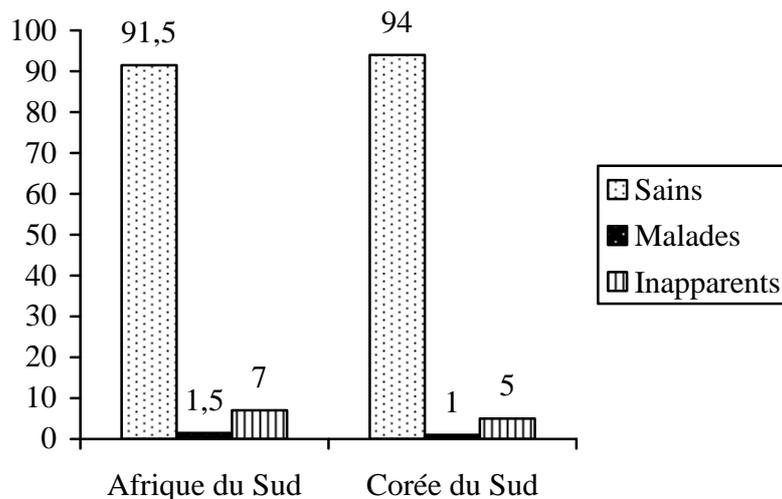


Figure 8: Enquêtes épidémiologiques menées en Afrique du Sud et en Corée du Sud, résultats en pourcentages (8, 65)

Une étude similaire en Corée du Sud a été menée par Lee (65). Sur 4725 bovins examinés, 285 (6%) avaient des kystes oculaires. Parmi ceux-ci, 49 (14%) présentaient de la sclérodermie. Ainsi, 86% des animaux positifs sont atteints de besnoitiose inapparente. Les résultats sont résumés dans la figure 8.

2. Epidémiologie analytique

a. Transmission lors de cohabitation

En 1937, Cuillé et Chelle (29) ont remarqué que l'introduction d'un bovin infecté dans un troupeau entraînait l'apparition de besnoitiose maladie chez quelques animaux, ils parlent d'enzooties d'étables (30). De même, en 1914, Baudéan, élève du professeur Besnoit à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, a vu deux cas de besnoitiose apparaître dans une étable après l'introduction d'une vache ayant présenté de lourds symptômes cutanés une dizaine de jours auparavant (5). Toutefois, dans l'étable des hôpitaux de bovine de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse en 1937, quatre bovins sains ont été mis en contact rapproché avec deux bovins infectés artificiellement. Aucun des quatre animaux n'a contracté

la maladie (30). Il semble donc que la cohabitation de bovins sains et de bovins atteints ne soit pas la seule condition d'infection.

Le fait que les nouveaux cas apparaissent majoritairement durant l'été et l'automne ³ fait penser à une transmission indirecte grâce à un hôte intermédiaire. Comme Cuillé, Besnoit et Pols n'ont pas réussi à transmettre la maladie par administration de peau contenant des kystes par diverses voies⁴, la conclusion est qu'il s'agirait d'un hôte intermédiaire obligatoire du parasite, c'est-à-dire permettant un développement biologique du parasite.

Or Bigalke et coll. ont réussi en 1967 à transmettre la maladie par administration d'une solution contenant des kystes par voie parentérale à des lapins et à des bovins (7). Il devient alors possible de supposer que les arthropodes sont des vecteurs mécaniques s'il existe une contamination de bovins lors de cohabitations.

C'est pour cela qu'un nouvel essai de transmission lors de cohabitation proche a été monté par Bigalke en 1968 (8).

Des bovins sains ont été mélangés à des bovins atteints de besnoitiose chronique (c'est-à-dire dont le sang n'est pas infectieux car ne contient plus de formes prolifératives) dans différents enclos dans des proportions différentes et des conditions biologiques différentes (fréquentation par les arthropodes).

Il en résulte une contamination de quasiment 100% des animaux. Aucun des animaux n'a développé une besnoitiose clinique mais 53% des animaux avaient des kystes sur la conjonctive sclérale et les 46,2% autres étaient immunisés lors d'un essai de contamination par une souche isolée en laboratoire, c'est-à-dire avaient contracté la maladie mais ne présentaient absolument aucun signe de besnoitiose. La différence avec les expérimentations précédentes ayant le même but était la recherche des cas subcliniques. Il existe donc une contamination lors de cohabitation d'animaux sains et d'animaux infectés chroniquement.

La question est de définir le ou les modes de transmission lors des cohabitations.

Dans les années 1987 un taureau charolais atteint d'une forme chronique et placé dans le paddock extérieur des hôpitaux de l'ENVT au printemps et en été avec des Holstein a été à l'origine de la contamination de quatre d'entre elles (92).

La répartition saisonnière des nouveaux cas fait penser à une maladie transmise mécaniquement par des arthropodes.

Une transmission par voie nasale, oculaire ou vénérienne est également envisageable mais n'explique pas l'aspect saisonnier de la maladie.

³ Voir Section Epidémiologie, Epidémiologie descriptive, Saison

⁴ Voir Section Epidémiologie, Transmission iatrogène

b. Transmission iatrogène

Pols a montré en 1960 qu'il était possible de transmettre la maladie en utilisant une seringue ayant servi à une prise de sang sur un lapin en phase aigue à un lapin susceptible. Donc, il semble possible qu'une transmission iatrogène due à l'utilisation d'aiguilles non stériles par le personnel soignant existe comme il est aussi possibles que des insectes hématophages soient vecteurs passifs (85).

Sur une autre série d'expérience, Pols a tenté de transmettre la besnoitiose avec des parasites contenus dans les kystes cutanés d'un bovin infecté chroniquement à plusieurs bœufs sans succès. Ses prédécesseurs Besnoit et Robin (6), Franco et Borges (46) et Cuillé et Chelle (29, 31) avaient fait le même constat. Mais tous ces auteurs n'avaient pas cherché à diagnostiquer des cas subcliniques. Bigalke (7) a réussi l'expérience en 1968.

Il est donc finalement possible de transmettre la maladie par injection parentérale d'une solution de parasites initialement contenus dans des kystes.

La transmission est possible aussi par réutilisation sur des lapins d'une aiguille ayant auparavant servi sur un bovin dont la peau était parasitée. Les lapins développent une besnoitiose clinique (8).

c. Rôle des arthropodes piqueurs

Différents faits exposés dans les paragraphes précédents suggèrent l'intervention d'arthropodes dans le cycle épidémiologique de la besnoitiose. La saisonnalité marquée de la maladie ainsi que la possibilité de transmission de la maladie par utilisation d'aiguilles fines sont les faits les plus marquants.

La transmission de bovin à bovin du parasite *Besnoitia besnoiti* n'est possible que si l'appareil buccal de l'arthropode est capable de transpercer la paroi des kystes cutanés. C'est pourquoi Bigalke a étudié en premier la transmission par des mouches tsétsé (*Glossina brevipalpis*) sur des lapins. La transmission a été possible (10). Au vu de ces résultats, une étude plus large que nous allons décrire dans les paragraphes suivants a été lancée (8). La capacité de transmission par plusieurs insectes a été étudiée à partir de bovins infectés chroniquement ou de lapins en phase aigue.

Le vecteur type est un arthropode présent dans les régions touchées par la besnoitiose, dont l'appareil buccal est capable de transpercer les kystes cutanés et dont les piqûres sont douloureuses.

i. Mouche tsétsé (*Glossina brevipalpis*)(8)

La possibilité de transmission mécanique de formes prolifératives et de formes intrakystiques ainsi que la durée de survie des parasites dans ces insectes ont été étudiées.

Les glossines sont capables de transmettre la besnoitiose à des bovins par ponction de kystes cutanés ainsi qu'à des lapins à partir de formes cliniques aiguës.

Ces insectes sont capables de transmettre la maladie pas plus de trois heures après avoir fait un repas sur un bovin infecté chroniquement ce qui semble prouver qu'il n'existe pas de développement biologique au sein de l'insecte et donc que la contamination n'est que mécanique.

Pour qu'il y ait transmission d'un animal à l'autre, il est nécessaire que la mouche soit interrompue durant son repas pour pouvoir le reprendre sur un autre animal. La piqûre est douloureuse, ce qui aide à l'interruption.

Toutefois, la distribution géographique des glossines n'est pas superposable à celle de la besnoitiose, il doit donc exister d'autres vecteurs.

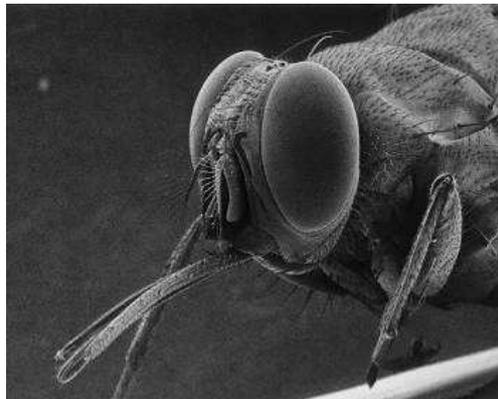


Figure 9: *Glossina morsitans*, (106)

ii. Tabanidés (8)

Il n'existe pas d'élevage artificiel de tabanidés. Pour les expériences, les taons ont été capturés dans le milieu extérieur et pour chaque insecte, la possibilité d'une exposition préalable a été évaluée notamment en faisant gorger chaque taon sur un lapin pour juger de

l'apparition de besnoitiose. Un décompte des taons capturés a été établi par mois (voir figure 10).

Les taons ont un appareil buccal robuste (Figure 11) et leur piqûre est très douloureuse. Ils se nourrissent par intermittence car ils sont régulièrement chassés par le bovin « choisi pour cible ». Ces insectes sont donc de bons candidats pour être vecteurs.

Comme les glossines, les tabanidés sont capables de transmettre la besnoitiose à partir de lapins en phase aigue et à partir de bovins infectés chroniques à des lapins et des bovins. Un bovin a même développé une infection sévère avec anasarque. Ils sont infectants durant 24 heures environ. Il semble donc que ces insectes soient de meilleurs vecteurs que les glossines. De plus ils sont présent partout où la besnoitiose existe.

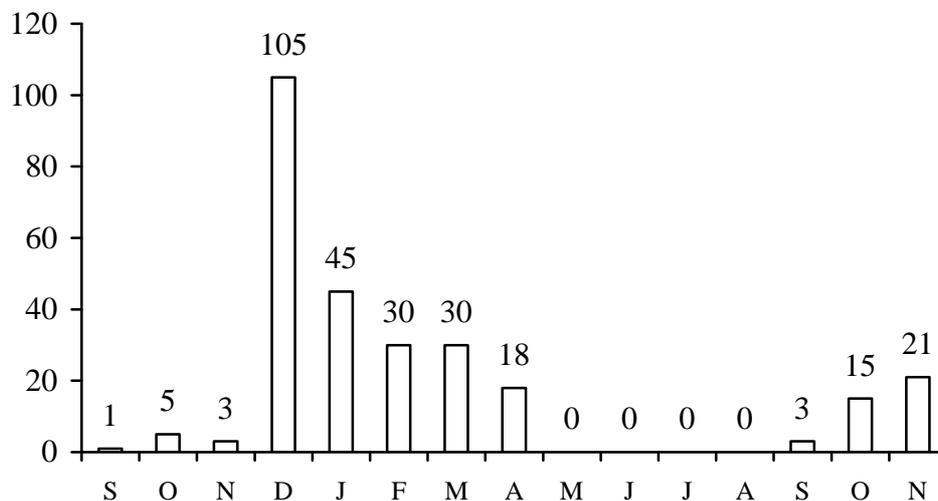


Figure 10: Nombre de tabanidés attrapés par mois en Afrique du Sud en 1961. (8)

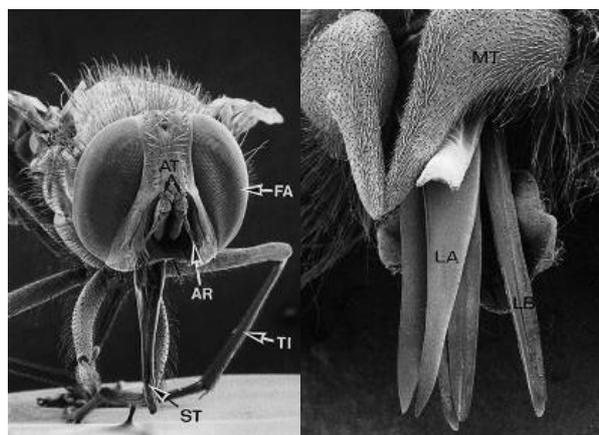


Figure 11: *Tabanus* spp et *Stomoxys calcitrans*, (106)

iii. Stomoxes (*Stomoxis calcitrans*) (8)

Les stomoxes sont des mouches hématophages communes dans les endroits fréquentés par les bovins. Leur piqûre est moins douloureuse que celle des taons. 2175 de ces insectes ont été capables de transmettre la besnoitiose de bovins infectés chroniquement à des bovins sains. Bigalke a aussi démontré que des stomoxes capturés dans une ferme où la besnoitiose est enzootique contiennent des *Besnoitia besnoiti*.

iv. Culex et autres moustiques (8)

Les Culicidés se nourrissent la nuit, leur piqûre n'est pas douloureuse. Ils sont présents dans des zones où la besnoitiose existe. Ils sont vecteurs de l'anaplasmose bovine (*Theileria annulata*). Bigalke a étudié la possibilité pour ces insectes de percer les kystes et d'ingérer des éléments parasitaires.

Les moustiques sont capables de transpercer la paroi des kystes car une administration parentérale de broyat de Culex gorgés sur un bovin infecté chroniquement entraîne une besnoitiose sévère chez les lapins.

Ce sont donc des vecteurs potentiels à ne pas sous estimer, mais il faudrait des expériences pour prouver s'ils sont capables, en plus d'ingérer les parasites, de les retransmettre aux bovins.

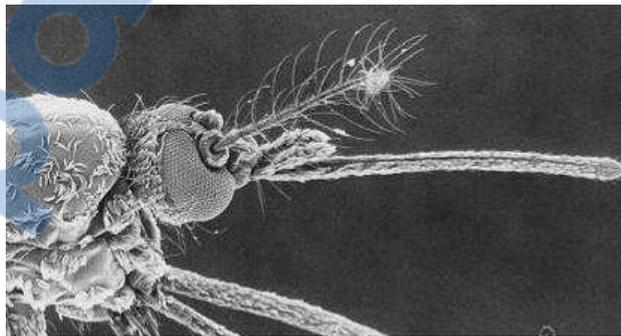


Figure 12: *Aedes aegypti*, (106)

v. Conclusion partielle sur les arthropodes

Tous les insectes étudiés ci-dessus sont des vecteurs potentiels de la besnoitiose. Leur importance ne doit pas être sous-estimée d'autant plus que cela explique la saisonnalité de la besnoitiose.

Le mécanisme exact de la transmission par les insectes n'est pas déterminé. Il ne semble pas y avoir de développement du parasite à l'intérieur de ces insectes. La transmission ne peut être que mécanique. Deux mécanismes sont à envisager. Tout d'abord la régurgitation d'une partie du repas par l'insecte et donc l'injection de parasite dans la peau mais aussi la contamination de l'appareil buccal par adhérence des parasites et donc contamination des tissus de l'hôte lors de la piqûre. Ce mode d'infection semble le plus probable car l'infektivité après repas est très courte (8).

La contamination à partir de bovins en phase des œdèmes est aussi possible mais certainement bien moins importante (8, 84, 85).

La capacité des tiques à transmettre la besnoitiose n'a pas été étudiée. Les tiques sont vecteurs des babésioses (*Babesia bovis*), des anaplasmoses (*Theileria annulata*). Il est donc possibles qu'elles soient également des vecteurs de la besnoitiose, d'autant plus que plusieurs auteurs rapportent que les troupeaux infectés qu'ils ont observés sont fortement « contaminés » par des tiques (8, 88).

d. Autres type de transmission

Au vu des symptômes et des lésions histologiques de l'appareil respiratoire supérieur, de l'appareil génital, diverses autres voies de transmission ont été évaluées.

La question se pose de savoir si la voie d'entrée est le système vasculaire des voies respiratoires et de la conjonctive ou si c'est par voie digestive (les canaux lacrymaux rejoignant les voies respiratoires supérieures et les voies respiratoires supérieurs communiquant avec l'œsophage). Ceci est surtout important pour une transmission de mufler à mufler car les kystes présents dans les voies respiratoires supérieures peuvent se rompre (8) et les écoulements nasaux abondants peuvent entraîner les formes parasitaires ainsi libérées au niveau du mufler. Si le contact entre deux animaux suffit, ce mode de contamination est important à mettre en évidence.

Bigalke (8) a montré qu'il était possible d'infecter des bovins avec des formes prolifératives par voie orale et avec des formes kystiques dans les narines.

Il est aussi possible d'infecter les lapins avec des formes kystiques en les mettant dans le cul de sac conjonctival (8).

La présence de kystes dans les tubes séminifères, dans la lumière de l'épididyme (80) chez les mâles et dans la muqueuse vaginale des femelles (79) pourrait faire penser à une transmission par voie sexuelle. A part l'observation de Bigalke qui a fait reproduire deux

génisses saines avec des taureaux atteints de besnoitiose chronique et qui n'a pas observé de transmission de la maladie, aucune étude ou autre observation n'a infirmé ou confirmé ce fait.

De même, la présence de kystes dans l'endomètre de femelles (79) et la séropositivité de très jeunes veaux (97) peut faire penser à une transmission verticale.

Mais ces modes de transmission, s'ils existent sont des modes de contagions mineurs car ils n'expliquent pas l'aspect saisonnier de la maladie.

e. Transmission par ingestion d'oocystes

i. Travaux de Peteshev (82)

Le travail est basé sur trois séries d'expériences.

1. Première expérience

Divers animaux sont contaminés *per os* grâce à un inoculum constitué de biopsies de lésions cutanées d'une vache atteinte de besnoitiose chronique. L'inoculum contient des bradyzoïtes libérés mécaniquement des kystes par broyage. Les animaux contaminés sont régulièrement examinés (température, symptômes, frottis sanguins, examens coprologiques et examens histologiques).

Des spermophiles (sorte d'écureuil), des souris, des moutons et chèvres ont ainsi été contaminés.

Trois chats aussi ont été contaminés. La preuve de leur infection a été l'émission d'oocystes non sporulés dans les fèces. Ces oocystes, très semblables à ceux de *Toxoplasma gondii*, mesurent 11,6-14,2 x 14,2-16 µm.

L'élimination des oocyste a durée 3 à 5 jours et a commencé 16 jours après la contamination. Toutefois, la réussite d'infection est inconstante, surtout avec les jeunes chats.

2. Deuxième expérience

Les oocystes présents dans les matières fécales des chats de l'expérience précédente ont été maturés jusqu'à leur sporulation. Ils ont été administrés *per os* à des spermophiles, des chèvres et à un veau. Tous les animaux ont présenté des signes cliniques caractéristiques à

chaque espèce. Chez tous ces animaux, grâce aux frottis sanguins et aux biopsies, des bradyzoïtes et des tachyzoïtes ont pu être visualisés.

Le sang de l'un des chevreaux infectés a été prélevé lors de sa phase fébrile et a été ensuite injecté à des souris. Ces souris ont développés les signes courant de besnoitiose. Il y a donc bien une parasitémie.

Le veau, huit mois après sa réaction fébrile, a développé des kystes de *Besnoitia besnoiti* et est positif à la réaction de fixation du complément quand *Besnoitia besnoiti* est utilisé comme antigène. Il a aussi été démontré que les veaux sont réfractaires à l'infestation par des kystes de *Besnoitia wallacei*.

Les oocystes éliminés par les chats sont bien des oocystes de *Besnoitia besnoiti*.

3. Troisième expérience

Les kystes cérébraux qui se sont développés dans le cerveau des souris de l'expérience 1 sont administrés à des chatons. Les chatons éliminent des oocystes semblables à ceux décrits dans l'expérience 1. Ces oocystes, une fois sporulés sont administré à des chevreaux par voie orale. Le sang du cheveau est prélevé durant la phase fébrile et injecté à des souris dont les kystes encéphaliques sont donnés à des chatons. Ces chatons aussi éliminent des oocystes.

Il est possible qu'un cycle faisant intervenir divers hôtes intermédiaires et un chat ou un félidé comme hôte définitif existe dans les conditions naturelles

ii. Travaux de Diesing (32)

En 1988, Diesing et coll. a contaminé par voie orale avec un inoculum composé de matériel kystique provenant de bovins infectés chroniques 11 espèces de mammifères carnivores, des chats domestiques, 6 espèces de serpents et des vautours à queue blanche. Aucun des animaux infestés n'a émis d'oocystes dans les fèces. Aucun des animaux utilisés n'est un hôte définitif de *Besnoitia besnoiti*.

Ces résultats sont en contradiction avec ceux de Peteshev et coll. (82).

iii. Conclusion partielle

Bien qu'en 1974 Peteshev et son équipe du Kazakhstan publient des résultats montrant que les chats domestiques et sauvages sont les hôtes définitifs de *Besnoitia besnoiti* (82), dans la plupart des articles scientifiques actuels, l'hôte définitif est considéré comme incertain (23, 33, 36). Toutefois, il est couramment admis que cet hôte définitif est un carnivore, certainement un félinidé (chats sauvages et domestiques, genette, lynx...) (23, 66, 67, 88).

Pour d'autres espèces de *Besnoitia*, l'hôte définitif a été trouvé. Ainsi, *Besnoitia darlingi*, *Besnoitia oryctofelisi* et *Besnoitia wallacei* ont pour hôte définitif le chat domestique et le chat sauvage. Il est nécessaire, pour qu'il y ait contamination, que les oocystes soient sporulés.

3. Epidémiologie synthétique

Les *Besnoitia* sont des parasites hétéroxènes obligatoires avec un cycle parasitaire prédateur - proie (cycle reptile - reptile ou cycle reptile - mammifère ou mammifère - mammifère).

La spécificité de l'hôte intermédiaire semble ne pas être stricte (49) : en effet, *Besnoitia besnoiti* parasite en conditions naturelles aussi bien les bovins (*Bos taurus*, *Bos indicus*) que les impalas (*Aepyceros melampus*) et le gnou bleu à queue blanche (*Connochaetes taurinus*) (14, 38, 69).

Les animaux chroniquement infectés servent de réservoir pour les arthropodes piqueurs (8).

Le cycle Félinidés-bovin-insectes piqueurs (Figure 13) semble être aujourd'hui le cycle le plus probable (66, 88). Il se décompose en deux cycles, le cycle primaire, entre l'hôte définitif et l'hôte intermédiaire, et le cycle secondaire, entre hôte intermédiaire et vecteur.

a. Le cycle primaire

L'hôte définitif est incertain mais il est admis qu'il est un carnivore comme le chat sauvage (*Felis sylvestris*) et le chat domestique (*Felis catus*), la genette (*Genetta genetta*), le renard (*Vulpes vulpes*), le lynx (*Lynx lynx*).

Chez cet hôte, un cycle classique de type coccidien est décrit, avec une phase de reproduction asexuée (schizogonie) et une phase de reproduction sexuée (gamogonie) qui aboutit à la formation d'oocystes dans le tube digestif. Les oocystes sont éliminés avec les fèces dans le milieu extérieur, et les oocystes deviennent infestants après sporulation.

