




OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <https://oatao.univ-toulouse.fr/27471/>

Chomarat, Théo . *Élaboration d'un protocole de dépistage et de contrôle de la besnoitiose bovine au sein du centre de sélection de la race Gasconne*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2020, 146 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: [tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr](mailto:tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr)

# ELABORATION D'UN PROTOCOLE DE DEPISTAGE ET DE CONTROLE DE LA BESNOITIOSE BOVINE AU SEIN DU CENTRE DE SELECTION DE LA RACE GASCONNE

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**CHOMARAT Théo**  
Né le 19/05/1995 à MONTELIMAR (26)

**Directeur de thèse : M. Philippe JACQUIET**

---

## JURY

PRESIDENT :  
**M. Alexis VALENTIN**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :  
**M. Philippe JACQUIET**  
**M. Fabien CORBIERE**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :  
**M. Jean-Pierre GAJAN**

Directeur du centre de sélection de la race Gasconne



**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation  
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

**Directeur**: Professeur Pierre SANS

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie - Thérapeutique*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **PETIT Claude**, (Émérite) - *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**PROFESSEURS 1° CLASSE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

**PROFESSEURS 2° CLASSE**

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **RABOISSON Didier**, *Médecine de population et Économie de la santé animale*

**PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

**MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE**

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*  
Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*  
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*

**MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)**

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
Mme **BOHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*  
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*  
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*  
Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie- Bactériologie-Pathologie infectieuse*  
Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et Industrie des aliments*  
Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*  
M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et Industrie des aliments*  
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*  
Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*  
Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*  
Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie - Analgésie*  
Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*  
Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*  
M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*  
M. **LHERMIE Guillaume**, *Economie de la santé animale*  
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*  
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*  
Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*  
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*  
Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales règlementées*  
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

**CHARGES D'ENSEIGNEMENT CONTRACTUELS**

- M. **BOLON Pierrick**, *Production et pathologie aviaire*  
M. **LEYNAUD Vincent**, *Médecine interne*  
Mme **ROBIN Marie-Claire**, *Ophthalmologie*  
Mme **TOUSSAIN Marion**, *Pathologie des équidés*

**ENSEIGNANT DE PREMIERE ANNEE COMMUNE AUX ETUDES VETERINAIRES**

- Mme **GAUCHARD Cécile**, *Biologie-écologie-santé*

**ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS**

- Mme **BLONDEL Margaux**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*  
M. **COMBARROS-GARCIA Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*  
M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*  
M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*  
M. **LESUEUR Jérémy**, *Gestion de la santé des ruminants – Médecine collective de précision*  
M. **TOUITOU Florian**, *Alimentation animale*

# Remerciements

---

## **A Monsieur le Professeur Alexis Valentin**

Professeur de l'Université Paul Sabatier de Toulouse  
Praticien Hospitalier au CHU de Toulouse  
*Zoologie et parasitologie*

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse.  
Hommages respectueux.

## **A Monsieur le Professeur Philippe Jacquet**

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
*Parasitologie et Maladies Parasitaires*

Pour avoir accepté la direction de cette thèse, pour vos conseils et votre implication dans ce travail.  
Mes sincères remerciements.

## **A Monsieur le Docteur Fabien Corbière**

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
*Pathologie des ruminants*

Pour avoir accepté le rôle d'assesseur de cette thèse et votre disponibilité.  
Toute ma reconnaissance.

## **A Monsieur Jean-Pierre Gajan**

Directeur de la station Gasconne de Villeneuve-du-Paréage

Pour avoir accepté d'être présent en tant que membre invité.  
Un grand merci à vous ainsi qu'à tout le personnel de la station pour votre bienveillance et votre implication dans ce travail.



# Table des matières

---

<b>LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT.....</b>	<b>- 1 -</b>
<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>- 3 -</b>
<b>TABLE DES MATIERES.....</b>	<b>- 5 -</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>- 9 -</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	<b>- 13 -</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>	<b>- 14 -</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>- 15 -</b>
<b>PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>- 17 -</b>
<b>1. LA BESNOITIOSE BOVINE.....</b>	<b>- 18 -</b>
1.1    PRESENTATION GENERALE.....	- 18 -
1.1.1 <i>Synonymie et historique.....</i>	- 18 -
1.1.2 <i>Répartition géographique (Figure 1).....</i>	- 19 -
1.2    ETIOLOGIE.....	- 22 -
1.2.1 <i>Taxonomie.....</i>	- 22 -
1.2.2 <i>Formes du parasite.....</i>	- 24 -
1.2.3 <i>Biologie.....</i>	- 27 -
1.3    EPIDEMIOLOGIE.....	- 33 -
1.3.1 <i>Epidémiologie descriptive.....</i>	- 33 -
1.3.2 <i>Epidémiologie analytique.....</i>	- 36 -
1.3.3 <i>Bilan.....</i>	- 42 -
1.4    ETUDE CLINIQUE.....	- 43 -
1.4.1 <i>Infection et réponse immunitaire.....</i>	- 43 -
1.4.2 <i>Infection asymptomatique.....</i>	- 44 -
1.4.3 <i>Infection symptomatique.....</i>	- 45 -
1.4.4 <i>Conséquences fonctionnelles.....</i>	- 52 -
1.4.5 <i>Lésions.....</i>	- 54 -
1.4.6 <i>Modifications biochimiques et hématologiques.....</i>	- 58 -
1.4.7 <i>Evolution et pronostic.....</i>	- 58 -