Les bovins, hôtes intermédiaires, s'infestent en ingérant des végétaux ou une matière souillée par des oocystes sporulés. Les zoïtes contenus dans les oocystes sont libérés dans la lumière intestinale et génèrent des tachyzoïtes. Les tachyzoïtes se disséminent par voies sanguines à tous les tissus de l'organisme et parasitent différentes cellules, se sont des formes à multiplication asexuée rapide. Suite à la réponse immunitaire de l'hôte, les tachyzoïtes laissent place aux bradyzoïtes, formes de multiplication lente, qui forment des kystes intracellulaires.

Ces kystes à bradyzoïtes sont les formes de résistances du parasite. Ils sont à l'origine de la contamination de l'hôte définitif par une consommation de viande crue parasitée.

Tous les auteurs s'accordent à dire que ce cycle est d'importance mineure par rapport au cycle secondaire (66, 88).

b. Le cycle secondaire

Comme les expériences de Bigalke et coll. nous l'ont montré, les bradyzoïtes contenus dans les kystes peuvent être transportés d'un bovin malade à un bovin sain par divers insectes piqueurs. C'est une contamination mécanique.

Il en est de même avec les aiguilles hypodermiques non changées entre les animaux. Il apparaît que ce mode de transmission de la maladie est le principal. En effet, il explique de nombreux aspects épidémiologiques comme décrits dans les parties précédentes.

Toutefois, tant que l'hôte ou les hôtes définitifs naturels n'ont pas été trouvés, le cycle décrit n'est qu'hypothétique.

Cycle Félidés-Bovins-Tabanidés

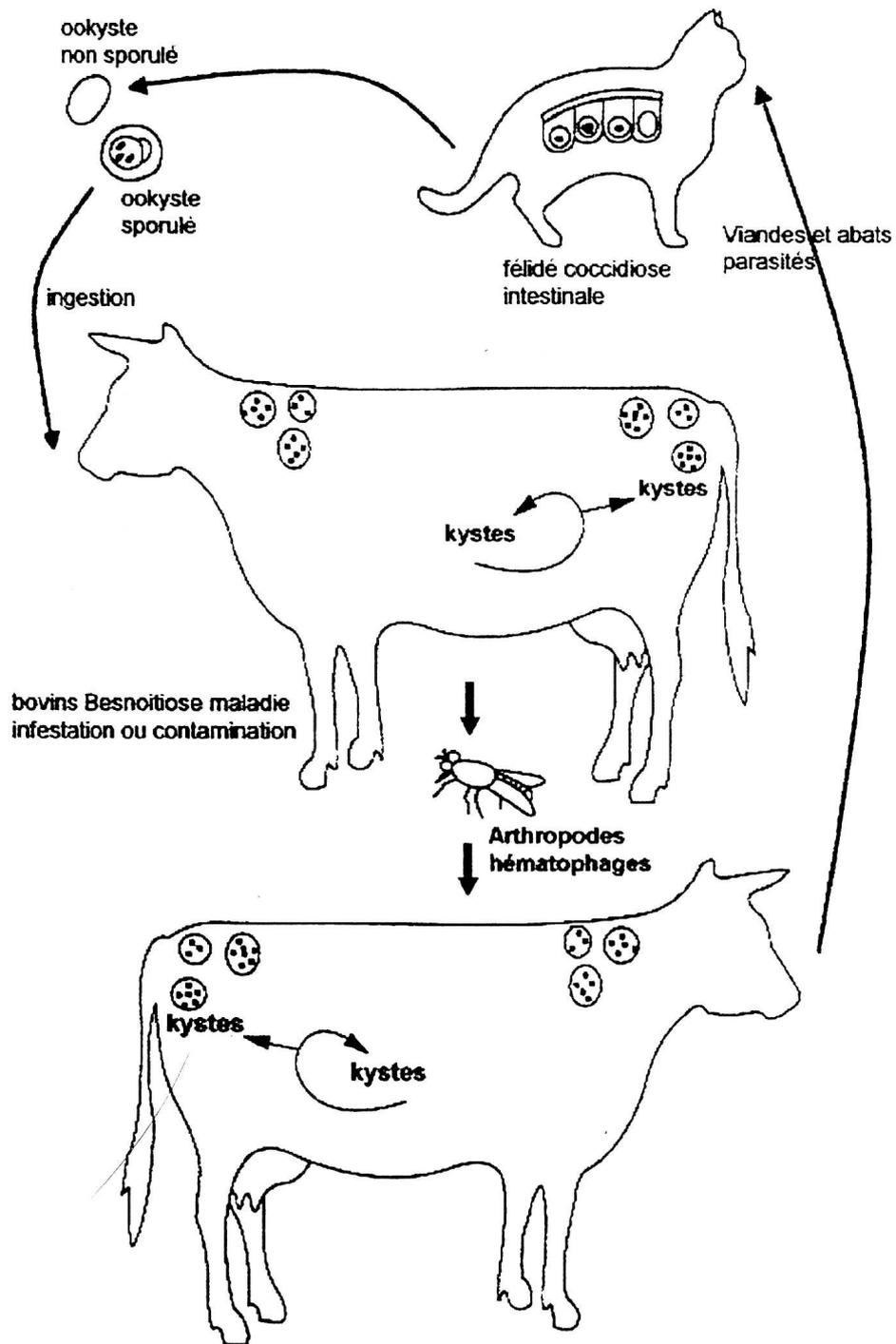


Figure 13 : Cycle hypothétique de *Besnoitia besnoiti* (45)

Etude du parasite

1. Place dans la classification

Entre le 19^{ème} et le 20^{ème} siècle, la classification des protozoaires était basée essentiellement sur la morphologie des organes locomoteurs. L'accroissement des connaissances sur leur morphologie, leur biologie, leur cycle, leur spécificité d'hôte et d'autres caractères phénotypiques a permis une classification à partir de ces caractères en différents groupes taxonomiques. Tout au long du 20^{ème} siècle, la classification des coccidies a été remaniée. Les coccidies *Sarcocystidae* constituent un des groupes les plus controversés des protozoaires, leur classification a été débattue pendant plus de 50 ans (109). Les méthodes de séquençage apportent de nouvelles informations qui font que la classification des coccidies est en pleine évolution (109).

a. Classification à partir de critères phénotypiques

La classification selon Frenkel des coccidies formants des kystes cellulaires est basée sur les caractéristiques morphologiques des kystes (décrits bien avant de connaître les hôtes définitifs) (48).

Les *Apicomplexa* sont des êtres unicellulaires à la structure constante avec un complexe apical. Ce phylum comprend de nombreuses espèces d'importance vétérinaire et médicale. Ils sont intracellulaires stricts et leur cycle alterne des phases de reproduction asexuée et sexuée.

La famille des *Sarcocystidae* inclue les coccidies qui ont un cycle hétéroxène, qui sont capables de former des kystes tissulaires dans les tissus de l'hôte intermédiaire et dont les oocystes sont bi-sporulés et tétrazoïques. Cette famille est habituellement subdivisée en deux ou trois sous familles.

La sous-famille *Sarcocystinae* est composée de parasites hétéroxènes obligatoires qui ne se développent que dans leurs hôtes, elle contient les genres *Sarcocystis* et *Frenkelia*.

La sous-famille des *Toxoplasmatinae* contient les parasites des genres *Toxoplasma*, *Besnoitia*, *Hammondia* et *Neospora*. Ils diffèrent des *Sarcocystinae* par leur mode de reproduction asexuée et ils ont une phase supplémentaire de prolifération par reproduction asexuée précédant la phase sexuée chez leur hôte définitif. La sporulation des oocystes a lieu dans le milieu extérieur.

La sous-famille des *Cystoisosporinae*, ne comprend qu'un genre, *Cystoisospora*. Cette sous famille est caractérisée par la formation de kystes monozoïques chez les hôtes intermédiaires non obligatoires. Elle n'est pas reconnue par tous les protozoologistes. Elle est souvent synonyme du genre *Isoospora*, classée dans la famille des *Eimeriidae* pour d'autres auteurs.

Même si cette classification est bien acceptée, certaines données morphologiques et biologiques sont incomplètes et déconcertantes (109).

Ainsi, c'est la classification suivante qui est la plus couramment utilisée :

Famille des *Eimeriidae* (Minchin 1903)

Genus *Isoospora* (Schneider 1881)

Genus *Eimeria*

Famille des *Sarcocystidae* (Poche 1913)

Subfamille des *Sarcocystinae* (Poche 1913)

Genus *Sarcocystis* (Lankester 1882)

Genus *Frenkelia* (Biocca 1956)

Subfamille des *Toxoplasmatinae* (Biocca 1956)

Genus *Toxoplasma* (Nicolle et Manceaux 1909)

Toxoplasma gondii

Genus *Besnoitia* (Henry 1913) (Besnoit et Robin 1912 ?)

Besnoitia besnoiti, *Besnoitia bennetti*, *Besnoitia wallacei*,
Besnoitia jellisoni, *Besnoitia caprae*, *Besnoitia darlingi*,
Besnoitia tarandi, *Besnoitia akodoni*

Genus *Hammondia* (Frenkel et Dubey 1975)

Genus *Cystoisospora*

Cystoisospora

Genus *Neospora*

Neospora caninum (Dubey 1988).

b. Classification à partir de critères moléculaires

Pour réaliser une classification sur critères moléculaires, il faut choisir des séquences spécifiques qui permettront de distinguer le plus finement possible les différentes espèces. Ce choix est particulièrement important pour les *Apicomplexa* vu le faible nombre de critères phénotypiques utilisables.

Plusieurs séquences génétiques ont été utilisées pour réaliser des arbres phylogéniques.

Pour les *Eimeriidae*, la séquence la plus couramment utilisée est l'ADN_r 18S (38, 60, 61, 109). Depuis quelques années, d'autres séquences sont testées, comme une séquence de l'ADN_r 28S, l'ITS-1 (internal transcribed spacer 1 region) une séquence de l'ADN nucléaire. Des séquences génétiques des organelles peuvent aussi être utilisées (plaste, mitochondrie)(109). L'arbre phylogénique de la figure 14 a été obtenu grâce à ces méthodes.

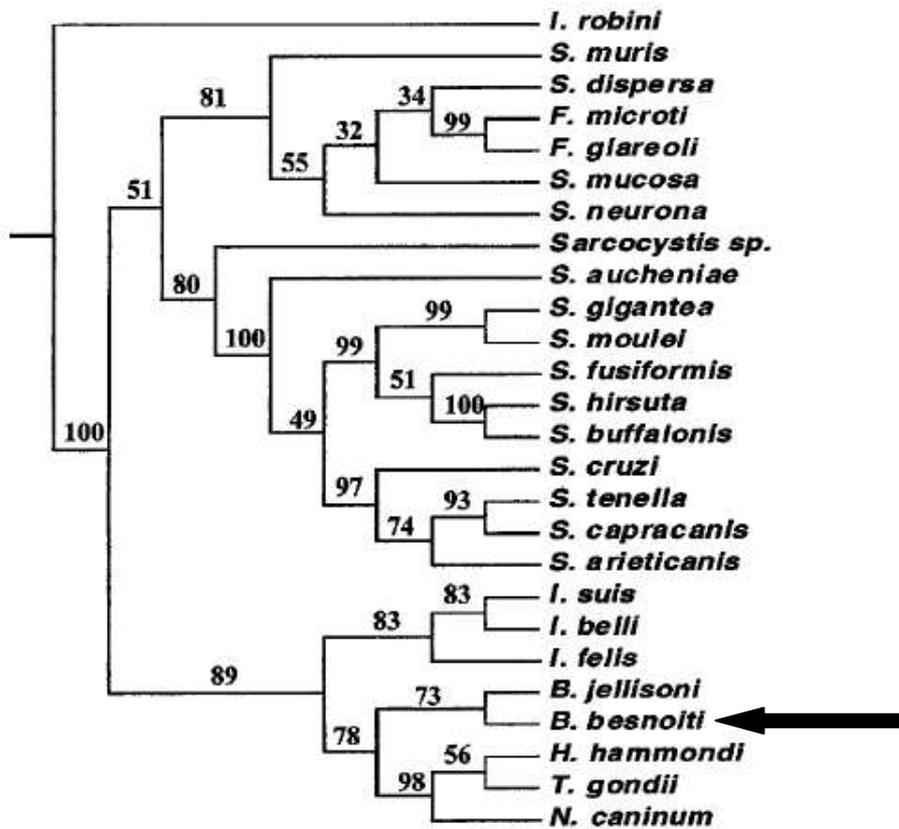


Figure 14 : Arbre phylogénétique des coccidies formant des kystes cellulaires basé sur l'ADN SSU. Analyse de parcimonie (38).

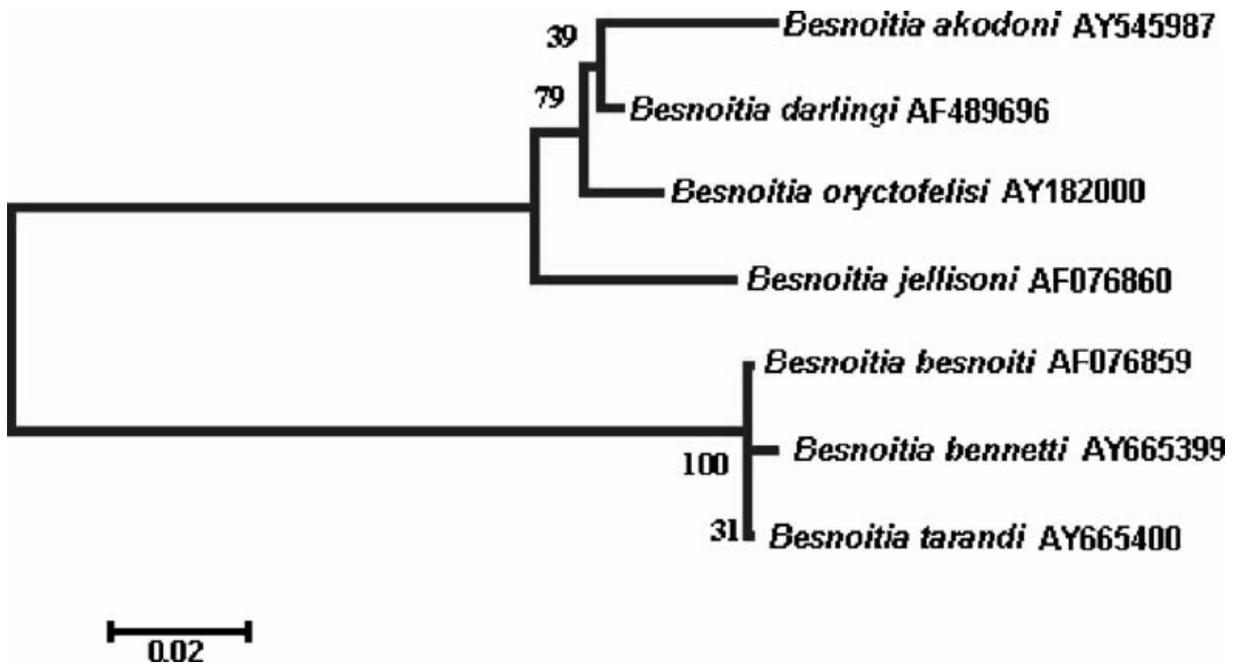


Figure 15: Arbre phylogénétique, consensus de 500 bootstrap, basé sur le minimum de différence sur 250bp d'ITS-1 (37)

Il est intéressant de remarquer sur la figure 15 que les espèces dont les hôtes intermédiaires sont des ongulés (*Besnoitia besnoiti*, *Besnoitia tarandi* et *Besnoitia bennetti*) sont plus proches que celle dont il s'agit de rongeurs et lagomorphes (*Besnoitia wallacei*, *Besnoitia jellisoni*, *Besnoitia oryctofelisi*, *Besnoitia darlingi*, *Besnoitia akodoni*).

c. *Besnoitia besnoiti* et *Besnoitia caprae*

C'est au Kenya que pour la première fois, l'infection naturelle de caprins par un parasite du genre *Besnoitia* a été mise en évidence (18). Les symptômes dus à ce parasite sur les caprins sont comparables à ceux dus à *Besnoitia besnoiti* sur les bovins. Par contre, il semble que les bovins pâturant à côté de caprins atteints ne présentent pas de Besnoitiose clinique. De plus, il est impossible d'infecter expérimentalement les bovins, les lapins et les rongeurs de laboratoire avec *Besnoitia caprae* (77). D'autre part, certains auteurs trouvent des ultrastructures légèrement différentes entre *Besnoitia besnoiti* et *Besnoitia caprae* et pensent que la dénomination *Besnoitia caprae* doit continuer à être usité (76), mais d'autres équipes n'ont pu observer de telles différences structurales (35) et il a même été mis en évidence qu'il n'y avait aucune différence entre les deux parasites lors du séquençage de leur ADN sur la séquence ITS-1 (38).

Aujourd'hui, il n'existe pas de consensus sur ce point. Il s'agit toutefois d'une information capitale pour l'épidémiologie de la besnoitiose car les caprins pourraient constituer un réservoir pour le parasite.

d. *Besnoitia besnoiti* souche bovine et *Besnoitia besnoiti* souche sauvage

Des kystes du type de ceux de *Besnoitia besnoiti* ont été découverts en Afrique du Sud en 1965 (15). Ils étaient majoritairement situés dans l'appareil cardiovasculaire des antilopes (gnou, koudou et impala). L'atteinte diffère de celle des bovins car elle est plutôt viscérale. Chez les lapins, l'atteinte est également différente comme le montre le tableau 1.

Au niveau expérimental, les lapins sont sensibles à cette souche mais elle est moins pathogène en premier passage que la souche bovine (14), les bovins aussi y sont sensibles mais ils ne développent pas de signes cliniques classiques par contre ils sont protégés contre une infestation par la souche bovine⁵. En histologie, les kystes dus à la souche sauvage sont de plus grande taille que ceux de *Besnoitia besnoiti*. Comme pour *Besnoitia caprae*, il

⁵ Voir section Prophylaxie, Vaccin vivant atténué

n'existe pas de différence lors du séquençage de l'ADN des deux parasites sur le segment ITS-1 (38).

Or, en Afrique du Sud, ces antilopes sont nombreuses dans des zones touchées par la besnoitiose bovine. On ne sait pas si *Besnoitia besnoiti* peut toucher les antilopes. On ne sait donc pas si les antilopes constituent un réservoir au parasite.

Origine de la souche de <i>Besnoitia</i>	Directement de kystes d'antilope	Souche de Gnou bleu passée sur lapin	Souche bovine passée sur lapin
Nombre total de lapins testés	6	7	9
Nombre total de lapins positifs	0	4	8
Peau	–	1 (au site d'injection)	5
Scrotum	–	–	4
Testicules	–	–	5
Epididyme	–	–	4
Plexus pampiniforme	–	–	5
Nœuds lymphatiques	–	4	6
Muscle	–	2	2
Myocarde	–	3	–
Poumons	–	2	1
Trachée	–	1	–
Reins	–	2	–
Foie	–	2	–
Estomac	–	1 (au site d'injection)	–
Intestins	–	1	–
Vessie	–	1	–
Glandes surrénales	–	1	–

Tableau 1: Distribution histologique des parasites sur des lapins d'après Bigalke et al (15)

2. Morphologie

a. Le kyste

i. Macroscopie

Les kystes peuvent être visibles à l'œil nu car leur dimension atteint parfois 1.5mm de diamètre (49). Ce sont eux que l'on peut voir sur la sclère des yeux des animaux en phase clinique ou dans le tissu sous cutané et même sur le périoste, les tendons, la paroi des veines

et les valves de veines lors d'autopsies. Ils ressemblent à des grains de sables blancs nacrés ou à des grains de tapioca (46).

ii. Microscopie

Les kystes sont présents dans le derme, la conjonctive de la sclère des yeux, les muscles et certains organes internes (glandes surrénales (81), testicules, paroi du vagin....), la muqueuse de l'appareil respiratoire supérieur, les fascia (fascii) musculaires, les périostes, les tuniques vasculaires, le pharynx.

Ils sont entourés par une légère réaction de cellules mononuclées (75) et granulomateuses (3, 85), et parfois par des granulocytes éosinophiles (7, 69).

Les kystes, ceints par deux membranes visible en microscopie photonique (6, 28) (Figure 16) et une membrane visible en microscopie électronique (Figure 17).

La membrane externe entoure la cellule parasitée, elle est hyaline (ou anhiste) (81). Elle est relativement rigide et donne la forme au kyste. On l'appelle aussi capsule.

La membrane intermédiaire est formée par le protoplasme de la cellule parasité qui est hypertrophiée et multinuclée. Cette cellule est étirée, comprimée entre la capsule et les parasites.

La vacuole parasitophore est délimitée par une membrane, visible en microscopie électronique (28). Elle contient de très nombreux bradyzoïtes (28).

Ces kystes à bradyzoïtes sont facilement reconnaissables en histologie.