1.5	DIAGNOSTIC .....	- 60 -
1.5.1	<i>Diagnostic différentiel des suspicions épidémio-cliniques</i> .....	- 60 -
1.5.2	<i>Post mortem</i> .....	- 62 -
1.5.3	<i>Diagnostic de laboratoire</i> .....	- 62 -
1.6	MOYENS DE LUTTE.....	- 79 -
1.6.1	<i>Traitement des cas cliniques</i> .....	- 79 -
1.6.2	<i>Prophylaxie médicale</i> .....	- 81 -
1.6.3	<i>Prophylaxie sanitaire</i> .....	- 82 -
1.6.4	<i>Lutte antivectorielle</i> .....	- 88 -
1.7	CONSEQUENCES .....	- 91 -
1.7.1	<i>Conséquences zootechniques</i> .....	- 91 -
1.7.2	<i>Conséquences économiques</i> .....	- 92 -

## **2. LA RACE GASCONNE DES PYRENEES ..... - 94 -**

2.1	CARACTERISTIQUES MORPHOLOGIQUES ET APTITUDES.....	- 94 -
2.1.1	<i>Rusticité</i> .....	- 94 -
2.1.2	<i>Productivité</i> .....	- 97 -
2.1.3	<i>Engraissement et qualités bouchères</i> .....	- 98 -
2.2	EFFECTIFS ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE.....	- 99 -
2.3	SELECTION GENETIQUE .....	- 101 -
2.3.1	<i>Centre de sélection</i> .....	- 101 -
2.3.2	<i>Stratégies de sélection</i> .....	- 103 -

## **PARTIE 2 : ELABORATION D'UN PROTOCOLE DE DEPISTAGE ET DE GESTION DE LA BESNOITIOSE AU SEIN DU CENTRE DE SELECTION DE LA RACE GASCONNE ..... - 107 -**

### **1. MOTIVATIONS A L'ORIGINE DE CETTE DEMANDE..... - 108 -**

1.1	FORTE PREVALENCE DE LA BESNOITIOSE DANS LE CHEPTEL GASCON .....	- 108 -
1.2	EVENEMENTS DE L'ANNEE 2019.....	- 108 -
1.2.1	<i>Evènements survenus au mois de mars 2019</i> .....	- 109 -
1.2.2	<i>Mois d'avril 2019</i> .....	- 110 -
1.2.3	<i>Mois de mai 2019</i> .....	- 110 -
1.2.4	<i>Une explication possible des évènements</i> .....	- 110 -
1.3	DES OBJECTIFS DIFFICILES A CONCILIER POUR LA STATION DE SELECTION .....	- 111 -
1.3.1	<i>Plusieurs troupeaux sur un même site</i> .....	- 112 -