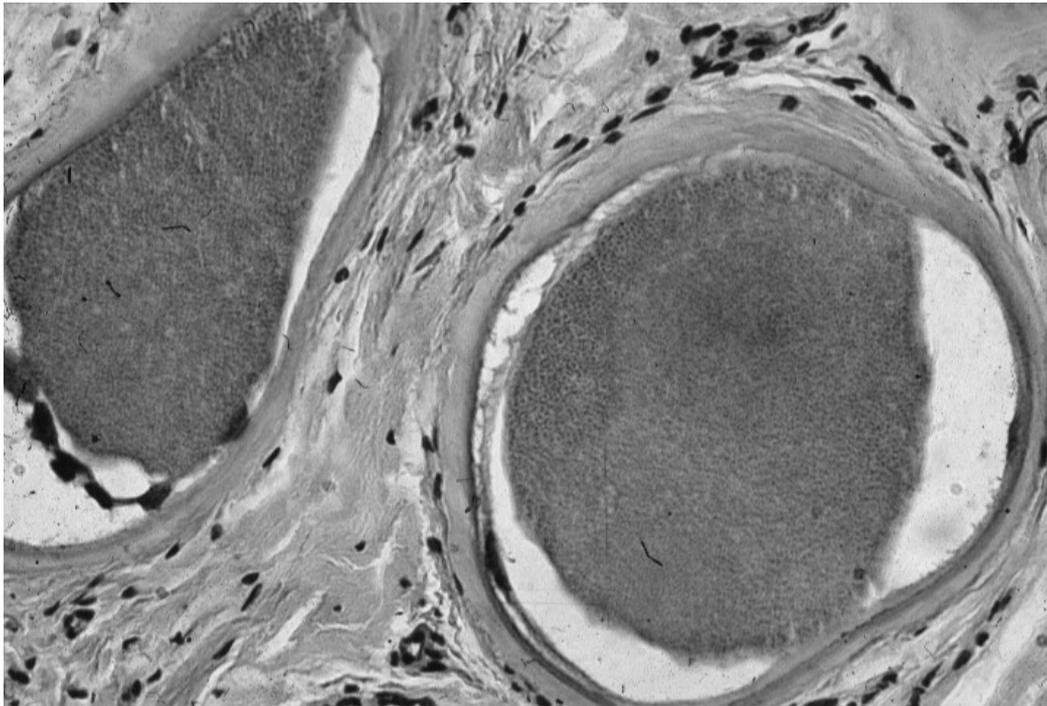


Figure 16: Kyste intracellulaire caractéristique de *Besnoitia besnoiti* chez un bovin, coloration à l'hémalum-éosine, d'après MF, ENVT

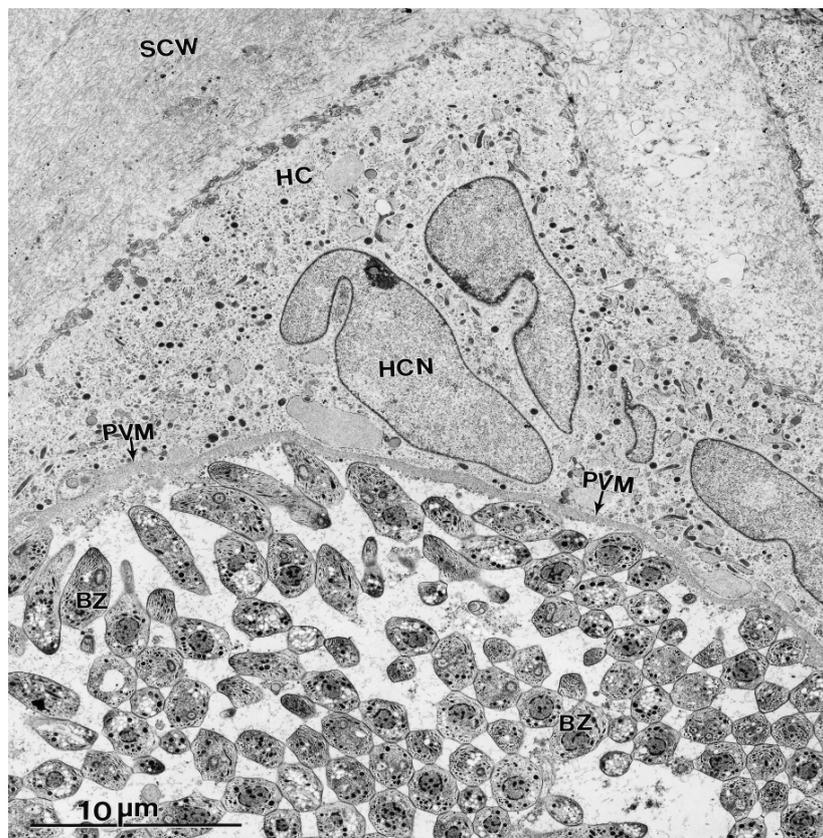


Figure 17 : Image en microscopie électronique d'un kyste de *Besnoitia besnoiti*. Membrane secondaire (SCW) entourant la cellule hôte (HC) ainsi que son noyau (HCN), la vacuole parasitophore (PVM) et de nombreux bradyzoïtes(BZ). (35)

b. Les zoïtes

Ils ont une forme générale constante et très polarisée : l'extrémité antérieure est pointue comparée à l'extrémité postérieure arrondie (105). Leur structure générale est montrée par la figure 18.

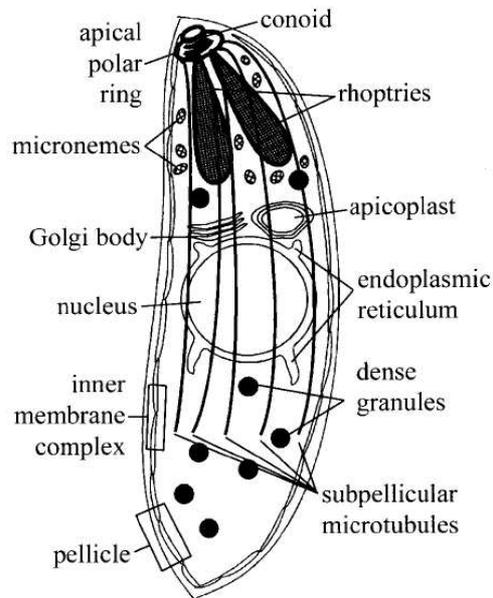


Figure 18 : Structure générale d'un apicomplexa, d'après Morrissette (70)

i. Le cytosquelette

Partant de l'anneau polaire, 22 microtubules sub-pelliculaires s'enroulent de manière hélicoïdale jusqu'au 4/5 de la cellule (86). Le nombre de ces microtubules est constant durant tous les stades de développement. Le conoïde est lui aussi formé de microtubules enroulées en spirale serrée formant une sorte de cône et de deux microtubules excentrées droites dans le cône.

Ces microtubules ont une composition différente des microtubules classiques car elles ne sont pas détruites par les antimitotiques couramment utilisés (86).

Le cytosquelette actine-myosine n'est pas spécifiquement décrit chez *Besnoitia besnoiti* mais le cytosquelette des Apicomplexa est essentiel à l'invasion des cellules hôtes et donc au parasitisme. Les microtubules permettent la polarisation du parasite et l'invasion des cellules, l'actine et la myosine permettent le déplacement des parasites (70).

ii. Le complexe apical

L'extrémité antérieure est typique d'une cellule du genre apicomplexa : on y trouve le conoïde (structure cylindrique avec un matériel électro-dense), l'anneau polaire, des microtubules, des rhoptries. C'est le complexe apical.

L'anneau polaire est constitué de la jonction des membranes internes du parasite. Il sert d'attache aux microtubules sub-pelliculaires. Il existe également un anneau polaire terminal qui se situe au pôle caudal de la cellule. Son rôle n'est pas connu.

Le conoïde est une structure rétractile en forme de cône tronqué et creux. Il tient sa forme des microtubules du conoïde et de deux microtubules internes que l'on peut voir sur la photographie en microscopie électronique de *Toxoplasma gondii* sur la figure 19 et sur la figure 20.

Chez *Besnoitia besnoiti*, les rhoptries s'étendent jusqu'au noyau du parasite. Elles ont une forme de massue. Il y a aussi de nombreux micronèmes. Micronèmes et rhoptries ont des fonctions sécrétoires.

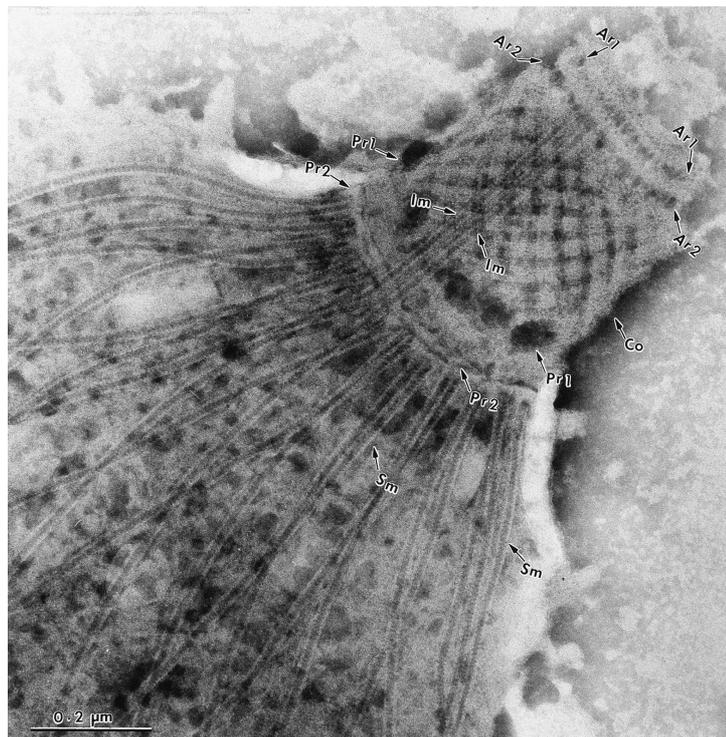


Figure 19: Conoïde de *Toxoplasma gondii* (34), visualisation des microtubules du conoïde et des microtubules sous membranaires

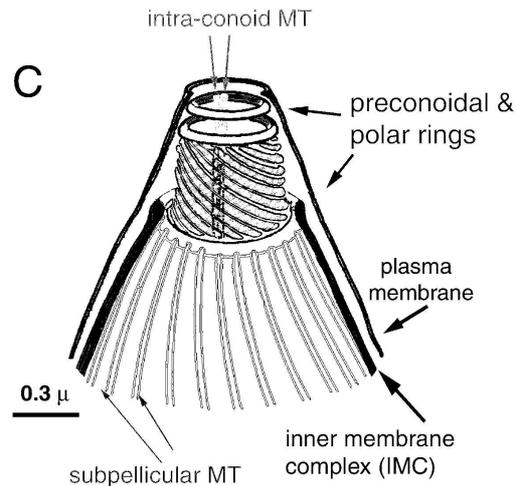


Figure 20: Schématisation du conoïde des parasites du phylum des *Apicomplexa* (56)

iii. Les membranes

La membrane est composée de trois couches, la plus externe entourant toute la cellule est la membrane plasmique, elle entoure tout le parasite. Les deux membranes plus internes se terminent au niveau du complexe apical. Leur terminaison forme l'anneau polaire (76, 105). Il est décrit chez d'autres Apicomplexa (70, 86) que les trois couches de membrane sont intimement associées au cytosquelette actine et myosine.

Des micropores peuvent être observés(35, 76).

iv. Organelles

Dans le cytoplasme, une assez grande quantité de micronèmes est observée. Ces micronèmes ressemblent aux rhoptries mais sont d'une taille inférieure.

Des granules d'amylopectine sont aussi présents au pôle postérieur (35).

Une structure mitochondriale de grande taille est également observable (35).

v. Les bradyzoïtes

Les bradyzoïtes sont à l'intérieur des kystes. Ils sont en forme de virgule, de croissant ou en forme de banane suivant les auteurs (8, 35, 85). Ils sont très rarement de forme arrondie ou ovoïde.

Les bradyzoïtes situés à proximité de la paroi semblent émettre de petites structures vésiculaires se dirigeant vers la paroi interne du kyste. Ces vésicules sont absentes dans la matrice entourant les bradyzoïtes situés au centre du kyste. Leur rôle n'est pas encore connu.

vi. Les tachyzoïtes, forme proliférative

Les tachyzoïtes sont les formes prolifératives. Il est possible de visualiser des formes libres dans le sang des animaux en phase fébrile de la maladie et des formes intracellulaires dans certaines cellules de l'endothélium ou juxta vasculaires formant des pseudokystes. Leur forme générale est identique à celle des bradyzoïtes.

Le tableau suivant récapitule les données bibliographiques propres à chacune des deux formes décrites ci-dessus.

Tableau 2: Structure des bradyzoïtes et des tachyzoïtes

Caractéristiques	<i>Tachyzoïtes</i>	<i>Bradyzoïtes</i>
Taille en μm	6_7,5 x 2,5_3,9 μm (86)	8_10 x 2 μm (6, 75).
Microtubules	22 (105)	22 (76)
Micropore	Oui (76, 105)	Oui (76)
Micronèmes	Grand nombre (105)	Grand nombre (plus de 70 dans une section), regroupés vers le conoïde (35)
Rhoptries	ND	- 0,2 μm de diamètre, en forme de massue, plus de huit dans certains bradyzoïtes, quelquefois une par section(35) - 6 rhoptries au total d'après Njenga (76)
Noyau	ND	Moitié postérieure (35)
Corps énigmatiques	ND	Absence (35)
Granules denses	oui	oui
Granules d'amylopectine	ND	Nombreux, postérieurs au noyau (35)

vii. Les oocystes

Depuis Peteshev (82), aucune équipe n'a pu observer des oocystes de *Besnoitia besnoiti*⁶ (32, 87). Selon lui, les oocystes de *Besnoitia besnoiti* sont très semblables aux oocystes de *Toxoplasma gondii*. Ils mesurent 11,6-14,2 x 14,2-16 μm .

⁶ Voir Section Epidémiologie, Transmission par ingestion d'oocystes

Pour cette partie, nous allons décrire la structure des oocystes des espèces de *Besnoitia* dont les hôtes définitifs sont connus. Ce sont tous des oocystes bisporulés et tétrazoïques.

Les oocystes de *Besnoitia wallacei* sont rejetés dans les fèces de chats domestiques. Ils sont émis 11 à 24 jours après l'infestation et durant 5 à 12 jours, 11 jours en moyenne. Ils ne sont pas sporulés et donc non infestants (Figure 21 et Figure 22 A). Ils sont presque sphériques et mesurent 12 μm sur 17 μm . La paroi de l'oocyste est double, elle est épaisse de 0,5 μm . Le sporonte a un cytoplasme finement granuleux qui remplit quasiment l'intégrité de l'espace au sein de l'oocyste (48).

Dans une solution contenant 1 à 2% d'acide sulfurique, les oocystes sporulent en 64 à 96 heures. Une fois sporulé, l'oocyste prend une forme d'ellipse. Il contient deux sporocystes elliptiques (sans corps de Stieda) qui mesurent 8 μm sur 11 μm . Chaque sporocyste contient quatre sporozoïtes mesurant 2 μm sur 10 μm (48).

Les oocystes de *Besnoitia darlingi* sont également rejetés au bout de 9 à 11 jours dans les fèces de chats domestiques qui sont les hôtes définitifs. Ils sont sphériques et mesurent environ 11 μm de diamètre (33).

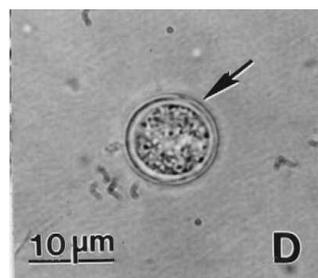


Figure 21: Oocyste de *Besnoitia darlingi* non sporulé (33).

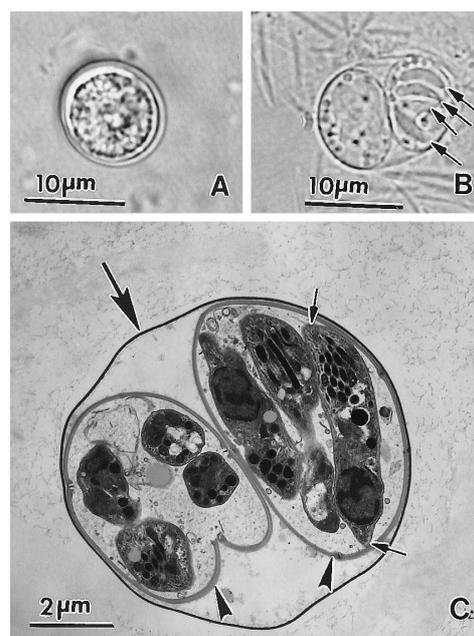


Figure 22: Oocystes de *Toxoplasma gondii* A: non sporulé , B: sporulé , C: Sporulé en microscopie électronique (34)

3. Culture et isolement de souches

a. Intérêt de la culture de souches de *Besnoitia besnoiti*

La culture de parasites, *in vitro* comme *in vivo* a plusieurs applications. Cela permet l'étude du parasite (morphologie, immunologie, pharmacologie, diagnostic, production de vaccin...) notamment pour éclaircir ce que l'on n'arrive pas à voir en conditions naturelles (stades de développement chez l'hôte définitif, stades de reproduction asexuée...).

b. Type de cellule utilisé

Pour les cultures *in vitro*, la majeure partie des équipes utilise les cellules Véro (Cellules de rein de singe vert) mais des essais ont été fait par l'équipe de Shkap avec d'autres cellules de mammifère (Fibroblastes de souris L929, Madin Darby adult kidney cells MDBK, lymphoblastes bovins infectés avec des schizontes de *Theileria annulata* BL) (96) ainsi qu'avec des cellules d'arthropodes (différentes espèces de tiques) (89, 90).

Le parasite se multiplie aussi bien dans des cellules de singe, de bovin ou de souris, ce qui montre une faible spécificité d'espèce, de plus, le taux de multiplication est identique qu'il s'agisse de cellules épithéliales ou de cellules fibroblastiques (96).

Il est possible de cultiver ces parasites sur des cellules de tiques même si la multiplication est moindre qu'avec des cellules Véro. Par contre, les cellules parasitaires ont alors tendance à perdre leur forme allongée ou en banane (donc leur polarité) pour prendre une forme ronde. Aucun test d'infection avec ces parasites cultivés sur cellules de tiques n'a été fait sur des animaux de laboratoire pour savoir si les parasites restaient infectants (89). Ces essais sur cellules de tiques ont été faits en raison de l'hypothèse de Pols (85)..

Pouvoir multiplier les parasites sur ces cellules de tiques a un autre intérêt. Le vaccin pour *Besnoitia besnoiti* est un vaccin vivant atténué⁷. Or il est produit sur cellules de mammifères, il y a donc un risque de contamination par d'autres agents infectieux comme ça a été le cas pour certains vaccins pour bovins et pour humains (55, 108). Le fait de produire ce vaccin avec des cellules d'arthropode est plus sécuritaire au niveau sanitaire car il y a moins de risque de contamination par un autre agent infectieux porté par les cellules de mammifères mais il existe des risques d'allergisation et de très faibles risques de contamination.

⁷ Voir Section prophylaxie, production d'un vaccin vivant atténué

c. Conditions optimales

Les paramètres physiques et chimiques pour obtenir une croissance optimale des parasites ont été étudiés par Shkap sur des cellules Véro (94).

Le milieu de culture dans lequel les parasites se sont le plus multipliés est le milieu ML, une combinaison à volume égal de milieu de McCoy et de milieu de Leibovitz additionné de sérum de bovin. Ce milieu contient des acides aminés et des vitamines (L-Alanine, L-asparagine, Glycine, B12, Biotine, Acide ascorbique) qui sont peut-être importants pour la croissance des endozoïtes.

L'atmosphère doit contenir de l'oxygène et doit être humide.

L'âge des cellules est aussi un facteur important. En effet, des cellules jeunes sont plus permissives que des cellules âgées, il en est de même pour les cultures de *Toxoplasma gondii*.

La taille de l'inoculum initial influe également sur la multiplication des parasites.

Connaître les paramètres de croissance optimale est indispensable pour la production du vaccin vivant atténué.

d. Les infections expérimentales

i. Rongeurs et lagomorphes

De nombreux rongeurs de laboratoire comme les gerbilles (7), les lapins (85), les souris, les cobayes et les hamsters sont sensibles à l'infection ce qui permet d'étudier la besnoitiose aigue expérimentale. Par contre, ils développent des symptômes de différents types. Les cobayes et hamsters développent des signes nerveux alors que les souris ont un exsudat péritonéal avec un très grand nombre d'endozoïtes (96).

Les lapins sont sensibles à l'infection artificielle avec des bradyzoïtes ou des tachyzoïtes. Ils développent des lésions similaires à celles des bovins en condition d'infestation naturelle avec d'abord une phase fébrile, puis des œdèmes et enfin des lésions cutanées (3, 7, 85).

ii. Ruminants

Les moutons et les chèvres sont sensibles à l'infection expérimentale par voie parentérale. Les ovins développent uniquement un syndrome fébrile ; par contre, les caprins,

outre le syndrome fébrile, présentent des œdèmes du cou et du museau, un épiphora et écoulement nasal, et des kystes cutanés sont trouvés à l'examen histologique (85).

Lorsqu'on infecte des bovins, on observe en général une forme subaigüe (85) avec un syndrome fébrile et l'apparition de kystes cutanés et oculaires, généralement sans phase d'œdème et sans sclérodermie.

4. Résistances aux agents physiques, chimiques et biologiques

Il est important de connaître la durée de vie des parasites dans les différents tissus et dans différents milieux de prélèvement pour optimiser les infestations expérimentales mais aussi pour optimiser les conditions de transport du matériel contaminé à des fins diagnostiques.

a. Résistance des formes prolifératives dans le sang

i. Travaux de Cuillé, Chelle et Berlureau en 1936 (29, 31)

Pour leurs tests, ces auteurs ont utilisé du sang de bovin en phase fébrile qu'ils ont inoculé à des bovins issus de zone où la besnoitiose n'existait pas.

Une partie du sang a été injectée par voie intraveineuse immédiatement après le prélèvement, une autre partie a été citratée et stockée soit cinq heures, soit vingt-quatre heures avant d'être injectée par voie intraveineuse.

L'apparition d'un cortège de symptômes typiques a été utilisée comme critère de réussite de l'infestation et donc de viabilité de l'agent infectieux.

La conclusion a été que les parasites pouvaient survivre cinq heures dans du sang citraté. Il est important de noter qu'il n'y a pas eu de recherche d'infections inapparentes ou subcliniques.

ii. Travaux de Pols en 1960 (84, 85)

Une étude préliminaire de Pols utilisant le protocole de Cuillé, Chelle et Berlureau a effectivement montré que les infestations étaient possibles avec du sang citraté stocké plus de cinq heures car des kystes cutanés ont été retrouvés (84).

Des travaux ont ensuite été réalisés sur des lapins (85). Du sang de lapin avec des formes parasitaires observables en microscopie optique a été injecté à des lapins sains par voie intra

péritonéale après différents types de stockage (température, durée de stockage) et différents conservateurs anticoagulants (citrate de sodium, héparine, oxalate de potassium, fluide d'Edington et citrate additionné de pénicilline et de streptomycine). Les résultats sont résumés dans le tableau 3.

L'apparition de symptômes caractéristiques ou la présence d'une immunisation (par challenge avec une souche très pathogène) a été considérée comme le reflet de la réussite de l'infestation et donc comme signature de la survie du parasite.

L'exposition à l'héparine ou à l'oxalate de potassium à température ambiante durant une demi-heure n'a pas d'effet sur l'infectivité de *Besnoitia besnoiti*. L'utilisation du fluide d'Edington, couramment utilisé pour stocker les éléments viraux, n'affecte pas l'infectivité des parasites immédiatement mais ne permet pas leur survie plus de 90 minutes.

A température ambiante, l'utilisation de citrate de sodium permet la survie du parasite au moins 48 heures mais il n'y a plus d'infestation après 96 heures de stockage.

Le stockage 24 heures à température corporelle (37°C) ne permet pas la survie des parasites. Par contre, si le sang parasité est stocké un bref instant à 39°C avant d'être injecté, il y a infestation des animaux.

Le stockage à 4°C, c'est-à-dire la température d'un réfrigérateur, permet la survie des parasites 96 heures au minimum.

Le parasite n'a pas survécu au froid négatif dans cette expérience.

L'ajout d'antibiotiques au sang citraté n'a pas eu d'effet positif sur la survie du parasite, cela à même réduit la durée de survie. Mais il est intéressant de remarquer que l'effet négatif des antibiotiques semble retardé à basse température et accéléré à température élevée.

Cette étude ne peut être considérée que comme apportant des observations préliminaires car pour déterminer plus précisément les limites de survie du parasite, il faudrait bien plus d'animaux pour avoir des interprétations statistiques significatives.

Tout cela démontre que le parasite survie dans le sang et explique pourquoi la transmission mécanique à partir d'un animal malade en phase aigüe est possible.

Nombre de lapins	Conditions de stockage			Nombre ayant réagit	Nombre de morts
	Durée	Température	Anticoagulant		
8	0	39°C	Citrate de sodium	8	3
2	1,5 heure	20°C	Citrate de sodium	2	0
2	24 heures	20°C	Citrate de sodium	2	0
1	24 heures	37°C	Citrate de sodium	0	0
1	48 heures	20°C	Citrate de sodium	1	0
1	72 heures	4°C	Citrate de sodium	1	1
1	96 heures	20°C	Citrate de sodium	0	0
1	96 heures	4°C	Citrate de sodium	1	1
2	30 jours	-18°C	Citrate de sodium	0	0
2	12 jours	-76°C	Citrate de sodium	0	0
2	24 mois	-76°C	Citrate de sodium	0	0
2	26 mois	-76°C	Citrate de sodium	0	0
1	30 mois	-76°C	Citrate de sodium	0	0
2	0	39°C	Citrate de sodium avec pénicilline et streptomycine	2	1
2	48 heures	20°C	Citrate de sodium avec pénicilline et streptomycine	0	0
1	72 heures	4°C	Citrate de sodium avec pénicilline et streptomycine	1	1
1	96 heures	4°C	Citrate de sodium avec pénicilline et streptomycine	0	0
1	0,5 heure	20°C	Oxalate de potassium	1	1
1	0,5 heure	20°C	Héparine	1	1
2	0	39°C	Fluide d'Edington	2	1
2	1,5 heure	20°C	Fluide d'Edington	0	0

Tableau 3: Résistance de *Besnoitia besnoiti* à divers agents physiques et chimiques d'après Pols (85)

b. Résistance dans les kystes

A ce jour, aucune publication ne traite de la résistance des kystes intracellulaires. Ainsi, on ne sait pas si la congélation assainit les viandes parasitées comme c'est le cas pour les viandes parasitées avec les trichines.

Par contre, il est admis que les bradyzoïtes des kystes restent vivants tout au long de la vie de l'animal infecté et donc que l'animal même guéri est une source de parasite pour les animaux sains des alentours (8, 85).

5. Physiopathologie (à partir de différents apicomplexa)

a. Le déplacement des parasites extracellulaires

Chez les espèces pathogènes, la motilité est associée à l'invasion de la cellule hôte et emploie les composants du cytosquelette (actine et myosine). Le déplacement des Apicomplexa est dénommé en Anglais « gliding locomotion », c'est-à-dire locomotion planée, silencieuse car il n'y a pas d'utilisation de flagelles, ou de déformation amiboïde de la cellule parasitaire. Ce mode de déplacement est complexe. Il a été étudié chez *Toxoplasma gondii*.

b. Le mode d'invasion des cellules hôtes (70, 107)

L'invasion de la cellule hôte est un phénomène actif de la part du parasite et qui met en jeu les différents organites du complexe apical de façon séquentielle (Figure 23).

La première étape de ce processus correspond à la reconnaissance entre parasite et cellule hôte. La motilité actino-dépendante du parasite ainsi que les protéines des micronèmes interviennent dans ce processus.

Une fois le contact initié, l'internalisation est immédiate et dure 5 à 10 secondes. Le parasite s'oriente par rapport à la membrane cellulaire. On observe alors l'extension du conoïde et la mise en place d'une jonction mobile résultant de l'accolement étroit des plasmalemmes de la cellule hôte et du parasite. Cette jonction mobile permet le passage des lipides de la cellule hôte vers la membrane vacuolaire qui se forme en avant de la jonction, mais pas le passage des particules membranaires. La membrane de la cellule hôte participe pour 80% à la formation de la membrane vacuolaire, les 20% restant provenant vraisemblablement de l'exocytose du contenu des rhoptries concomitante à l'invasion. Les protéines vacuolaires proviennent des rhoptries et participent à la formation des pores membranaires. Les granules denses sont impliqués dans la maturation de la membrane parasitophore et les protéines exocytées s'associent à la membrane vacuolaire ou aux structures intra-vacuolaires.

Les différentes phases d'exocytose des micronèmes, rhoptries et granules denses sont des processus calcium-dépendants. Le relargage progressif de calcium serait également responsable de la réactivation du parasite lors de sa sortie de la cellule hôte.

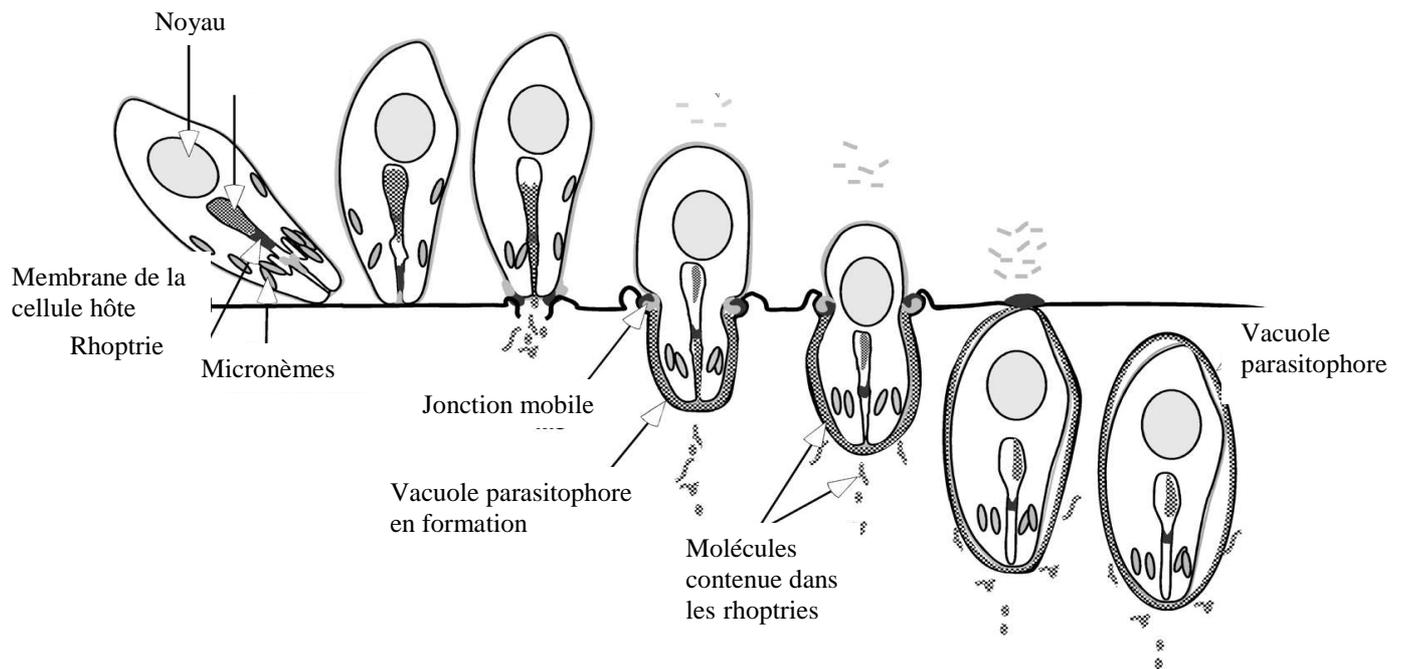


Figure 23: Invasion de la cellule hôte par un parasite du phylum Apicomplexa(107)

c. La formation des pseudokystes et des kystes

- Travaux de Bigalke, Basson et McCully en 1970 (3) :

Grace à des infestations expérimentales avec une grande quantité d'organismes infectants, cette équipe a réussi à produire des cas classiques de besnoitiose sur les bovins et ainsi d'étudier la chronologie de l'infection et les mécanismes de formation des pseudokystes parasitaires.

Entre le 1^{er} et les 10^{ème} - 12^{ème} jours, les organismes semblent proliférer et parasiter des cellules spécifiques se trouvant dans la paroi vasculaire. L'identité de ces cellules n'est pas connue. La sévérité des lésions vasculaires semble indiquer qu'une toxine est responsable de l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux et d'effets dégénératifs et nécrosants.

La réaction de l'hôte est surtout confinée aux parois des vaisseaux et des tissus environnants. Une prolifération d'histiocytes et de cellules mononuclées est observée. Plus rarement, une prolifération de cellules granulocytaires peut être localisée notamment autour des pseudokystes dégénérés et des zones nécrotiques. Il y a donc une inflammation périvasculaire, responsable parfois de petites hémorragies localisées qui entraînent une fibrose réactionnelle et des œdèmes puis une nécrose secondaire des territoires parasités.

La formation des kystes est postérieure à la phase de prolifération. Les cellules parasitées ne sont pas des cellules endothéliales mais plutôt des histiocytes (85). Ces cellules sont soit dans la paroi vasculaire, soit dans les tissus juxta-vasculaires.

Dès le 11^{ème} jour, ces cellules, si elles sont parasitées s'agrandissent et deviennent multinuclées. Leur paroi externe devient basophile en hémalum-éosine et réagit fortement au PAS (acide périodique de Schiff), ce qui démontre une très forte production de mucopolysaccharides.

La cellule parasitée produit autour d'elle une membrane hyaline qui réagit fortement au PAS à sa face intérieure et moyennement à sa face extérieure. L'intensité de la réaction PAS positive diminue au fur et à mesure du temps. Une réaction positive à la coloration de Van Gieson à la face extérieure prouve la présence de collagène à la périphérie de certains kystes murs.

Les auteurs pensent que des fibres de collagène sont intégrées mécaniquement dans une substance sécrétée par les cellules parasitées et ainsi forment la paroi externe.

La cellule hôte est incontestablement suractivée et détournée de sa fonction originelle par des interactions biologiques avec le parasite.

La multiplication des éléments parasitaires dans la cellule hôte entraîne une compression du cytoplasme et des noyaux à la périphérie pour enfin se coller contre les parois du pseudokyste. Dans la cellule hôte, les éléments parasitaires sont contenus dans une vacuole.

Entre 30 et 42 jours, des kystes en phase de désintégration/nécrose sont visibles. Autour de certains de ces kystes, surtout autour de ceux qui sont en régression, une accumulation de cellules granulomateuses (granulocytes éosinophiles ou neutrophiles) ou de cellules mononuclées (lymphocytes) est observable.

Les kystes de 300 à 390µm de diamètre, avec des noyaux compressés en périphérie sont considérés comme des kystes matures. Ce stade est atteint à 71 jours après l'infection. A part la taille, il n'y a que peu de différence entre ces kystes matures et des kystes plus vieux.

Le tableau 4 résume tous les stades décrits ci-dessus.

Il semble que la taille des kystes et le stade d'infection soient corrélés cela peut être utilisé pour déterminer l'âge de l'infection (Figure 24). Toutefois, cela demande à être vérifié en conditions naturelles (85).

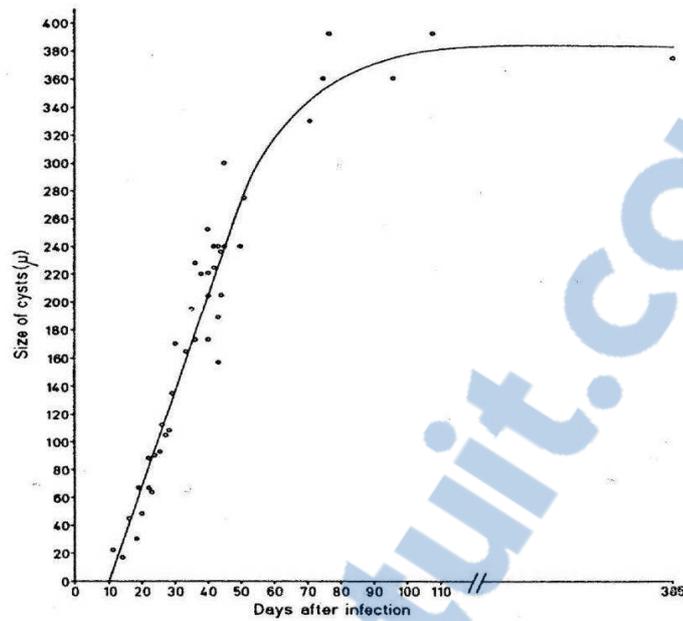


Figure 24: Taux de croissance des kystes après l'infection(3)
Tableau 4: Développement des lésions cutanées chez les bovins (3)

Stade clinique	Type de lésion	Nombre de jours après l'infection
Aiguë (incubation 1 à 5 jours)	Vascularite, périvasculite, proliférations périvasculaires.....	3-4
	Présence de <i>Besnoitia</i>	6
	Prolifération de <i>Besnoitia</i> dans l'endothélium.....	7-10
	Œdème.....	7
	Thrombose.....	7
	Histiocytes hypertrophiques.....	8
	Stade kystique très précoce (15-25μm).....	11
	Cellule hôte hypertrophiée et multinuclée.....	16
	Développement des kystes (30-100μm).....	16-25
	Fin des œdèmes.....	25
Subaiguë	Jeunes kystes (>100μm).....	26
	Kystes septés.....	30
	Kystes nécrotiques.....	30-77
	Kystes presque matures (300μm).....	70
Chronique	Kystes matures (>300μm).....	71
	Paroi des kystes éosinophiles à l'hémalum éosine.....	385

Le développement intradermique d'une grande quantité de kystes provoque une obstruction des veinules. La fibrose qui s'ensuit et la réaction granulomateuse dans le *stratum papillare* du derme expliquent la clinique de sclérodermie, hyperkératose et acanthose ainsi que l'alopecie car il y a infarctissement et donc nécrose.

On observe aussi le même phénomène sur les muqueuses respiratoires.

d. La reproduction asexuée (sur cultures cellulaires)

Les parasites du phylum Apicomplexa se répliquent par bourgeonnement interne pour créer soit deux cellules filles soit de multiples progénies.

Bigalke a observé la formation soit de deux cellules filles soit de colonies en forme de rosettes assemblées comme un régime de banane dans les cultures cellulaires sur œuf embryonné (9). Ces formes de reproduction sont proches de celles de *Toxoplasma gondii* et de *Besnoitia jellisoni* (41). Ainsi chez *Besnoitia besnoiti*, la réplique se fait par endodyogénie, comme pour *Toxoplasma gondii* et *Neospora caninum*. Ce mécanisme est schématisé dans le figure 25.

La division nucléaire est appelée « crypto-mitose » car la membrane nucléaire reste intacte tout du long et sans décondensation des chromosomes (70). Les deux cellules filles sont créées à l'intérieur d'une cellule mère intacte et encore polarisée. Ce mécanisme préserve la capacité d'invasion des tachyzoïtes nouvellement formés au cours du cycle cellulaire. Les cellules filles encore à l'intérieur de la cellule mère sont délimitées par une membrane interne (IMC) associée à des microtubules sous pelliculaires et équipées d'un panel complet d'organelles apicaux. Quand ces cellules sont totalement matures, le complexe apical de la cellule mère est désassemblé et les cellules filles bourgeonnent de la cellule mère en adoptant sa membrane plasmique (70) (Figures 26 et 27).

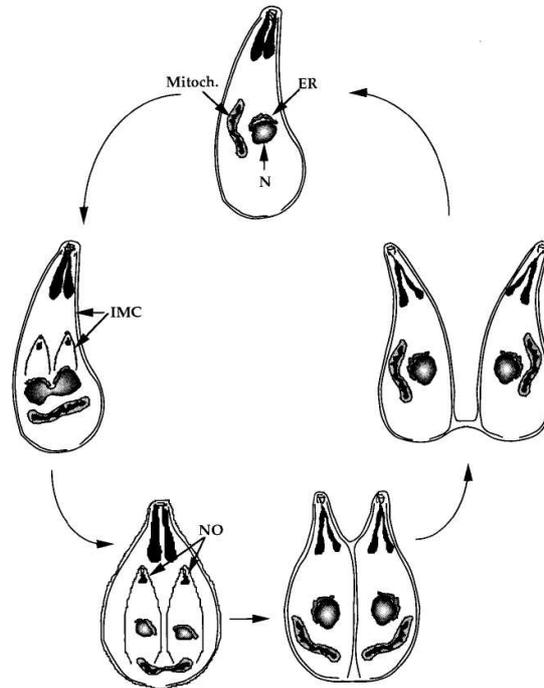


Figure 25: Schématisation du mécanisme de l'Endodyogénie (16)

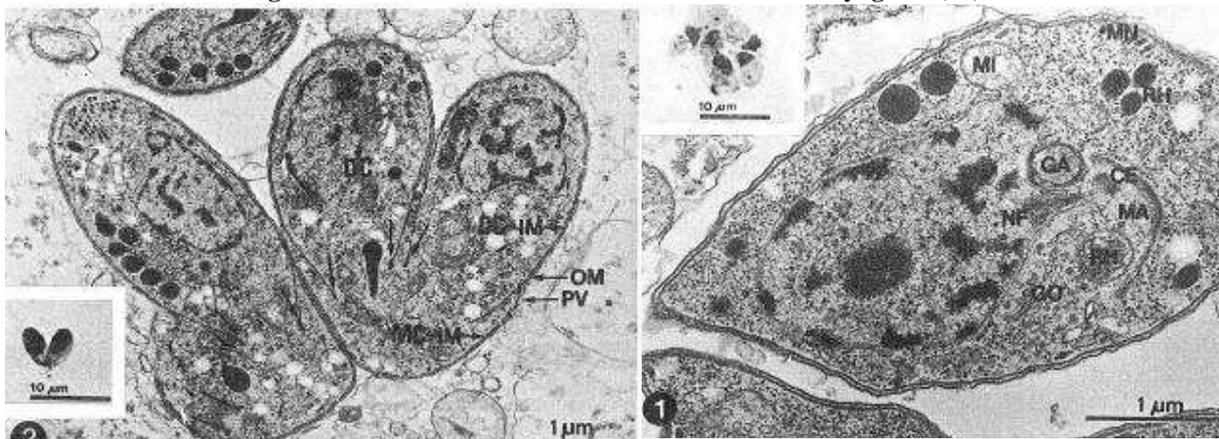


Figure 26: Figures d'Endodyogénie chez *Besnoitia besnoiti* cultivée sur cellules Véro (51)

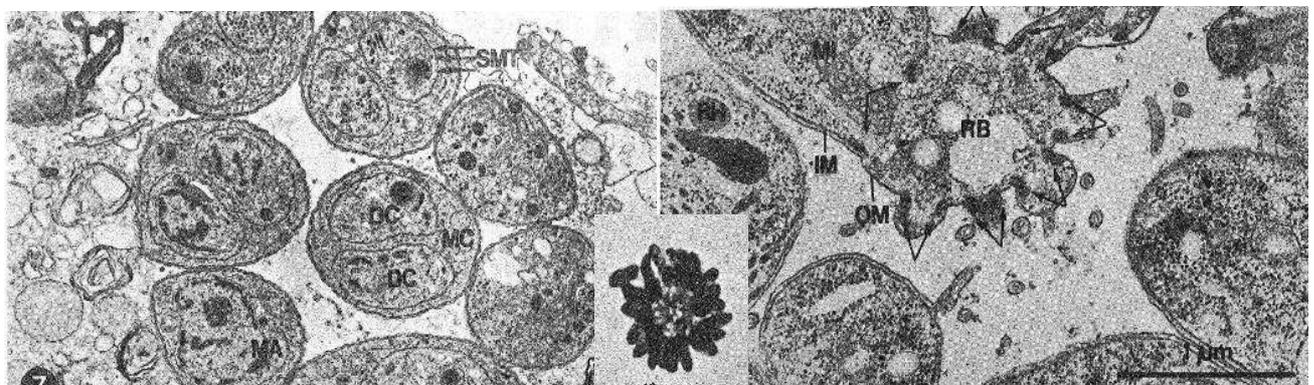


Figure 27: Figures de polyendodyogénie chez *Besnoitia besnoiti* cultivé sur des cellules Véro (51).
Visualisation des cellules mère contenant deux cellules filles à gauche et à droite visualisation d'un corps résiduel et des cellules filles en rosettes

e. La reproduction sexuée

Depuis Peteshev (82), aucune équipe n'a pu produire d'oocystes (32, 87) donc aucune étude sur le comportement du parasite chez l'hôte définitif n'a pu être réalisée. Ainsi, la reproduction sexuée de *Besnoitia besnoiti* n'a pas été étudiée.

Symptômes et lésions

1. Symptômes

La maladie évolue selon un schéma classique. Après une période d'incubation de 6 à 10 jours (43, 85), la maladie on observe 3 phases décrites par Cadéac (21) :

a. Phase fébrile

Cette phase dure 3 à 10 jours (85) parfois jusqu'à 28 jours (8).

Il s'agit d'une phase aigue durant laquelle il y a multiplication des formes prolifératives de *Besnoitia besnoiti* (tachyzoïtes) et parasitémie.

L'hyperthermie apparaît brutalement, elle atteint 40°C à 42°C. Elle est accompagnée des manifestations fébriles habituelles : abattement, tachypnée, tachycardie, anorexie et arrêt de la rumination (43).

La photophobie est marquée, elle apparaît parfois après la phase de fièvre (85). Les animaux restent à l'ombre, refusent de sortir. Ils piétinent sur place et répugnent à se déplacer. Ils s'isolent du troupeau (43, 45).

Il y a une congestion de la peau de l'encolure, de la face interne des cuisses, de la région périnéale, des oreilles et du chanfrein. Ces zones sont sensibles au pincement. On peut parler d'hyperesthésie (43, 45).

L'inflammation des muqueuses pituitaires et oculaires est à l'origine d'un épiphora constant et d'écoulements séro-muqueux d'abord, puis muco-purulents. Cela attire les insectes (43, 45).

Des diarrhées et des avortements ont été décrits aussi durant cette phase. Il s'agit toutefois de symptômes rares (85, 91).

b. Phase des œdèmes

« Il survient des engorgements au coude, aux paupières, au mufle et quelquefois à la lèvre postérieure. Par les narines, il s'écoule une grande quantité de mucus visqueux ; ces humeurs sont quelquefois épaisses. Les yeux sont plus larmoyants ; il y a des tumeurs œdémateuses au fanon. Les extrémités

inférieures sont fortement engorgées ; souvent aussi, l'engorgement paraît se concentrer à la tête, qui acquiert alors un volume monstrueux. Les vaches laitières ont sous le ventre un engorgement qui s'étend souvent jusqu'à l'auge, ou il prend la forme d'une bouteille. »

M. Santin, vétérinaire à Dourgne (Tarn), 1817 (21)

Cette phase dure 6 à 15 jours (85).

Les manifestations fébriles régressent alors que les œdèmes apparaissent sur la tête et les régions déclives. L'animal a une tête enflée, un rétrécissement des ouvertures oculaires et des naseaux. L'œdème des membres est d'intensité variable mais remonte souvent jusqu'au canon et la marche est de plus en plus difficile car la flexion des articulations est douloureuse (43). Les autres régions déclives comme le fanon, l'ars, la mamelle et le scrotum sont souvent également œdématiées.

Chez la femelle, la mamelle est chaude, douloureuse, les trayons sont violacés à leur base.

Chez le mâle, le scrotum est hypertrophié et oedematié, l'atteinte des testicules entraîne une baisse de la fertilité.

Il y a une adénomégalie superficielle généralisée (43).

c. Phase de sclérodermie

« La peau est rude et dure au toucher, il y a une ardeur brûlante par tout le corps, surtout sur le dos. Il se forme sur la peau de larges écailles semblables à celle des écorces des arbres. Les naseaux, les pieds, la tête sont couverts de grains ou de petites pustules. Des ozènes fréquents accompagnent cette maladie. »

Végèce, IVème siècle (21)

« Dans tous les points où il existe des engorgements, la peau se dessèche ; elle prend l'apparence d'un cuir tanné, où il semble qu'elle a été brûlée par un fer rouge, elle tombe en lambeau et s'exfolie comme l'écorce d'un platane »

M. Santin, vétérinaire à Dourgne (Tarn), 1817 (21)

Il s'agit de la phase terminale. Elle peut évoluer sur plusieurs mois (43). Les œdèmes disparaissent.

Les poils secs et cassants tombent, les œdèmes régressent et la peau, qui a perdu son élasticité, reste plissée et épaissie ce qui donne cet aspect de peau d'éléphant qui a contribué au nom ancien de la maladie, éléphantiasis. Des crevasses surinfectées apparaissent au niveau des articulations et on observe des escarres et la chute de lambeaux de peau. Du fait du rétrécissement des naseaux et du jetage à ce stade muco-purulent, la respiration est difficile et bruyante (cornage) (43).

La station debout est pénible et les déplacements sont très difficiles, les animaux piétinent. Ils s'amaigrissent et finissent par mourir en quelques mois.

Certains animaux, moins atteints, survivent, la maladie devient chronique. Les symptômes cutanés prédominent alors avec la présence de zones dépilées, hyperkératosées et hyperpigmentées. Ces lésions sont classiquement situées près du mufle, sur le thorax, le cou, la face interne des cuisses, les plis des articulations des membres. De loin, l'animal peut avoir un aspect tigré (21).

Les kystes parasitaires sont à ce stade identifiables à l'œil nu et au touché. Ils sont présents dans la peau et dans la conjonctive sclérale mais sont plus faciles à mettre en évidence dans la conjonctive sclérale à partir de la 6^{ème} ou 7^{ème} semaine post infection. Toutefois, ils apparaissent entre 4 semaines et 8 semaines (8). Lorsqu'on regarde à jours frisant, ils apparaissent comme des grains de semoule ou des grains de la taille d'une tête d'épingle (43).



Figure 28: Bovin atteint de besnoitiose en phase des œdèmes, remarquer l'épiphora, d'après MF, ENVT



Figure 29: Vache en phase des œdèmes, remarquer l'anneau violacé à la base des trayons, d'après MF, ENVT

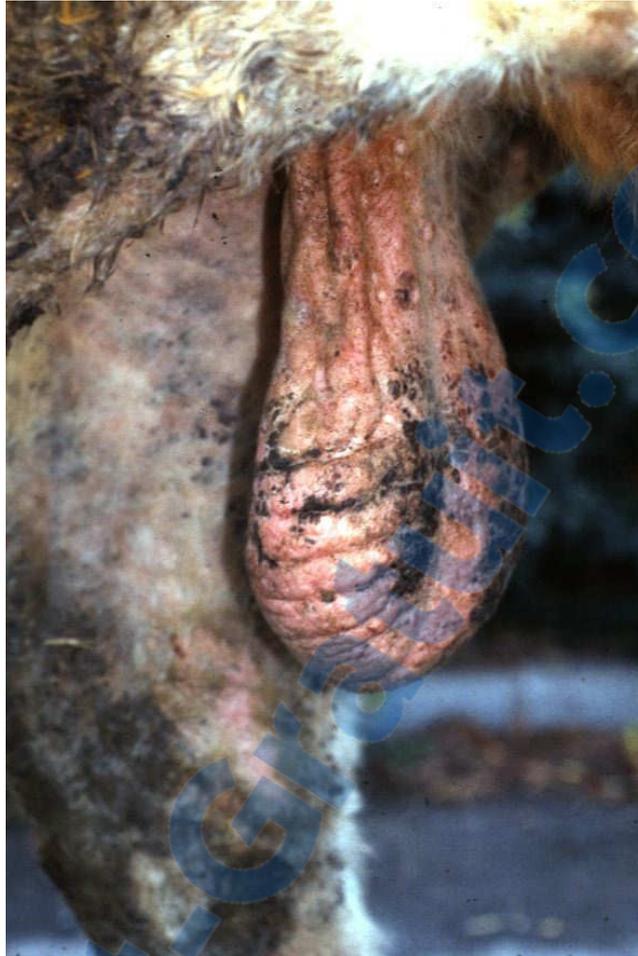


Figure 30 : Taureau atteint de besnoitiose en phase de sclérodémie, remarquer les petits kystes visibles à la base du scrotum, d'après MF, ENVT



Figure 31: Bovin en phase de sclérodémie, d'après MF, ENVT



Figure 32: Bovin en phase de sclérodémie, d'après MF, ENVT

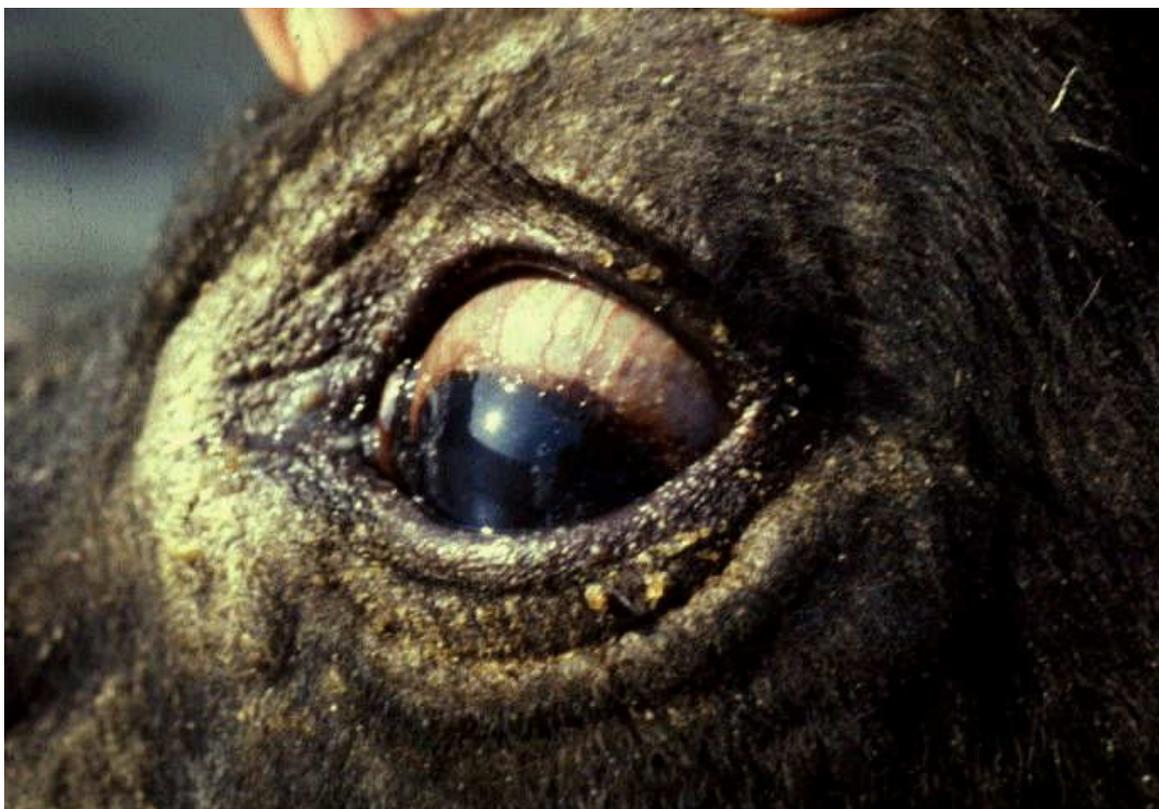


Figure 33: Kystes sur la sclère conjonctivale, d'après MF, ENVT

d. Atteinte de l'appareil reproducteur

i. Chez le mâle

Un des symptômes ayant le plus de portée économique est l'infertilité voire la stérilité rencontrée chez les mâles atteints.

Neumann a observé que tous les taureaux atteints de besnoitiose avaient des lésions de l'appareil génital (73). La formation de kystes dans la paroi des vaisseaux sanguins entraîne une vascularite, une fibrose vasculaire et une thrombose. Cela explique les lésions visualisées dans ces organes car la formation de kystes dans les vaisseaux des testicules, plexus pampiniforme, épидидyme entraîne mécaniquement une gêne circulatoire à l'origine d'un processus de dégénérescence. responsable de la stérilité qui est tardive (64, 73).

Lors d'infections inapparentes, il n'y a pas de différence à l'analyse de la qualité du sperme. Il semble donc que ces animaux soient aptes à la reproduction. Pour un cheptel sain il est préférable d'utiliser des paillettes de sperme congelées provenant de taureaux sélectionnés (22).

ii. Chez la femelle

Certains auteurs attribuent des cas d'avortement à la besnoitiose. Comme dans les testicules des kystes ont été observés dans l'utérus (21).

2. Lésions

a. Lésions macroscopiques

Les lésions macroscopiques se superposent à la clinique.

Durant la phase aiguë, ou phase fébrile, les lésions ne sont pas spécifiques. Elles sont à caractère congestivo-hémorragiques.

La carcasse est fiévreuse ou surmenée. Des pétéchies sont observées sur les muqueuses de la langue, de la trachée et de l'utérus et sur l'endocarde. Des zones de dégénérescences sont visualisables sur le foie, les reins et les muscles ainsi que des foyers inflammatoires



circonscrits sur la plèvre et le péritoine. Une arthrite séro-fibrineuse peut être présente notamment sur les boulets. Une splénomégalie peut être observée. Les poumons et la trachée sont congestionnés.

Des lésions plus caractéristiques apparaissent lors de l'évolution de la maladie. La carcasse de l'animal est cachexique, et de nombreuses lésions y sont associées :

- Peau

Les lésions d'hyperkératose à la tête, l'encolure et la partie inférieure des membres sont associées à la présence de kystes sous cutanés facilement identifiables à l'œil nu et au toucher (rugosité).

- Appareil respiratoire

Des kystes sont présents dans la membrane muqueuses des cavités nasales, de la pituitaire, du larynx, de la trachée, des bronches et dans le parenchyme pulmonaire.



Figure 34: Kystes sur la muqueuse respiratoire d'un renne (37)

- Appareil cardio-vasculaire

Les lésions sont préférentiellement situées dans les veines des membres et de l'encolure. Les kystes sont visualisables à l'œil nu et l'intima des vaisseaux est granuleuse au touché.

- Appareil locomoteur

Outre les lésions cutanées, une arthrite séro-fibrineuse avec des pétéchies peut être localisée au niveau des boulets préférentiellement.

- Appareil reproducteur

Des lésions de nécrose de coagulation dans les tubes séminifères avec parfois des foyers de calcification sont visibles.

La première description de lésions de besnoitiose touchant l'appareil reproducteur femelle a été faite par Nobel et coll. en 1977 (79).

Aucune lésion macroscopique n'a été retrouvée sur les ovaires de vaches atteintes de besnoitiose chronique.

b. Lésions microscopiques

i. Phase fébrile et phase des œdèmes (3, 8, 42, 69)

Il s'agit essentiellement de lésions de type vasculaire. Tout d'abord de toutes petites veines sont touchées puis le diamètre des vaisseaux atteints augmente.

Les lésions que l'on peut visualiser sont des thrombo-embolies, des nécroses fibrinoïdes de l'intima et de la média des vaisseaux, des hémorragies, des lésions d'inflammation périvasculaire à granulocytes éosinophiles et à cellules mononuclées.

Des tachyzoïtes peuvent être visualisés dans l'endothélium des vaisseaux. Ils sont localisés dans des histiocytes périvasculaires.

Les thrombi, qui subissent la nécrose, entraînent de multiples petites lésions de thrombophlébite à l'origine de foyers hémorragiques.

Ce type de lésion ne siège pas seulement dans la peau et dans les voies respiratoires mais également dans tous les autres organes. On peut noter au sein du parenchyme hépatique une dégénérescence hyaline des hépatocytes avec vacuolisation des cellules et au niveau de l'appareil locomoteur des lésions musculaires de type nécrose-dégénérescence cirreuse avec des foyers de minéralisation.

ii. Phase de sclérodermie (42)

Les lésions cutanées sont caractérisées par la présence de kystes dans le *stratum papillosum* du derme et dans les zones les plus vascularisées du conjonctif sous cutané.

L'organisme réagit autour des kystes en les entourant d'une zone fibro-cellulaire riche en collagène (positivité marquée à la coloration de Van Gieson).

Dans les vaisseaux, les kystes peuvent se situer dans toutes les tuniques mais restent toujours recouvert par l'endothélium vasculaire. Ils peuvent plus ou moins être saillants dans la lumière.

Dans l'appareil respiratoire, les kystes sont retrouvés dans la muqueuse du septum nasal et de l'ethmoïde (Figure X), le larynx, la trachée, mais aussi en très grande quantité dans le *stratum papillosum* du mufle.

Les kystes localisés à l'appareil locomoteur sont entourés d'une réaction cellulaire intense composée de plusieurs couches : la première est granulomateuse, la seconde est composée de cellules en fuseau et enfin, la dernière est une zone nécrotique qui déjà était décrite durant les phases fébrile et des œdèmes.

Les nœuds lymphatiques présentent une hyperplasie lymphoïde. Aucun kyste n'a été trouvé dans le parenchyme. Des kystes sont retrouvés dans les parois des vaisseaux lymphatiques.

Pour les yeux, des kystes sont retrouvés dans la conjonctive recouvrant la sclère (conjonctive sclérale), dans l'iris, parfois dans les corps ciliaires. Aucun n'est trouvé dans la rétine et la choroïde.

Dans l'appareil génital, des kystes sont retrouvés chez les mâles et chez les femelles.

Chez les mâles, des kystes peuvent être présents sur l'albuginé, le plexus pampiniforme et une équipe de recherche en a même observé dans la lumière de l'épididyme d'un bouc (souche caprine, infection naturelle). Il est alors logique de se poser la question d'une transmission par voie sexuelle (80).

Des foyers de calcifications visualisables également macroscopiquement sont parfois présents. En effet, Giancamillo et coll. décrivent des images de calcification sur des radiologies de testicules de bovins atteints (50).

L'aspermato-génèse est plus ou moins complète dans les cas avancés (64).

Des prélèvements histologiques ont été réalisés sur des vaches atteintes de besnoitiose chronique (histologie cutanée positive) (79). Des kystes à bradyzoïtes ont été mis en évidence dans l'endomètre à diverses profondeurs (proche de la surface ou proche du myomètre), dans la paroi vaginale et dans l'endothélium d'une veine superficielle proche de l'épithélium squameux.

La présence de kystes dans l'endomètre suggère la possibilité de transmission verticale (utérine ou trans-placentaire) de la maladie. Aucun avortement n'a pu être clairement imputé à la besnoitiose. Une possibilité de transmission vénérienne ne peut pas être exclue (79).

Diagnostic

1. Suspicion épidémiologique

La besnoitiose est une maladie avec une répartition épidémiologique en foyers. Si un animal qui présente des symptômes compatibles avec la besnoitiose est dans un des foyers connu, il y a une forte suspicion étiologique. Mais cela ne reste qu'une suspicion qui doit être confirmée par une méthode plus efficace (85).

2. Diagnostic clinique

a. A partir des symptômes généraux

Les symptômes de la première phase sont très peu spécifiques, en effet, on retrouve un syndrome fébrile dans de nombreuses maladies.

L'infertilité peut être une indication lorsque l'on se trouve dans une zone d'enzootie.

A partir de la phase des œdèmes, les symptômes sont relativement caractéristiques.

b. A partir des symptômes cutanés et oculaires

L'observation de kystes sur la sclère conjonctivale permet un diagnostic précoce. En effet, tous les animaux présentant des kystes scléaux n'ont pas tous des kystes sous cutanés, par contre tous les animaux ayant des kystes sous cutanés ont également des kystes sur la conjonctive sclérale (75).

Les kystes ne deviennent visibles à l'œil nu sur la conjonctive sclérale qu'entre la 4^{ème} ou la 8^{ème} semaine après l'infection (8, 12).

L'observation de kystes sous-cutanés est plus tardive mais est facilement observable, surtout dans les cas chronique (46).

3. Diagnostic différentiel

a. Symptômes généraux

Durant la première phase de la maladie, la besnoitiose peut être confondue avec le coryza gangreneux (ou maladie des trois fontaines) due à un Herpès virus. En effet, cette affection entraîne un larmolement, un jetage, du ptyalisme, un œdème du chanfrein et de la fièvre. Toutefois, une kératite bleue accompagne souvent ces symptômes. L'évolution du coryza gangréneux et le contexte ovin/bovin vont permettre d'orienter le diagnostic. Les deux maladies peuvent coexister.

Une confusion est aussi possible avec une broncho-pneumonie (BPIE) lors de la phase fébrile en raison de la tachypnée et de l'état fébrile. Mais un examen poussé avec auscultation et percussion de la zone de projection des poumons va permettre de différencier les deux car dans la besnoitiose, il n'y a pas de modifications des bruits respiratoires.

Lors de la phase des œdèmes, le tableau clinique est caractéristique, toutefois, le praticien doit éliminer l'ehrlichiose (*Anaplasma phagocytophilum*) qui est aussi responsable d'œdèmes de l'extrémité des membres.

Il convient de penser également à la fièvre catarrhale ovine qui atteint aussi les bovins et qui est présente depuis Aout 2006 en France métropolitaine. Chez les bovins, les signes cliniques sont une hyperthermie fluctuante, une infertilité des taureaux, une hyperesthésie cutanée mais aussi des ulcérations de la muqueuse buccale et parfois des effets tératogènes.

b. Symptômes cutanés

Les gales des bovins sont des affections prurigineuses pouvant engendrer un état hyperkératoséborrhéique et une hyperplasie des nœuds lymphatiques superficiels sur l'ensemble du corps. Mais il n'y a pas association avec de l'œdème et de la fièvre. De plus, la besnoitiose n'est pas prurigineuse.

Une phtiriose peut entraîner des exsudations, la formation de croûtes et un épaissement de la peau autour des yeux, de l'encolure, et sous la queue mais le prurit n'existe pas dans la besnoitiose et les poux ou leurs lentes sont faciles à observer.

La dermatophilose (53), due à la bactérie *Dermatophilus congolensis*, est une maladie transmissible mais légèrement contagieuse qui affecte de nombreuses espèces animales. Elle touche surtout les petits ruminants et les bovins. Elle sévit par temps chaud et humide. Les signes cliniques sont limités à la peau. Elle débute par un hérissément des poils qui traduit la formation de papules laissant sourdre un exsudat séreux. La coalescence de ces lésions aboutit à la formation de croûtes jaunâtres, plus ou moins feuilletées et jamais prurigineuses. Ces lésions sont situées sur la ligne du dos, les extrémités inférieures, les zones glabres (région périanale, scrotale et mammaire) mais également sur la tête (pourtour des yeux, chanfrein, mufler, base des oreilles).

Des intoxications par des légumineuses comme par la vesce, le lupin ou les trèfles, se traduisent par une dermatite papuleuse du cou, de la mamelle, du scrotum et du périnée. Parfois, les papules sont si nombreuses qu'elles confluent et forment de larges zones dépilées, à bord flou. Se rajoutent à ce tableau des symptômes généraux comme une conjonctivite, une congestion et un œdème des paupières, du jetage, du ptyalisme et une diarrhée profuse. Cette intoxication est rare de nos jours.

Chez les Prim'Holstein, un syndrome toxique lié à l'ingestion de naphthalènes chlorés ou d'ensilages additionnés de conservateurs à base d'acide sulfurique (H_2SO_4) et de formol entraîne de l'hyperkératose (non nodulaire) et des hémorragies internes.

4. Diagnostic expérimental

Le diagnostic expérimental est relativement tardif par rapport au diagnostic clinique. Il permet en revanche de déceler les formes de besnoitiose inapparentes et ainsi de mettre en évidence des animaux sources potentielles de réinfection dans un troupeau (1). Il est également utile pour les études épidémiologiques.

Il existe deux grandes catégories de diagnostic expérimental, l'histologie et l'immunodiagnostic.

a. Diagnostic direct au microscope

Il passe par la mise en évidence de kystes intracellulaires spécifiques ou de bradyzoïtes comme décrit dans la partie étiologie.

a. Histologie

La méthode la plus courante est la réalisation de coupes histologique de biopsie cutanées et la coloration de celles-ci pour un diagnostic histologique. On peut aussi observer des coupes d'autres tissus, mais en général, c'est plutôt *post mortem*.

Cette méthode permet la mise en évidence de kystes typiques de la maladie. Dans les cas légers, pour lesquels le parasitisme est léger, il est possible de passer à coté des kystes si des sections en série ne sont pas réalisées.

b. Cytologie

En 1987, Franc et coll. (45) décrivent leur méthode diagnostic sur les animaux en phase de sclérodermie. Un prélèvement de conjonctive oculaire est effectué après instillation d'un collyre anesthésique. Après dissection de lambeau, un ou deux kystes sont écrasés entre lame et lamelle et l'ensemble est observé au microscope sans coloration. Les myriades de bradyzoïtes ainsi libérés sont facilement visualisées. C'est une méthode diagnostique facile et extrêmement rapide, qui ne demande pas beaucoup de matériel.

Sannusi en 1991 (91) reprend dans une publication cette méthode. Il s'agit de l'application sur une lame de microscope soit d'un raclage effectué sur la conjonctive sclérale de bovins suspects (ce qui nécessite une bonne contention et de la lumière) soit de biopsies cutanées coupées en plusieurs endroits (ce qui nécessite un temps d'anesthésie locale et de l'asepsie). Les lames sont séchées à l'air puis fixées à l'alcool absolu 3 minutes et enfin colorées 30 minutes dans une solution à 10% de Giemsa.

L'examen des lames est réalisé au microscope photonique à immersion (X 1000). Ceci permet l'observation de bradyzoïtes. Les résultats peuvent être obtenus moins d'une heure après la récolte des échantillons. Il n'y a pas de données concernant la sensibilité et la spécificité du test. Le raclage de conjonctive sclérale est moins chronophage et permet un diagnostic plus précoce et moins invasif que les biopsies.

b. Diagnostic biologique

L'intérêt du diagnostic sérologique est la détection précoce des animaux infectés et la détection des animaux porteurs ou infectés inapparents. Nous les présentons par ordre chronologique d'utilisation.

a. Les différentes méthodes existantes

i. Le SFT (Sabin Feldman Dye Test)

La première tentative de diagnostic immunologique a été réalisée par Frenkel en 1953 en utilisant des anticorps de *Besnoitia jellisoni* et n'a pas eu de résultats probants.

ii. La fixation du complément

En 1966, Bigalke utilise le test de fixation du complément (congrès international de parasitologie, Rome).

iii. L'immunodiffusion en gel

Son utilisation en tant que méthode diagnostique de la besnoitiose bovine est anecdotique. En 1975, une équipe de recherche soviétique a comparé l'immunodiffusion en gel et le test de fixation du complément mais en raison de réactions croisées avec *Toxoplasma gondii*, les résultats obtenus ne sont pas probants (59).

Shkap et coll. l'ont également utilisé pour mesurer la concentration sérique en immunoglobulines M (IgG) et immunoglobulines G (IgM). Le dosage des IgG et IgM est particulièrement important notamment pour le diagnostic de toxoplasmose et de rubéole car cela a des implications cliniques (toxoplasmose et rubéole congénitale...). Cela apporte de nombreuses informations sur la réponse immunitaire. Cette méthode n'a pas d'intérêt pour les enquêtes épidémiologiques et le diagnostic individuel et n'a plus été utilisée depuis cette publication (104).

iv. L'immunofluorescence indirecte (IFT, IFAT)

Cette méthode est applicable au diagnostic individuel mais est laborieuse pour du diagnostic de masse, elle a cependant été utilisée pour les enquêtes épidémiologiques en l'absence d'autres moyens probants.

Cette méthode sérologique est utilisée depuis 1970 par les équipes Israéliennes (47). Elle est utilisable pour les enquêtes épidémiologiques (47, 52, 71) mais aussi pour le diagnostic individuel. Par contre, des réactions croisées avec *Toxoplasma gondii* ont été mises en évidence (52).

v. L'ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay

La spécificité d'un test ELISA est liée à l'antigène choisi comme réactif. Un autre avantage de cette méthode est de pouvoir traiter plusieurs sérums à la fois (4 à 8 par plaque).

En 1977, Kaggwa compare différentes méthodes de diagnostic immunologique dont un ELISA sur des lapins et des souris infectés expérimentalement. Son ELISA n'était pas efficace sur les cas aigus et sur les cas subcliniques/latents (62). Ceci a été remarqué également par Janitschke et coll. en 1984 (59) sur des veaux infectés expérimentalement.

vi. Le Western Blot

Cette méthode a été utilisée par Cortes et coll. en association à un ELISA. Elle a permis de différencier les réactions croisées des réactions réelles (26). Elle a également été utilisée par Shkap et coll. pour évaluer les réactions croisées entre *Neospora caninum* et *Besnoitia besnoiti* (100). La figure 35 montre les profils obtenus lors d'une besnoitiose et lors d'autres infections.

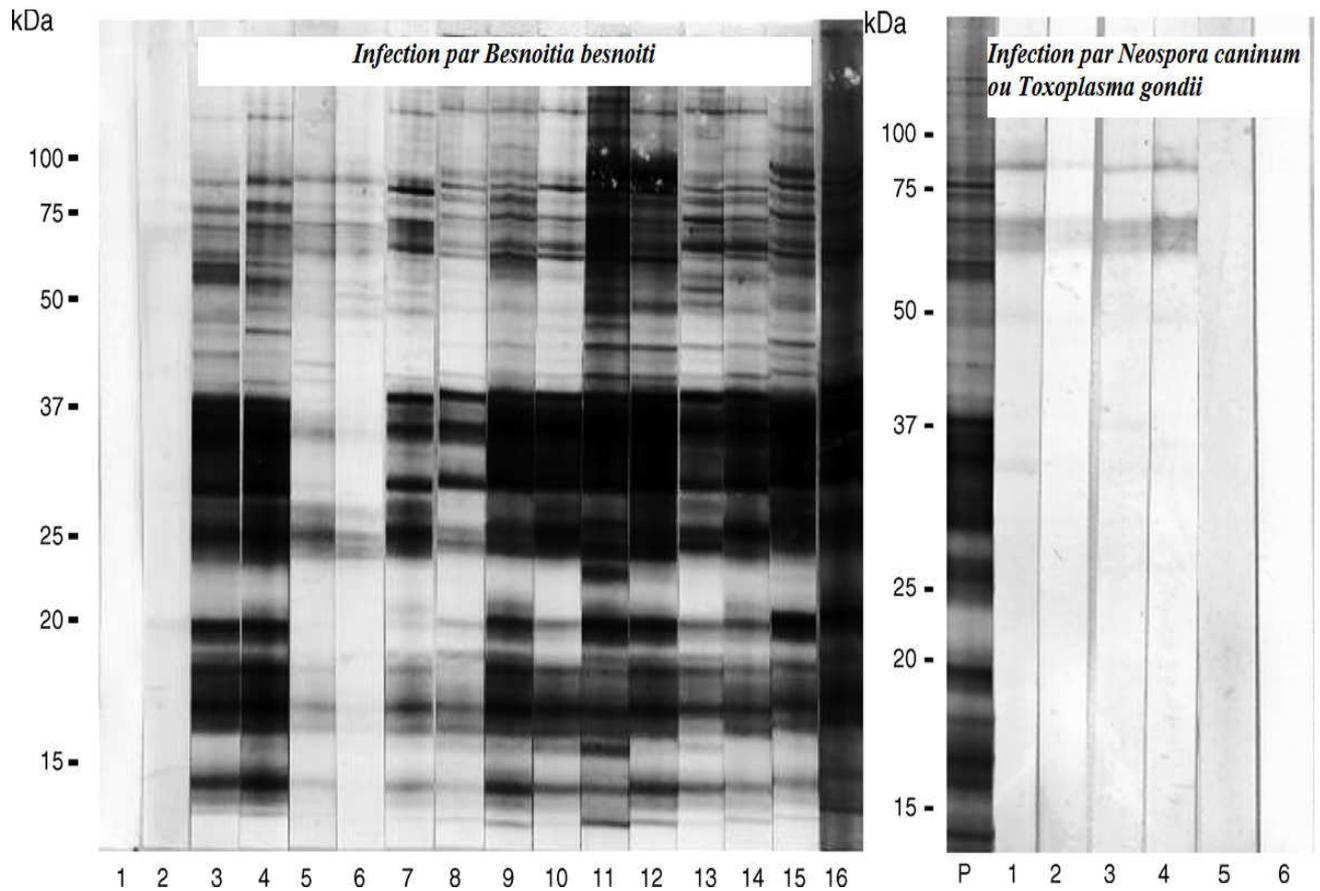


Figure 35 : Profils en Western Blot (26)

vii. Les PCR

Le but est de polymériser un segment spécifique de l'ADN du parasite. Tenter a montré que le segment ITS-1 de *Toxoplasma gondii* était spécifique et suppose qu'il en est de même pour tous les apicomplexa (60, 109).

En 2007, Cortes et coll. (27) publie des travaux sur l'utilisation d'ITS-1. Ils utilisent l'amplification de ce segment pour des PCR conventionnelle et en PCR temps réel sur des biopsies de peau de bovins infectés. La sensibilité, que ce soit en PCR conventionnelle ou temps réel est d'une cellule parasitaire donc extrêmement élevée. La spécificité est elle aussi élevée, ces PCR ne permettant pas d'amplifier *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis neurona*, *Sarcocystis cruzi*, *Sarcocystis tenelle*, *Sarcocystis muris*, *Sarcocystis spellei*, *Sarcocystis miescheriana*, *Sarcocystis zamari*, *Sarcocystis singaporencei*, *Sarcocystis gigantea*, *Sarcocystis moulei*, *Sarcocystis capracanis*, *Sarcocystis arieticanis*, *Sarcocystis peeri* et l'ADN bovin.

Ces PCR (surtout temps réel) permettent de détecter un parasite dans une biopsie de 200µg (Figure 36).

Hormis le diagnostic individuel, notamment d'animaux subcliniques, ces méthodes seront utiles pour des études épidémiologiques mais aussi cliniques et pharmacologiques car la RT-PCR étant quantitative, elle autorise un suivi après un traitement pharmacologique.

L'analyse est effectuée sur une biopsie cutanée profonde conservée dans un tube sec immédiatement congelé.

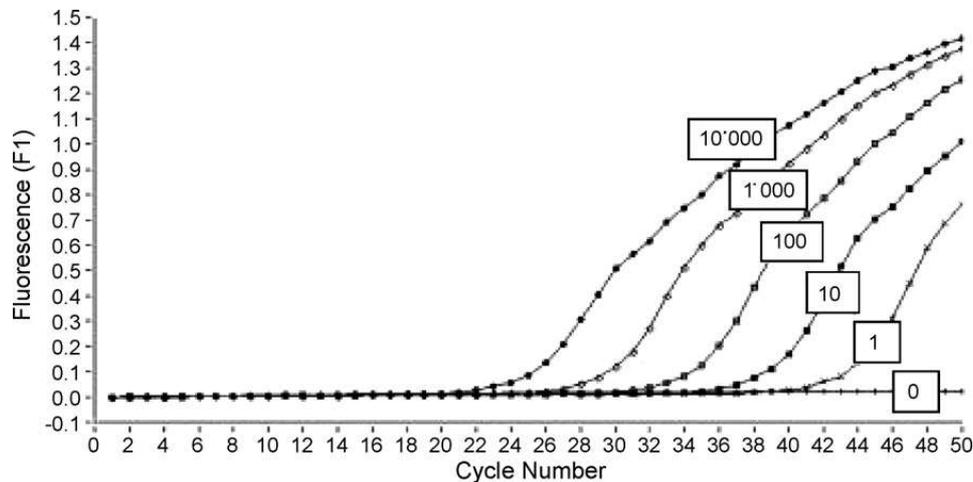


Figure 36: Sensibilité de la PCR temps réel d'ITS-1 ADNr. Résultats des signaux de fluorescence représentant les réactions d'amplification pour 10000, 1000, 100, 10 et 1 parasite et le contrôle négatif (27)

b. Les comparaisons des méthodes de diagnostic

Dans les années 1980, des études ont comparé les IFAT et les ELISA. Il en résulte que la spécificité des tests est élevée car peu de réactions croisées existent, mais que la sensibilité n'est pas exceptionnelle (59, 103). Janitschke et coll. écrivent même que ces tests sérologiques sont utiles pour les enquêtes épidémiologiques mais que pour un diagnostic individuel, il vaut mieux se baser sur l'examen de la sclère conjonctivale des animaux suspects même si celle-ci nécessite de l'expérience et qu'elle n'est fiable qu'à 50% (59).

Les infections datant de moins de 2 mois ne sont pas détectées par ELISA. Par contre, l'IFAT détecte les infections expérimentales par voie intraveineuse dès 10 jours et par voie sous cutanée dès 22 jours (59).

En 2006, Cortes et coll. (26) ont combinés un test ELISA et un Western Blot pour le diagnostic de la besnoitiose bovine pour essayer d'éliminer les faux positifs (soit par réaction croisée soit par réaction non spécifique). Le tableau 5 montre les spécificité et sensibilité élevées de ces tests.

Leur conclusion est que le diagnostic individuel est meilleur avec l'IFAT ou le Western Blot.

Pour les enquêtes épidémiologiques, ils utilisent de façon successive un ELISA puis un Western Blot pour détecter les faux positifs en zone d'endémie et pour détecter les réactions croisées en zone de faible prévalence ou en zone épargnée.

	ELISA		Western blot	
	Portugal (%)	Switzerland (%)	Portugal (%)	Switzerland (%)
Sensitivity $((a/(a + c)) \times 100)$	87.0	87.0	91.3	91.3
Specificity $((d/(b + d)) \times 100)$	96.4	97.6	96.4	100.0
Positive predictive value $((a/(a + b)) \times 100)$	72.9	3.5	73.8	100.0
Negative predictive value $((d/(c + d)) \times 100)$	98.5	100.0	99.0	100.0

The predictive values of positive and negative results were calculated for a hypothetical prevalence of 10% for Portugal and of 0.001% for Switzerland.

Tableau 5 : Comparaison des sensibilité, spécificité, et des valeurs prédictives de l'ELISA et du Western Blot de Cortes (26)

c. Conclusion partielle

Aujourd'hui, sur le terrain, le diagnostic est surtout réalisé d'après la clinique mais l'arrivée de la PCR et d'un ELISA couplé à un Western blot permettra de mieux envisager les choses et de mener des études épidémiologiques plus précises. Il faudrait communiquer plus sur les méthodes diagnostiques utilisables et les laboratoires où elles sont réalisables (68, 93).

Faire un diagnostic précoce est extrêmement important, c'est une des clefs de la réussite d'un traitement si on décide de le mettre en place.

Rapport-Gratuit.com

Traitement

1. Diurétiques et saignées

« Quatre vaches de race gasconne présentèrent des signes classiques d'anasarque et furent soumises à un traitement approprié (saignée, friction révulsive et applications astringentes). »

Besnoit et Robin, 1914 (5)

Les premiers traitements mis en place faisaient appel à la saignée et aux diurétiques dans le but de faire régresser les œdèmes.

2. Formol et Lugol

Il s'agit du premier traitement spécifique de la besnoitiose bovine, il a été décrit par Berthelon et Labeyrie à l'École vétérinaire de Toulouse en 1938 (42, 45).

En 1948, Leitao propose l'administration de trois injections intraveineuses de 30 ml de formol à 10% à trois jours d'intervalle pour traiter les bovins atteints d'infestation chronique.

En 1952, Herin propose de traiter les animaux en phase aiguë de la maladie par une injection intraveineuse de 30ml de formol à 1%. Pour les animaux en phase chroniques, il propose cinq injections intraveineuses de Lugol de 20 à 40 ml tous les 4 à 7 jours.

Ces auteurs n'ont pas fait d'évaluation chiffrée mais disent que leurs traitements entraînent une bonne évolution de la maladie.

3. Anti-infectieux

a. Travaux de Pols en 1960 (85)

Les expérimentations ont été réalisées sur des lapins infectés expérimentalement.

Une partie des lapins a été traitée durant la phase d'incubation de la maladie (l'incubation durant 5 à 15 jours chez les lapins). L'autre groupe de lapins a été traité durant la phase fébrile.

Pour réaliser les traitements, de nombreuses molécules ont été utilisées (sulfamides, cyclines, antipaludiques)

Aucun changement de morphologie des formes prolifératives sanguines n'a été observé mais si on décide que le taux de récupération de la maladie (le fait de ne pas mourir) est un critère d'efficacité du traitement, alors la sulfamérazine semble avoir un effet positif. En effet, 26,3% des lapins traités avec cette molécule ont survécu, ce qui est supérieur à la moyenne et aux autres produits. Toutefois, la conclusion est qu'il faut continuer à tester les effets curatifs de cette molécule car la guérison spontanée existe chez les lapins et les chercheurs ne peuvent pas être sûrs que les guérisons soient effectivement dues à la sulfamérazine.

b. Travaux de Shkap en 1985 et 1987

i. *In vivo* sur des gerbilles et *in vitro*

Les gerbilles peuvent être soignées par une seule injection d'oxytétracycline longue action (OTC-LA) à une dose de 200 mg/kg. Des doses plus faibles sont moins efficaces (98).

Dans des études précédentes, il a montré que l'OTC-LA est préventive chez le lapin

L'utilisation de rongeurs comme modèle d'étude ne prouve pas l'efficacité sur les bovins.

Toutefois, il est important de noter que l'OTC-LA a une action chez les bovins contre *Toxoplasma gondii*.

Les sulfamides, avec ou sans triméthoprime, n'ont pas eu d'effet sur l'infection de gerbilles par *Besnoitia besnoiti*. Ces résultats concordent avec ceux de Pols et de Bigalke.

L'halofuginone, utilisée avec succès contre *Theileria annulata*, n'a pas montré d'efficacité contre *Besnoitia besnoiti*.

Il en est de même avec le diminazène et la pentamidine, trypanocides efficaces respectivement contre la leishmaniose et la babésiose bovine.

Les résultats *in vitro* ont été différents. En effet, une forte inhibition de la multiplication intracellulaire des endozoïtes a eu lieu avec de l'halofuginone.

ii. Sur des lapins

L'équipe de Shkap a montré que les gerbilles atteintes de besnoitiose aiguë pouvaient être soignées avec de l'OTC-LA. Il en est de même sur les lapins qui après un syndrome fébrile, ne développent pas de phase d'anasarque avec œdème du scrotum (95).

Il faudrait des essais sur des bovins pour mesurer l'efficacité de l'OTC-LA sur le terrain.

c. Travaux de Cortes en 2007 (25)

L'équipe de Shkap a remarqué que des composants Thiazoliques avaient des effets négatifs sur la croissance des tachyzoïtes de *Besnoitia besnoiti* cultivés sur cellules Véro. En effet, le traitement des tachyzoïtes extracellulaires avec du nitazoxanide et avec un dérivé de cette molécule sans le groupement nitré inhibe l'invasion cellulaire par altération de la structure de la vacuole parasitophore et de la membrane de la vacuole. Si ces molécules sont efficaces in vivo, cela pourrait représenter une importante avancée dans le traitement de la besnoitiose.

4. Sur le terrain en France

Le traitement doit être le plus précoce possible, il doit être commencé durant la phase fébrile ou au plus tard, la phase des œdèmes. Il comporte des anti-infectieux associés à une thérapie anti-inflammatoire et diurétique pour contrôler les effets secondaires de la maladie.

a. Traitement en phase aigue ou en phase des œdèmes

Les grandes lignes du traitement de la besnoitiose bovine sur le terrain en phase aigue sont à peu près constantes en France (88). Mais chaque clinicien a ses habitudes, dues à son expérience et à un partage avec ses aînés.

Les anti-infectieux les plus couramment utilisés sont les sulfamides. La molécule et le schéma posologique sont sujets à discussion. Il est conseillé de les utiliser à une dose supérieure à celle de l'AMM, au moins durant 5 jours et la première administration est plus efficace par voie intraveineuse. D'autres anti-infectieux sont aussi utilisés, comme les cyclines. Cela est souvent dû à la confusion durant la phase fébrile avec une infection respiratoire (BPIE). Les résultats avec les cyclines sont inconstants. Selon Alzieu (1), il n'y a que peu d'amélioration clinique. Toutefois ces antibiotiques ont une efficacité sur les surinfections cutanées des phases terminales de la maladie. Le tableau 6 rassemble quelques schémas thérapeutiques utilisés par les vétérinaires praticiens.

Certains utilisent le toltrazuril, mais il n'y a pas de publications sur son efficacité.

Les anti-infectieux sont associés à d'autres classes thérapeutiques :

- Des corticoïdes sont utiles pour freiner l'inflammation périvasculaire générée par la multiplication des parasites dans certaines cellules de l'endothélium vasculaire, phénomène qui aggrave l'ischémie cutanée par rétrécissement des capillaires parasités. Les formes retard sont souvent employées. Ils sont associés à des diurétiques thiazidiques.
- Des anti-inflammatoires non stéroïdiens sont utilisés pour leurs propriétés anti-inflammatoires et antipyrétiques lors du syndrome fébrile.
- De l'acide salicylique.

Molécule	Posologie par kilogramme	Rythme	Durée de traitement	Dose et voie d'administration pour un bovin de 600kg	Temps d'attente
Sulfadimérazine	165mg	Jour 1 Jour 2 Jour 4	4 jours	250 à 300ml Perfusion à J1 <i>Per os</i> , J2 et J4	12 jours 10 traites
Sulfadiméthoxine	20mg	1 fois tous les 2 jours	6 jours	60 ml en IM	10 jours 10 traites
Spiramycine	30 000 UI	1 fois par jour	10 à 30 jours	30 ml en IM	21 jours 14 traites

Tableau 6 : Molécules utilisées dans le traitement de la Besnoitiose en phase aigue ou en phase des œdèmes, d'après Sahun (88)

Des traitements complémentaires peuvent être mis en place. Ils font appel à des antibiotiques larges spectres comme les macrolides, les tétracyclines ou encore le florphénicol pour le traitement des infections secondaires.

Les praticiens observent que quand le traitement est instauré tôt, les résultats sont meilleurs.

Il ne faut par contre pas oublier que la guérison n'est que clinique, il n'y a pas d'élimination totale du parasite et le bovin reste donc porteur.

b. Traitements en phase de sclérodermie

Les cas de besnoitiose avancée, en phase de sclérodermie, ne représentent qu'une faible partie des cas présentés aux vétérinaires.

On peut tracer deux lignes de conduite :

- le praticien préconise l'abattage et la destruction de la carcasse
- le praticien tente un traitement après avoir isolé l'animal du reste du troupeau pour amoindrir le risque de transmission du parasite par les insectes piqueurs.

Les traitements utilisés durant cette phase sont propres à chaque vétérinaire praticien, mais tous utilisent des sulfamides à doses répétées selon les posologies décrites dans le tableau 5 en association avec des antibiotiques (comme la spiramycine et des corticoïdes). Les résultats obtenus ne sont pas satisfaisants (88).

La prophylaxie reste donc un des seuls moyens efficaces pour se défendre contre la besnoitiose bovine.

Prophylaxie

1. Prophylaxie médicale

L'immunité induite par l'infection par *Besnoitia besnoiti* est une immunité de prémunition. Elle est liée à une immunité cellulaire associée à la présence de kystes présents à vie.

En effet, les bovins ayant survécu à la maladie gardent des kystes à vie (85).

a. Développement d'un vaccin vivant

Après avoir découvert la présence de *Besnoitia* chez des antilopes sauvages (69), Bigalke et son équipe ont tenté de transmettre l'organisme à des lapins et à des bovins pour déterminer si les souches bovines et les souches des antilopes étaient apparentées et provoquaient les mêmes signes cliniques (15). A leur grande surprise, le comportement biologique de la souche isolée chez les antilopes (Gnou bleu) s'est révélé différent de la souche bovine. En effet, à part un syndrome fébrile et une monocytose, les lapins infectés n'ont pas développé d'anasarque et aucun kyste n'a pu être retrouvé dans la peau et aucune forme proliférative n'a pu être mise en évidence dans les frottis sanguins. Chez les bovins, les réactions obtenues ont également été très légères avec aucun signe de présence de kyste cutané. En plus de la faible virulence sur les bovins, une immunité croisée complète existe entre les souches bovine et sauvage. Il est possible de cultiver la souche de *Besnoitia* sauvage sur culture cellulaire. Outre la proximité taxonomique des deux souches, cela suggère la possibilité d'utilisation de la souche sauvage comme vaccin vivant en tant que prophylaxie médicale pour les bovins en zone d'endémie de besnoitiose (15).

Des essais ont été réalisés chez le lapin en 1974 par l'équipe de Bigalke (13). Deux types de vaccins ont été utilisés. Pour les deux, il s'agit de la souche de *besnoitia* isolée chez le gnou bleu, passée 77 fois sur des lapins avant d'être isolée sur culture cellulaire. Le premier lot a été cultivé sur cellules Véro (cellule de rein de singe vert) et le second, sur cellules de rein de fœtus d'agneau.

L'immunité conférée par l'inoculation sous cutanée des deux lots de vaccins était excellente.

Des essais ont ensuite été conduits par Bigalke et coll. sur bovins d'abord en situation expérimentale puis dans le milieu extérieur (11). Le vaccin était produit à partir de parasites cultivés après 78 passages successifs sur lapin ensuite isolés dans des cellules de rein de fœtus

d'agneau puis cultivés soit sur cellule Véro soit sur cellules de rein de fœtus d'agneau et enfin congelés.

Dans cette étude, l'immunogénicité et la pathogénicité des souches vaccinales ont été étudiées. Les vaccins ont été testés sur des veaux, des vaches gestantes et des taureaux matures sexuellement.

Chez les bovins testés en milieu expérimental, à part une adénomégalie constante au niveau des nœuds lymphatiques drainants le site d'injection et un syndrome fébrile occasionnel, la vaccination n'a pas entraîné de réaction. La semence des taureaux n'a pas été modifiée et les vaches ont mis bas des veaux sans anomalies. L'immunité conférée par la vaccination n'empêche pas l'infection comme l'atteste l'apparition d'un faible nombre de kystes après le challenge avec une souche pathogène de *Besnoitia besnoiti*.

Chez les bovins testés en milieu naturel, aucun cas clinique de besnoitiose n'est apparu durant la période d'observation de 4 ans. L'incidence de cas subclinique (avec de rares kystes sur la conjonctive sclérale) chez les animaux vaccinés a été faible (de 0 à 1,7%) par rapport aux animaux contrôles (de 4,1 à 35,5%) (Voir tableau 7).

Tableau 7: Essais vaccinaux en conditions naturelles (11)

Ferme	Incidence avant vaccination (%)	Nombre d'années après vaccination	Incidence après vaccination	
			Vaccinés (%)	Contrôles (%)
I	18,9	1	1,7	22,5
II	12,8	1	0,4	4,1
		2	1	12,8 (1,8 Cas Cliniques)
III	28	1	0	8
		2	1	4,4
IV	37,5	1	0,5	35,5
		2	0,9	14,3
V	33,6	1	1,3	7,1
		2	2	25 (10 Cas Cliniques)
		3	0	33,3
VI	18,9	1	0	10,8 (1,5 Cas Cliniques)
		2	0,4	17,5 (3,5 Cas Cliniques)
		3	0,4	29,6 (3,7 Cas Cliniques)
		4	0	22,2

La protection du vaccin contre les infections cliniques est de 100% et elle dure de un à quatre ans (suivant la période d'observation des animaux). La protection est également bonne contre les infections subcliniques.

Ce vaccin est donc efficace et ne provoque pas de maladie clinique.

Ce vaccin vivant atténué a été développé et est actuellement utilisé en Israël et en Afrique du sud avec succès (83).

En France, une telle prophylaxie est interdite. Les dangers d'utilisation de ce type de vaccin sont la possibilité de développement d'agents pathogènes sur les cultures cellulaires (2, 55, 108) et la disparition de l'atténuation de l'agent vaccinal. Un autre risque est que la vaccination n'empêche pas l'infection et peut-être que la transmission de *Besnoitia besnoiti* est possible d'animaux vaccinés à animaux non vaccinés.

D'autre part, il est impossible de reconnaître sérologiquement les animaux vaccinés des animaux non vaccinés atteints de besnoitiose subclinique (59).

C'est pourquoi la recherche s'oriente vers un vaccin inactivé.

b. Pistes de recherche d'un vaccin inactivé :

- Travaux de Shkap en 1989, 1990 et 1995(99, 101, 102):

Shkap et coll. ont montré que des anticorps monoclonaux dirigés contre des composants du complexe conoïdal des stades endozoïtes du parasite empêchent l'invasion des cellules *in vitro* et donc la multiplication intracellulaire. Les protéines visées pourraient être de bonnes cibles vaccinales.

Des essais ont eu lieu sur des gerbilles mais les anticorps monoclonaux n'ont eu aucun effet protecteur, toutes les gerbilles sont mortes.

- Travaux de Njagi en 2004 (74):

Njagi et coll. ont généré des anticorps monoclonaux, soit contre un antigène membranaire au niveau du complexe conoïdal soit contre un antigène cytoplasmique proche du complexe conoïdal. Les anticorps dirigés contre la membrane ont réussi à réduire significativement (de plus de 80%) le nombre de parasites intracellulaires *in vitro* si les endozoïtes sont incubés avant l'infection avec les anticorps.

Il n'y a pas eu à ce jour d'essais *in vivo*.

Pour l'instant le seul vaccin efficace existant est un vaccin vivant atténué qui est interdit en France. Le seul moyen de se protéger est donc d'appliquer des mesures de prophylaxie sanitaire.

2. Prophylaxie sanitaire

a. En zone indemne

« Quand l'affection entre dans une grange, elle se borne rarement à un seul individu et elle les passe même quelquefois tous en revue »

Festal, 1859 (5)

Il convient de ne pas introduire d'animaux contaminés, qu'ils soient porteurs de kystes ou sérologiquement marqués.

Pour cela, il est nécessaire de faire une analyse de risque pour chaque animal acheté (statut du cheptel d'origine, région...) et en cas de doute, d'isoler les animaux importés et de rechercher la présence éventuelle de kystes conjonctivaux et de faire une recherche sérologique pour dépister les animaux infectés asymptomatiques au moins pour des animaux provenant de zones d'endémie.

Les animaux porteurs de besnoitiose doivent être privés de transhumance et d'estive car durant cette période, il y a des animaux de statuts sanitaires mélangés et donc un risque de contamination. Par exemple, en Isère, le vétérinaire examine les animaux à l'arrivée et si il y a des animaux porteurs, tout le lot est renvoyé.

Il est également conseillé de ne pas faire consommer de viande de bovins crue aux chats.

b. En zone d'enzootie

Le cycle primaire (HI/HD) étant incertain et vraisemblablement d'importance mineure, les mesures de prophylaxie visent à maîtriser le réservoir bovin que sont les malades et les porteurs asymptomatiques. Toutefois, par mesure de sécurité, il est déconseillé de faire consommer de la viande crue de bovins aux chats.

1. Elimination des sujets porteurs de parasites

Il est nécessaire d'éliminer les animaux atteints de besnoitiose qu'ils soient guéris ou porteurs chroniques car il semble probable qu'un animal ayant contracté le parasite reste porteur de kystes à vie et donc est un réservoir de la maladie. Dès 1937, Cuillé et Chelles conseillent ce type de prophylaxie (30).

Bigalke a mené durant sept ans une prophylaxie de ce type dans un élevage d'Afrique du Sud (8) qu'il rapporte dans son article de 1968. Considérant les animaux infectés chroniquement comme le facteur le plus important de contamination, tous les animaux du cheptel étaient examinés annuellement et les animaux déclarant une besnoitiose clinique étaient abattus dès le diagnostic établi, ceux qui avaient des kystes de la conjonctive sclérale étaient confinés durant quelques mois puis éliminés. Il avait été considéré que la transmission était liée aux insectes piqueurs et que si ceux-ci étaient dérangés durant le repas sanguin, ils resteraient dans le même lot d'animaux et ne pourraient pas transmettre la maladie à d'autres lot d'animaux. La figure 37 montre la diminution des cas cliniques et inapparents de besnoitiose. Tous les cas inapparents n'ont pas été mis en évidence. Actuellement, il serait possible de mener une prophylaxie plus draconienne.

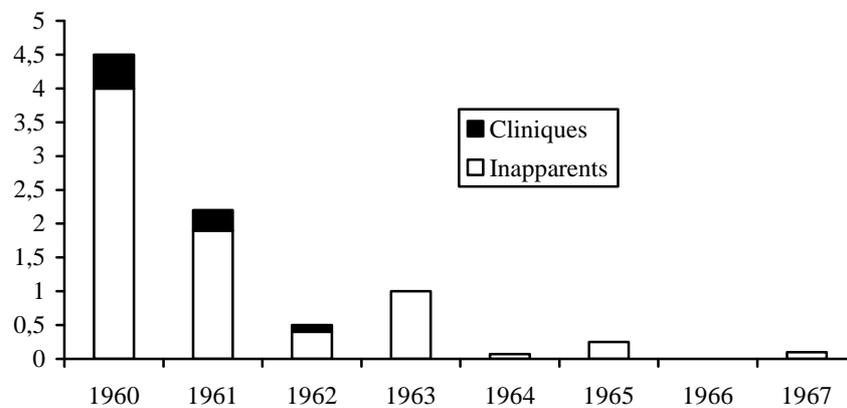


Figure 37: Incidence annuelle des cas cliniques et inapparents de 1960 à 1967, détectés par examen de la conjonctive, lors de l'essai d'un protocole de prophylaxie, d'après Bigalke (8)

Une autre solution, moins coûteuse si le cheptel est fortement contaminé est de faire deux lots d'animaux, bien séparés géographiquement. Un lot est composé d'animaux sans aucun signe de besnoitiose, l'autre ne contient que des animaux porteurs. Les veaux des vaches infectées ne seront vraisemblablement non contaminés et pourront être transférés dans le lot d'animaux sains après un examen des yeux (8).

Pour l'estive et la transhumance, les dispositions à prendre sont semblables à celles des zones indemnes.

2. Contrôle des arthropodes piqueurs

Depuis 1960, la lutte contre les arthropodes est vivement recommandée par les chercheurs (85). En effet, à ce jour, ce sont ces insectes qui représentent le mode principal de contamination des animaux⁸ (8).

Dès 1859, Cruzel, cité par Besnoit et Robin (5) rapporte les effets positifs d'un traitement insecticide concernant la transmission de la besnoitiose au sein d'une étable.

La lutte doit pouvoir se faire durant toute la période d'estive car des animaux de statuts sanitaires différents sont mélangés. D'ailleurs, les vétérinaires sur le terrain en sont conscients (68).

i. Lutte contre les mouches adultes sur les bovins (44)

Les molécules les plus couramment utilisées sont les pyréthroides de synthèse. De nombreuses formulations et présentations thérapeutiques existent. Il faut que les traitements aient une excellente rémanence pour lutter contre les insectes piqueurs (notamment les taons qui sont rapidement chassés par le bovin parasité). Le tableau 8 présente toutes les spécialités pharmaceutiques sur le marché vétérinaire français.

Les pulvérisations sont très employées. Il existe de nombreuses formulations. La première pulvérisation est réalisée à l'apparition des premières populations d'insectes piqueurs de l'année. La fréquence des pulvérisations est de l'ordre de toutes les 3 à 4 semaines suivant la spécialité pharmaceutique. L'application du produit ne nécessite pas de contention particulière. Le principe actif est lipophile et n'est donc pas lessivé par la pluie.

Les aérosols sont faciles d'utilisation également et l'application n'est pas chronophage. Il n'existe que peu de formulations. La rémanence est faible donc les applications sont à répéter toutes les 4 semaines au minimum.

Les pour-ons sont disponibles en un grand nombre de formulations. L'application se fait sur la ligne du dos. Le produit utilise le film lipidique pour se répandre sur toute la surface du tégument. L'effet insecticide est équivalent à celui obtenu avec les pulvérisations mais semble plus rémanent. C'est donc idéal pour les troupeaux transhumants. Les applications doivent être renouvelées toutes les 4 à 10 semaines suivant la spécialité pharmaceutique.

Les plaquettes auriculaires sont mises en place au début de la saison chaude. Le principe actif est libéré progressivement et diffuse en utilisant le film lipidique cutané.

⁸ Voir Section Epidémiologie, Transmission par les arthropodes piqueurs

Toutefois, la molécule n'est pas efficace sur les stomoxes et les tabanidés. Donc ces plaquettes ne sont pas utilisables en tant que prophylaxie contre la besnoitiose bovine.

ii. Lutte contre les mouches dans le milieu extérieur (44)

Le traitement des supports est réalisable pour les mouches d'étables (Stomoxe, mouche domestique) mais cela n'est efficace que pour les élevages sédentaires.

Les attractifs insecticides attirent les insectes lécheurs et n'est donc pas efficace sur les espèces hématophages. Ce procédé ne peut pas être utilisé en tant que prophylaxie pour la besnoitiose.

Le traitement des lieux de reproduction par des régulateurs de croissance est très cher et ne peut être utilisé que par les élevages sédentaires.

Il en résulte que les animaux doivent être traités avec des insecticides régulièrement.

Tableau 8: Spécialités pharmaceutiques sur le marché Français en 2007 (44)

Présentation	Famille	Molécule	ND	Mode d'emploi	Fréquence	Cibles	Temps d'attente
Plaques auriculaires	Pyréthrine	<i>Cypermethrine</i>	Flectron, Vétquinol	Fixation à l'intérieur de l'oreille, protection au bout de 24h-48h	4 mois	mouches	nul
Pour-on	Pyréthrine	<i>Cyfluthrine</i>	Bayofly, Bayer	10 ml sur la ligne dorso lombaire	6 à 8 semaines	mouches	nul
		<i>Cypermethrine</i>	Ectotrine, Vétquinol	10 ml sur la ligne dorso lombaire	7 à 8 semaines	mouches piqueuses ou non	nul
		<i>Deltamethrine</i>	Butox 7,5 Pour-on, Intervet	10-30 ml sur la ligne dorso lombaire	8 à 10 semaines	mouches piques (4 à 5 semaines)	nul
			Versatrine, Schering-Plough	10 ml sur la ligne dorso lombaire	4 à 6 semaines	Mouches et poux	nul
Solution externe	Organophosphorés	<i>Dimpilate (diazinon)</i>	Dimpygal, Noé	pulvérisations	?	Gale tiques puces poux mélophages	Viande et abat: 14 jours Lait: 4 traites
		<i>Phoxim</i>	Sébacil 50% Solution, Bayer	Bain douche ou aspersion	7 semaines au maximum	Gale, poux mélophage tiques myiases	Viande et abats 28 jours, Lait: pas à femelle dont le lait est destiné à la consommation humaine
	Pyréthrine	<i>Deltamethrine</i>	Butox 50%, Intervet	Pulvérisation diluée	3 à 4 semaines	mouches piques (4 à 5 semaines)	3 jours attentes pour viande et abats
		<i>Fenvalerate</i>	Acadrex 60, Novartis	pulvérisation de solution diluée	3 à 4 semaines	Gale, poux, mouches, insectes piqueurs	nul
Aérosol	Pyréthrine	<i>Fenvalerate</i>	Arkofly, Novartis	Pulvérisation de 5 secondes sur la ligne du dos et les flancs	2 à 4 semaines	Mouche	nul

Conclusion

La besnoitiose bovine est une maladie en extension en France. Le problème est qu'elle apparaît dans des foyers disséminés et qu'elle est très peu connue par les éleveurs en dehors des foyers anciens. Cela entraîne un diagnostic tardif et donc bien souvent aboutit à la perte de l'animal. Plusieurs vétérinaires praticiens dont la clientèle est touchée pensent qu'il faudrait communiquer à plus large échelle sur cette maladie et sa prévention.

La besnoitiose bovine était considérée comme la seule maladie due à un parasite du genre *Besnoitia* d'importance vétérinaire. Il faut aujourd'hui y ajouter la besnoitiose équine et asine due à *Besnoitia bennetti* dont la prévalence augmente et qui commence à inquiéter les autorités des Etats Unis (39, 40).

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que

Melle THOMAS, Cécile, Anne, Clémence

a été admis(e) sur concours en : 2002

a obtenu son certificat de fin de scolarité le : **15 NOV. 2007**

n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, Michel FRANC, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

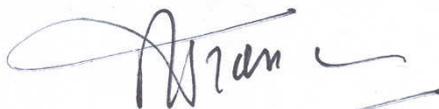
autorise la soutenance de la thèse de :

Melle THOMAS, Cécile, Anne, Clémence

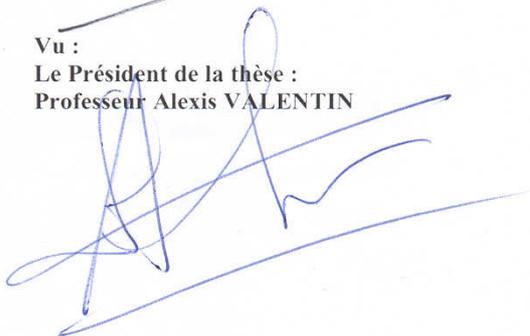
intitulée :

« La besnoitiose bovine, données bibliographique »

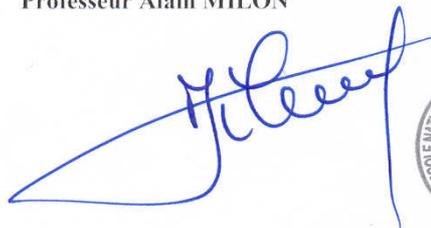
Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Michel FRANC



Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Alexis VALENTIN



Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON



Vu le : 19 NOV. 2007
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Jean-François SAUTEREAU



Table des figures :

Figure 1: Pays où ont été décrits des cas de besnoitiose à <i>Besnoitia besnoiti</i>	23
Figure 2: Départements dans lesquels ont été reportés des cas de besnoitiose bovine, en rouge, zone où la besnoitiose a été observée, en grisé, zones où les vétérinaires interrogés par nos soins n'ont jamais observés de besnoitiose	23
Figure 3: Répartition des cas cliniques en fonction des classes d'âge, en pourcentage, d'après les enquêtes de Ferrie (1978-1979) et Legrand (1993-2003)	29
Figure 4: Taux de femelles positives en IFT d'après Goldman et Pipano	29
Figure 5 : Taux de mâles positifs en IFT d'après Goldman et Pipano	29
Figure 6: Répartition saisonnière en pourcentage de la besnoitiose bovine dans les hautes vallées de l'Aude et de l'Ariège entre 1975 et 1979	30
Figure 7: Répartition par mois des cas clinique de besnoitiose bovine observés par Legrand en Ariège entre 1995 et 1998 en pourcentage	30
Figure 8: Enquêtes épidémiologiques menées en Afrique du Sud et en Corée du Sud, résultats en pourcentages	32
Figure 9: <i>Glossina morsitans</i>	35
Figure 10: nombre de tabanidés attrapés par mois en Afrique du Sud en 1961	36
Figure 11: <i>Tabanus spp</i> et <i>Stomoxis calcitrans</i>	36
Figure 12: <i>Aedes aegypti</i>	37
Figure 13 : Cycle hypothétique de <i>Besnoitia besnoiti</i>	43
Figure 14 : arbre phylogénétique des coccidies formant des kystes cellulaires basé sur l'ADN SSU. Analyse de parcimonie	49
Figure 15: Arbre phylogénétique, consensus de 500 bootstrap, basé sur le minimum de différence sur 250bp d'ITS-1	49
Figure 16: kyste intracellulaire caractéristique de <i>Besnoitia besnoiti</i> chez un bovin, coloration à l'hémalum-éosine, d'après MF, ENVT	53
Figure 17 : Image en microscopie électronique d'un kyste de <i>Besnoitia besnoiti</i> . Membrane secondaire (SCW) entourant la cellule hôte (HC) ainsi que son noyau (HCN), la vacuole parasitophore (PVM) et de nombreux bradyzoïtes(BZ)	53
Figure 18 : structure générale d'un apicomplexa, d'après Morrissette	54
Figure 19: conoïde de <i>Toxoplasma gondii</i> , visualisation des microtubules du conoïde et des microtubules sous membranaires	55

Figure 20: Schématisation du conoïde des parasites du phylum des Apicomplexa	56
Figure 21: Oocyste de <i>Besnoitia darlingi</i> non sporulé	58
Figure 22: Oocystes de <i>Toxoplasma gondii</i> A: non sporulé , B: sporulé , C: Sporulé en microscopie électronique	58
Figure 23: invasion de la cellule hôte par un parasite du phylum Apicomplexa	65
Figure 24: taux de croissance des kystes après l'infection	67
Figure 25: schématisation du mécanisme de l'Endodyogénie	69
Figure 26: Figures d'Endodyogénie chez <i>Besnoitia besnoiti</i> cultivée sur cellules Véro	69
Figure 27: Figures de polyendodyogénie chez <i>Besnoitia besnoiti</i> cultivé sur des cellules Véro. Visualisation des cellules mère contenant deux cellules filles à gauche et à droite visualisation d'un corps résiduel et des cellules filles en rosettes	69
Figure 28: Bovin atteint de besnoitiose en phase des œdèmes, remarquer l'épiphora, d'après MF, ENVT	76
Figure 29: Vache en phase des œdèmes, remarquer l'anneau violacé à la base des trayons, d'après MF, ENVT	76
Figure 30 : Taureau atteint de besnoitiose en phase de sclérodémie, remarquer les petits kystes visibles à la base du scrotum, d'après MF, ENVT	77
Figure 31: bovin en phase de sclérodémie, d'après MF, ENVT	77
Figure 32: bovin en phase de sclérodémie, d'après MF, ENVT	78
Figure 33: Kystes sur la sclère conjonctivale, d'après MF, ENVT	78
Figure 34: kystes sur la muqueuse respiratoire d'un renne	80
Figure 35 : Profils en Western Blot	93
Figure 36: Sensibilité de la PCR temps réel d'ITS-1 ADNr. Résultats des signaux de fluorescence représentant les réactions d'amplification pour 10000, 1000, 100, 10 et 1 parasite et le contrôle négatif	94
Figure 37: Incidence annuelle des cas cliniques et inapparents de 1960 à 1967, détectés pas examen de la conjonctive, lors de l'essai d'un protocole de prophylaxie, d'après Bigalke	111

Table des tableaux

<i>Tableau 1: Distribution histologique des parasites sur des lapins d'après Bigalke et al</i>	51
<i>Tableau 2: Structure des bradyzoïtes et des tachyzoïtes</i>	57
<i>Tableau 3: Résistance de <i>Besnoitia besnoiti</i> à divers agents physiques et chimiques d'après Pols</i>	63
<i>Tableau 4: Développement des lésions cutanées chez les bovins</i>	67
<i>Tableau 5 : Comparaison des sensibilité, spécificité, et des valeurs prédictives de l'ELISA et du Western Blot de Cortes</i>	95
<i>Tableau 6 : Molécules utilisées dans le traitement de la Besnoitiose en phase aigue ou en phase des œdèmes, d'après Sahun</i>	102
<i>Tableau 7: Essais vaccinaux en conditions naturelles</i>	108
<i>Tableau 8: Spécialités pharmaceutiques sur le marché Français en 2007</i>	114

Références:

1. **Alzieu J. P., P. Dorchies, F. Schelcher, and B. Gottstein.** 2007. L'extension de la besnoitiose bovine en France. *Le Point Vétérinaire* **38**:37-43.
2. **Barkema H. W., C. J. Bartels, L. van Wuijckhuise, J. W. Hesselink, M. Holzhauser, M. F. Weber, P. Franken, P. A. Kock, C. J. Brusckhe, and G. M. Zimmer.** 2001. [Outbreak of bovine virus diarrhoea on Dutch dairy farms induced by a bovine herpesvirus 1 marker vaccine contaminated with bovine virus diarrhoea virus type 2.]. *Tijdschr Diergeneeskd* **126**:158-65.
3. **Basson P. A., R. M. McCully, and R. D. Bigalke.** 1970. Observations on the pathogenesis of bovine and antelope strains of *Besnoitia besnoiti* (Marotel, 1912) infection in cattle and rabbits. *Onderstepoort J Vet Res* **37**:105-26.
4. **Bertin E.** 2007. *Vétérinaire praticien*, Communication personnelle.
5. **Besnoit C., and V. Robin.** 1914. Anasarque, éléphantiasis et sarcosporidiose cutanée du bœuf. *Revue Vétérinaire* **7**:385-392.
6. **Besnoit C., and V. Robin.** 1912. Sarcosporidiose cutanée chez une vache. *Revue Vétérinaire* **37**:649-63.
7. **Bigalke R. D.** 1967. The artificial transmission of *Besnoitia besnoiti* (Marotel, 1912) from chronically infected to susceptible cattle and rabbits. *Onderstepoort J Vet Res* **34**:303-16.
8. **Bigalke R. D.** 1968. New concepts on the epidemiological features of bovine besnoitiosis as determined by laboratory and field investigations. *Onderstepoort J Vet Res* **35**:3-137.
9. **Bigalke R. D.** 1962. Preliminary communication on the cultivation of *Besnoitia besnoiti* (Marotel, 1912) in tissue culture and embryonated eggs. *J. S. Afr. Vet. Med. As.* **33**:523-532.

10. **Bigalke R. D.** 1960. Preliminary observations on the mechanical transmission of cysts organisms of *Besnoitia besnoiti* (Marotel 1912) from a chronically infected bull to rabbits by *Glossina brevipalpis* Newstead, 1910. J S Afr Vet Med Assoc **31**:37-44.
11. **Bigalke R. D., P. A. Basson, R. M. McCully, P. P. Bosman, and J. H. Schoeman.** 1974. Studies in cattle of the development of a live vaccine against bovine besnoitiosis. J S Afr Vet Assoc **45**:207-209.
12. **Bigalke R. D., and T. W. Naude.** 1962. The diagnostic value of cysts in the scleral conjunctiva in bovine besnoitiosis. Journal of south african veterinary medical association **33**:21-27.
13. **Bigalke R. D., J. H. Schoeman, and R. M. McCully.** 1974. Immunization against bovine besnoitiosis with a live vaccine prepared from a blue wildebeest strain of *Besnoitia besnoiti* grown in cell cultures. 1. Studies on rabbits. Onderstepoort J Vet Res **41**:1-5.
14. **Bigalke R. D., J. W. van Niekerk, P. A. Basson, and R. M. McCully.** 1967. Studies on the relationship between *Besnoitia* of blue wildebeest and impala, and *Besnoitia besnoiti* of cattle. Onderstepoort J Vet Res **34**:7-28.
15. **Bigalke R. D., J. W. van Niekerk, R. M. McCully, and P. A. Basson.** 1966. The relationship between *Besnoitia* of antelopes and *Besnoitia besnoiti* (Marotel, 1912) of cattle. Bull Off Int Epizoot **66**:903-5.
16. **Black M. W., and J. C. Boothroyd.** 2000. Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii*. Microbiol Mol Biol Rev **64**:607-623.
17. **Bwangamoi O.** 1968. Besnoitiosis and other skin diseases fo cattle (*Bos indicus*) in Uganda. Am J Vet Res **29**:737-43.
18. **Bwangamoi O.** 1967. A preliminary report on the finding of *Besnoitia besnoiti* in goat skins affected with dimple in Kenya. Bull Epizoot Dis Afr **15**:263-71.

19. **Bwangamoi O.** 1968. Why besnoitiosis was not diagnosed in goats in Kenya as early as 1955. *Bull Epizoot Dis Afr* **16**:223-9.
20. **Bwangamoi O., A. B. Carles, and J. G. Wandera.** 1989. An epidemic of besnoitiosis in goats in Kenya. *Vet Rec* **125**:461.
21. **Cadéac C.** 1884. Identité de l'éléphantiasis et de l'anasarque du bœuf. Description de cette maladie. *Revue Vétérinaire*:521-540.
22. **Cortes H., J. Chagas e Silva, B. M. C., R. M. Pereira, A. Leitao, A. E. M. Horta, M. I. Vasques, J. P. Barbas, and M. C. C.** 2005. Presented at the Animal product from the mediterranean area, Santarem (Portugal).
23. **Cortes H., M. L. Ferreira, J. F. Silva, R. Vidal, P. Serra, and V. Caeiro.** 2003. Contribuição para o estudo da besnoitiose bovina em portugal. *Revista Portuguesa de Ciencias Veterinarias* **98**:43-46.
24. **Cortes H., A. Leitao, R. Vidal, M. J. Vila-Vicosa, M. L. Ferreira, V. Caeiro, and C. A. Hjerpe.** 2005. Besnoitiosis in bulls in Portugal. *Vet Rec* **157**:262-4.
25. **Cortes H. C., N. Mueller, M. Esposito, A. Leitao, A. Naguleswaran, and A. Hemphill.** 2007. In vitro efficacy of nitro- and bromo-thiazolyl-salicylamide compounds (thiazolides) against *Besnoitia besnoiti* infection in Vero cells. *Parasitology* **134**:975-85.
26. **Cortes H. C., S. Nunes, Y. Reis, D. Staubli, R. Vidal, H. Sager, A. Leitao, and B. Gottstein.** 2006. Immunodiagnosis of *Besnoitia besnoiti* infection by ELISA and Western blot. *Vet Parasitol* **141**:216-25.
27. **Cortes H. C., Y. Reis, B. Gottstein, A. Hemphill, A. Leitao, and N. Muller.** 2007. Application of conventional and real-time fluorescent ITS1 rDNA PCR for detection of *Besnoitia besnoiti* infections in bovine skin biopsies. *Vet Parasitol* **146**:352-6.
28. **Cortes H. C., Y. Reis, H. Waap, R. Vidal, H. Soares, I. Marques, I. Pereira da Fonseca, I. Fazendeiro, M. L. Ferreira, V. Caeiro, V. Shkap, A. Hemphill, and A.**

- Leitao.** 2006. Isolation of *Besnoitia besnoiti* from infected cattle in Portugal. *Vet Parasitol* **141**:226-33.
29. **Cuillé J., and P. L. Chelle.** 1937. Nouvelles recherches sur la transmission expérimentale de la maladie appelée "anasarque des bovidés" (globidiose cutanée du bœuf). *Bulletin de l'Académie de Médecine* **118**:217-219.
30. **Cuillé J., and P. L. Chelle.** 1937. Recherche sur les modes de l'infestation naturelle, de l'Anasarque (Globidiose) des bovidés,. *Bull Acad Vet. de France*:449-452.
31. **Cuillé J., P. L. Chelle, and F. Berlureau.** 1936. Transmission expérimentale de la maladie dénommée "Sarcosporidiose cutanée du bœuf" (Besnoit et Robin) et déterminée par *Globidium besnoiti*. *Bulletin de l'Académie de Médecine* **115**:161-163.
32. **Diesing L., A. O. Heydorn, F. R. Matuschka, C. Bauer, E. Pipano, D. T. de Waal, and F. T. Potgieter.** 1988. *Besnoitia besnoiti*: studies on the definitive host and experimental infections in cattle. *Parasitol Res* **75**:114-7.
33. **Dubey J. P., D. S. Lindsay, B. M. Rosenthal, C. Sreekumar, D. E. Hill, S. K. Shen, O. C. Kwok, L. G. Rickard, S. S. Black, and A. Rashmir-Raven.** 2002. Establishment of *Besnoitia darlingi* from opossums (*Didelphis virginiana*) in experimental intermediate and definitive hosts, propagation in cell culture, and description of ultrastructural and genetic characteristics. *Int J Parasitol* **32**:1053-64.
34. **Dubey J. P., D. S. Lindsay, and C. A. Speer.** 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. *Clinical microbiology reviews* **11**:267-299.
35. **Dubey J. P., V. Shkap, E. Pipano, L. Fish, and D. L. Fritz.** 2003. Ultrastructure of *Besnoitia besnoiti* tissue cysts and bradyzoites. *J Eukaryot Microbiol* **50**:240-4.
36. **Dubey J. P., C. Sreekumar, T. Donovan, M. Rozmanec, B. M. Rosenthal, M. C. Vianna, W. P. Davis, and J. S. Belden.** 2005. Redescription of *Besnoitia bennetti* (Protozoa: Apicomplexa) from the donkey (*Equus asinus*). *Int J Parasitol* **35**:659-72.

37. **Dubey J. P., C. Sreekumar, B. M. Rosenthal, M. C. Vianna, M. Nylund, S. Nikander, and A. Oksanen.** 2004. Redescription of *Besnoitia tarandi* (Protozoa: Apicomplexa) from the reindeer (*Rangifer tarandus*). *Int J Parasitol* **34**:1273-87.
38. **Ellis J. T., O. J. Holmdahl, C. Ryce, J. M. Njenga, P. A. Harper, and D. A. Morrison.** 2000. Molecular phylogeny of *Besnoitia* and the genetic relationships among *Besnoitia* of cattle, wildebeest and goats. *Protist* **151**:329-36.
39. **Elsheikha, H. M.** 2007. *Besnoitia bennetti* infection in miniature donkeys: An emerging protozoan of increasing concern. *Vet Parasitol*.
40. **Elsheikha H. M., C. D. Mackenzie, B. M. Rosenthal, J. V. Marteniuk, B. Steficek, S. Windsor, A. M. Saeed, and L. S. Mansfield.** 2005. An outbreak of besnoitiosis in miniature donkeys. *J Parasitol* **91**:877-81.
41. **Fayer R., D. M. Hammond, B. Chobotar, and Y. Y. Elsner.** 1969. Cultivation of *Besnoitia jellisoni* in bovine cell cultures. *J Parasitol* **55**:645-53.
42. **Ferrie J.** 1984. La besnoitiose bovine, revue bibliographique, observations personnelles. Paul Sabatier, Toulouse.
43. **Franc M.** 1996. Presented at the Protozooses bovines: actualités, Annecy.
44. **Franc M., and J. M. Gourreau.** 2000. Les mouches nuisibles au bétail, p. 540. *In* E. F. agricole (ed.), *Maladie des bovins*.
45. **Franc M., J. M. Gourreau, and J. Ferrie.** 1987. La besnoitiose bovine. *Le Point Vétérinaire* **19**:445-454.
46. **Franco E. E., and I. Borges.** 1916. Sur la sarcosporidiose bovine. *Arq. Inst. Bact. Camara Pastana* **4**:269 - 289.
47. **Frank M., I. Klinger, and E. Pipano.** 1970. The presence of antibody against *Besnoitia besnoiti* in dairy and beef cattle. *Journal of protozoology Supplement* **17**:31.

48. **Frenkel J. K.** 1977. *Besnoitia wallacei* of cats and rodents: with a reclassification of other cyst-forming isosporoid coccidia. *J Parasitol* **63**:611-28.
49. **Frenkel J. K., and D. D. Smith.** 2003. Determination of the genera of cyst-forming coccidia. *Parasitol Res* **91**:384-9.
50. **Giancamillo M., M. Agosti, and A. Belloli.** 1994. Presented at the Proceedings 18th World Buiatrics Congress : 26th Congress of the Italian Association of Buiatrics, Bologna, Italie, 29 Aout - 2 septembre.
51. **Gobel E., R. Widauer, M. Reimann, and E. Munz.** 1985. Ultrastructure of the asexual multiplication of *Besnoitia besnoiti* (Marotel, 1912) in Vero- and CRFK-cell cultures. *Zentralbl Veterinarmed B* **32**:202-12.
52. **Goldman M., and E. Pipano.** 1983. Serological studies on bovine besnoitiosis in Israel. *Trop Anim Health Prod* **15**:32-8.
53. **Gourreau J. M., and J. Guillot.** 2000. La dermatophilose, p. 540. *In* E. F. agricole (ed.), *Maladies des bovins*.
54. **Heydorn A. O., J. Senaud, H. Mehlhorn, and R. Heinonen.** 1984. *Besnoitia* sp. from goats in Kenya. *Z Parasitenkd* **70**:709-13.
55. **Howlett J. R.** 1981. Vaccine causes an outbreak of bovine virus diarrhea (BVD). *Vet Med Small Anim Clin* **76**:1719-21.
56. **Hu K., J. Johnson, L. Florens, M. Fraunholz, S. Suravajjala, C. DiLullo, J. Yates, D. S. Roos, and J. M. Murray.** 2006. Cytoskeletal components of an invasion machine--the apical complex of *Toxoplasma gondii*. *PLoS Pathog* **2**:13.
57. **Hussein M. F., and E. M. Haroun.** 1975. Bovine cutaneous besnoitiosis in the Sudan: a case report. *Br Vet J* **131**:85-8.

58. **Irigoien M., E. Del Cacho, M. Gallego, F. Lopez-Bernad, J. Quilez, and C. Sanchez-Acedo.** 2000. Immunohistochemical study of the cyst of *Besnoitia besnoiti*. *Vet Parasitol* **91**:1-6.
59. **Janitschke K., A. J. De Vos, and R. D. Bigalke.** 1984. Serodiagnosis of bovine besnoitiosis by ELISA and immunofluorescence tests. *Onderstepoort J Vet Res* **51**:239-43.
60. **Jeffries A. C., N. Amaro, A. M. Tenter, and A. M. Johnson.** 1996. Genetic diversity in *Sarcocystis gigantea* assessed by RFLP analysis of the ITS1 region. *Appl Parasitol* **37**:275-83.
61. **Jenkins M. C., J. T. Ellis, S. Liddell, C. Ryce, B. L. Munday, D. A. Morrison, and J. P. Dubey.** 1999. The relationship of *Hammondia hammondi* and *Sarcocystis mucosa* to other heteroxenous cyst-forming coccidia as inferred by phylogenetic analysis of the 18S SSU ribosomal DNA sequence. *Parasitology* **119 (Pt 2)**:135-42.
62. **Kaggwa E.** 1977. The evaluation of various serological methods for the diagnosis of *Besnoitia besnoiti* and *Besnoitia jellisoni* infections in rabbits and mice. Makerere University, Uganda.
63. **Khvan M. V.** 1968. [Besnoitiasis of cattle in Kazakhstan]. *Veterinariia* **45**:64-5.
64. **Kumi-Diaka J., S. Wilson, A. Sanusi, C. E. Njoku, and D. I. Osori.** 1981. Bovine besnoitiosis and its effect on the male reproductive system. *Theriogenology* **16**:523-30.
65. **Lee H. S., U. B. Bak, M. H. Moon, and J. U. Shin.** 1970. Studies on bovine besnoitiosis in Korea: II. A survey on incidence in the enzootic region. *Kisaengchunghak Chapchi* **8**:76-80.
66. **Legrand P.** 2003. La besnoitiose bovine en Ariège. Paul Sabatier, Toulouse.
67. **Loste J. M., J. Zabala, I. Bautista, and J. A. Castillo.** 2002. Diagnostico de besnoitiosis (*Besnoitia besnoiti*) en una explotación de vacuno lechero de la

comunidad foral de Navarra. Asociación nacional de especialistas en medicina bovina de España.

68. **Luddeni V.** 2007. Vétérinaire praticien, Communication personnelle.
69. **McCully R. M., P. A. Basson, J. W. Van Niekerk, and R. D. Bigalke.** 1966. Observations on *Besnoitia* cysts in the cardio-vascular system of some wild antelopes and domestic cattle. *Onderstepoort J Vet Res* **33**:245-276.
70. **Morrisette N. S., and L. D. Sibley.** 2002. Cytoskeleton of apicomplexan parasites. *Microbiol Mol Biol Rev* **66**:21-38.
71. **Neumann M.** 1972. Serological survey of *Besnoitia besnoiti* (Marotel 1912) infection in Israel by immunofluorescence. *Zentralbl Veterinarmed B* **19**:391-6.
72. **Neumann M., and T. A. Nobel.** 1960. Globidiosis of cattle and sheep in Israël. *Refuah vet.* **17**:103-101.
73. **Neumann M.** 1972. Pathological changes causing sterility in bulls infected with *Besnoitia besnoiti* (Marotel 1912). *Journal of protozoology* **19**:54.
74. **Njagi O. N., R. Entzeroth, P. N. Nyaga, and A. J. Musoke.** 2004. Monoclonal antibodies identify two neutralization-sensitive epitopes in *Besnoitia besnoiti* endocytes. *Parasitol Res* **94**:247-53.
75. **Njagi O. N., C. M. Ndarathi, P. N. Nyaga, and L. K. Munga.** 1998. An epidemic of besnoitiosis in cattle in Kenya. *Onderstepoort J Vet Res* **65**:133-6.
76. **Njenga J. M., O. Bwangamoi, E. K. Kangethe, G. M. Mugeru, and E. R. Mutiga.** 1995. Comparative ultrastructural studies on *Besnoitia besnoiti* and *Besnoitia caprae*. *Vet Res Commun* **19**:295-308.
77. **Njenga J. M., O. Bwangamoi, E. R. Mutiga, E. K. Kangethe, and G. M. Mugeru.** 1993. Preliminary findings from an experimental study of caprine besnoitiosis in Kenya. *Vet Res Commun* **17**:203-8.



78. **Njenga M. J., S. J. Munyua, O. Bwangamoi, E. K. Kang'ethe, G. M. Mugeru, E. R. Mutiga, and J. P. Wamukoya.** 1999. Prevalence of besnoitiosis in domestic ruminants in Kenya: a preliminary survey. *J S Afr Vet Assoc* **70**:151-3.
79. **Nobel T. A., M. Neumann, U. Klopfer, and S. Perl.** 1977. Kystes de *Besnoitia besnoiti* dans les organes génitaux de la vache. *Bull Acad Vet. de France* **50**:569-574.
80. **Oryan A., and M. J. Sadeghi.** 1997. An epizootic of besnoitiosis in goats in Fars province of Iran. *Vet Res Commun* **21**:559-70.
81. **Perl S., U. Klopfer, B. Jacobson, and G. Brener.** 1981. *Besnoitia* cysts in the adrenal gland of a cow. *Vet Q* **3**:148-9.
82. **Peteshev Y., I. G. Galuzo, and A. P. Polomoshnov.** 1974. (Les chats hôtes définitifs de *Besnoitia besnoiti*) Koshki-defini-tivnye *Khoziaeva besnoiti*. *Izv. Akad. Nauk. Kaz. SSR. Ser. Biol.* **1**:33-38.
83. **Pipano E.** 1997. Vaccines against hemoparasitic diseases in Israel with special reference to quality assurance. *Trop Anim Health Prod* **29**:86S-90S.
84. **Pols J. W.** 1954. The artificial transmission of *Globidium besnoiti* (Marotel 1912) to cattle and rabbits. *J S Afr Vet Med Assoc* **25**:37-44.
85. **Pols J. W.** 1960. Studies on bovine besnoitiosis with special reference to the aetiology. *Onderstepoort J Vet Res* **28**:265 - 356.
86. **Reis Y., H. Cortes, L. Viseu Melo, I. Fazendeiro, A. Leitao, and H. Soares.** 2006. Microtubule cytoskeleton behaviour in the initial steps of host cell invasion by *Besnoitia besnoiti*. *FEBS Lett* **580**:4673-82.
87. **Rommel M.** 1975. [New knowledge on the biology of Coccidia, Toxoplasma, Sarcosporidia and Besnoitia]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* **88**:112-117.
88. **Sahun S.** 1998. La besnoitiose bovine en France : mise au point d'un test ELISA et enquête sur le terrain. Paul Sabatier, Toulouse.

89. **Samish M., V. Shkap, H. Bin, and E. M. Pipano.** 1988. Cultivation of *Besnoitia besnoiti* in four tick cell lines. *Int J Parasitol* **18**:291-6.
90. **Samish M., V. Shkap, and E. Pipano.** 1987. *Besnoitia besnoiti*: long term cultivation in tick cell lines. *Exp Parasitol* **64**:261-3.
91. **Sannusi A.** 1991. A simple field diagnostic smear test for bovine besnoitiosis. *Vet Parasitol* **39**:185-8.
92. **Schelcher F., and M. Franc.** 2007. Communication personnelle.
93. **Seguin.** 2007. Vétérinaire praticien, Communication personnelle.
94. **Shkap V., H. Bin, B. Lebovich, and E. Pipano.** 1991. *Besnoitia besnoiti*: quantitative in vitro studies. *Vet Parasitol* **39**:207-13.
95. **Shkap V., D. T. De Waal, and F. T. Potgieter.** 1985. Chemotherapy of experimental *Besnoitia besnoiti* infection in rabbits. *Onderstepoort J Vet Res* **52**:289.
96. **Shkap V., E. Pipano, and C. Greenblatt.** 1987. Cultivation of *Besnoitia besnoiti* and evaluation of susceptibility of laboratory animals to cultured parasites. *Vet Parasitol* **23**:169-78.
97. **Shkap V., E. Pipano, S. Marcus, and Y. Krigel.** 1994. Bovine besnoitiosis: transfer of colostral antibodies with observations possibly relating to natural transmission of the infection. *Onderstepoort J Vet Res* **61**:273-5.
98. **Shkap V., E. Pipano, and H. Ungar-Waron.** 1987. *Besnoitia besnoiti*: chemotherapeutic trials in vivo and in vitro. *Rev Elev Med Vet Pays Trop* **40**:259-64.
99. **Shkap V., E. Pipano, and B. Zwernemann.** 1995. Activity of a monoclonal antibody against *Besnoitia besnoiti* endozoites. *Vet Res* **26**:328-34.

100. **Shkap V., A. Reske, E. Pipano, L. Fish, and T. Baszler.** 2002. Immunological relationship between *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti*. *Vet Parasitol* **106**:35-43.
101. **Shkap V., H. Ungar-Waron, and E. Pipano.** 1990. Identification and partial purification of soluble antigens from culture-grown *Besnoitia besnoiti* endozoites. *Rev Elev Med Vet Pays Trop* **43**:63-8.
102. **Shkap V., H. Ungar-Waron, and E. Pipano.** 1989. Soluble antigens from culture-grown *Besnoitia besnoiti* endozoites. *Vet Parasitol* **34**:165-70.
103. **Shkap V., H. Ungar-Waron, E. Pipano, and C. Greenblatt.** 1984. Enzyme linked immunosorbent assay for detection of antibodies against *Besnoitia besnoiti* in cattle. *Trop Anim Health Prod* **16**:233-8.
104. **Shkap V., H. Ungar-Waron, E. Pipano, and C. Greenblatt.** 1985. Specific antibodies to *Besnoitia besnoiti* precipitated from serum of cattle by live parasites and by soluble antigen. *Vet Immunol Immunopathol* **9**:53-7.
105. **Shkap V., B. A. Yakobson, and E. Pipano.** 1988. Transmission and scanning electron microscopy of *Besnoitia besnoiti*. *Int J Parasitol* **18**:761-6.
106. **Springerlinks.** 2007. Encyclopedic reference of parasitology.
107. **Striepen B., C. N. Jordan, S. Reiff, and G. G. van Dooren.** 2007. Building the perfect parasite: cell division in apicomplexa. *PLoS Pathog* **3**:78.
108. **Studer E., G. Bertoni, and U. Candrian.** 2002. Detection and characterization of pestivirus contaminations in human live viral vaccines. *Biologicals* **30**:289-96.
109. **Tenter A. M., J. R. Barta, I. Beveridge, D. W. Duszynski, H. Mehlhorn, D. A. Morrison, R. C. Thompson, and P. A. Conrad.** 2002. The conceptual basis for a new classification of the coccidia. *Int J Parasitol* **32**:595-616.

Toulouse, 2007

NOM : THOMAS

Prénom : Cécile, Anne, Clémence

TITRE : La besnoitiose bovine, données bibliographiques.

RESUME : L'auteur présente la synthèse des données bibliographiques concernant la besnoitiose bovine en respectant le plan habituel de l'étude d'une maladie : épidémiologie, étiologie, clinique et contrôle. Pour chacune de ces parties l'auteur apporte des informations supplémentaires recueillies lors d'une enquête réalisée auprès de vétérinaires praticiens

MOTS-CLES : BESNOITIOSE - BESNOITIA BESNOITI - BIBLIOGRAPHIE - BOVIN - EPIDEMIOLOGIE - VECTEUR - DIAGNOSTIC - CONTROLE

ENGLISH TITLE : Bovine besnoitiosis, a review.

ABSTRACT : The author presents a synthesis of bibliographic data about besnoitioses of cattle following the usual study of a pathology: epidemiology, etiology, clinical presentation and controls. For each part, the author gives additional informations collected by questioning veterinarian practitioners.

KEYWORDS : BESNOITIOSIS - BESNOITIA BESNOITI - REVIEW - CATTLE - EPIDEMIOLOGY - VECTOR - DIAGNOSIS - CONTROL