1.3.2	<i>Des jeunes taureaux d'origines diverses mélangés pour les besoins de la sélection.</i>	- 113 -
1.3.3	<i>Volonté d'élargir le panel de fournisseurs</i>	- 113 -
1.3.4	<i>Volonté de fournir des élevages de statut sanitaire varié</i>	- 114 -
1.4	IMPLICATION DES AUTORITES DANS LA MAITRISE DE LA BESNOITIOSE	- 115 -
<b>2.</b>	<b>PROTOCOLE PROPOSE</b>	<b>- 116 -</b>
2.1	SCREENING SEROLOGIQUE INITIAL	- 116 -
2.1.1	<i>Deux périodes d'entrée en station</i>	- 116 -
2.1.2	<i>Première sérologie dans l'élevage d'origine</i>	- 116 -
2.1.3	<i>Seconde sérologie dans la station</i>	- 117 -
2.2	QUANTIFICATION DE L'INFECTION DES ANIMAUX SEROPOSITIFS	- 117 -
2.3	SUIVI SANITAIRE PENDANT L'EVALUATION DES TAUREAUX	- 118 -
2.3.1	<i>Surveillance clinique</i>	- 118 -
2.3.2	<i>Sérologies bimestrielles et qPCR sur séroconversion</i>	- 118 -
2.4	BILAN	- 119 -
2.4.1	<i>Planning</i>	- 119 -
2.4.2	<i>Arbre décisionnel</i>	- 120 -
<b>3.</b>	<b>RESULTATS OBTENUS SUR LA BANDE 2019-2020</b>	<b>- 121 -</b>
3.1	ELIMINATION D'UN TAUREAU FORT CONTAMINATEUR A L'ENTREE	- 121 -
3.1.1	<i>Résultats du screening sérologique initial</i>	- 121 -
3.1.2	<i>Résultats de la quantification de l'infestation</i>	- 121 -
3.2	SUIVI SANITAIRE PENDANT L'EVALUATION	- 122 -
3.3.1	<i>Suivi sérologique</i>	- 122 -
3.3.2	<i>Surveillance clinique</i>	- 122 -
3.3	DES TAUREAUX DISPONIBLES POUR DES ELEVAGES AUX STATUTS SANITAIRES VARIES	- 123 -
3.4	BILAN	- 124 -
<b>4.</b>	<b>DISCUSSION</b>	<b>- 125 -</b>
4.1	RETOUR SUR LES EVENEMENTS DE NOVEMBRE 2019	- 125 -
4.1.1	<i>Apparition d'un nouveau cas clinique</i>	- 125 -
4.1.2	<i>Une gestion du temps à améliorer</i>	- 125 -
4.2	SCREENING SEROLOGIQUE INITIAL	- 126 -
4.2.1	<i>Historique du taureau F</i>	- 126 -
4.2.2	<i>Améliorations possibles du screening sérologique initial</i>	- 126 -
4.3	PRENDRE LE RISQUE DE CONSERVER DES ANIMAUX SEROPOSITIFS	- 127 -
4.3.1	<i>Un risque de contamination réduit mais non nul</i>	- 127 -
4.3.2	<i>Un large panel d'animaux</i>	- 127 -
4.3.3	<i>Evaluation de la qualité du sperme des taureaux séropositifs</i>	- 127 -

4.4	SURVEILLANCE DES AUTRES TROUPEAUX DE LA STATION DE SELECTION.....	- 128 -
4.5	CONNAISSANCE DU STATUT DE CHAQUE ELEVAGE FOURNISSEUR ET ACHETEUR .....	- 128 -
4.6	APPLICATIONS POSSIBLES D'UN TEL PROTOCOLE .....	- 129 -
	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>- 131 -</b>
	<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>- 135 -</b>
	<b>SITOGRAPHIE .....</b>	<b>- 146 -</b>

# Liste des figures

---

Figure 1 : Cartes de la répartition mondiale et européenne de plusieurs espèces du genre <i>Besnoitia</i> .....	- 20 -
Figure 2 : Cartes montrant l'extension de la besnoitiose bovine en France depuis 1990....	- 21 -
Figure 3 : Place de <i>B. besnoiti</i> dans la classification des eucaryotes. ....	- 22 -
Figure 4 : Arbre phylogénétique de la famille des <i>Sarcocystidae</i> établi à partir des séquences d'ADNr de la petite sous-unité ribosomale. ....	- 23 -
Figure 5 : Hôtes et arbre phylogénétique établi à partir des séquences d'ADN de la région ITS-1 des différentes espèces du genre <i>Besnoitia</i> . ....	- 24 -
Figure 6 : a : Tachyzoïtes observés au microscope électronique à balayage, échelle : 12 µm ; b : Tachyzoïtes libres dans le sang, échelle : 7 µm. ....	- 25 -
Figure 7 : Kystes à bradyzoïtes chez une vache atteinte de besnoitiose en microscopie optique x200, coloration Hémalum-Eosine.....	- 26 -
Figure 8 : Ookystes de <i>Besnoitia wallacei</i> vus au microscope. ....	- 27 -
Figure 9 : Schéma général du cycle biologique de la famille des <i>Sarcocystidae</i> .....	- 27 -
Figure 10 : Schéma général des cycles biologiques de <i>B. besnoiti</i> .....	- 28 -
Figure 11 : Les deux principaux vecteurs de <i>Besnoitia besnoiti</i> : un Tabanidé et <i>Stomoxys calcitrans</i> .....	- 31 -
Figure 12 : Photographie de stomoxes se nourrissant au niveau du pâturon d'un bovin ....	- 38 -
Figure 13 : Schéma montrant l'influence du comportement trophique des vecteurs sur la probabilité de transmission de <i>B. besnoiti</i> entre bovins. ....	- 40 -
Figure 14 : Schéma représentant les principaux facteurs de l'hôte et du vecteur régissant la transmission de <i>B. besnoiti</i> au sein d'un cheptel .....	- 42 -
Figure 15 : Schéma représentant la répartition des animaux selon leur expression clinique dans un cheptel atteint de besnoitiose et les probabilités de présence d'anticorps et de kystes à bradyzoïtes .....	- 45 -
Figure 16 : Photographies de bovins en phase fébrile de besnoitiose.....	- 46 -
Figure 17 : Photographie de bovins en phase des œdèmes. ....	- 47 -

Figure 18 : Photographies de bovins en phase des œdèmes.....	- 48 -
Figure 19 : Photographie d'un taureau Gascon en phase de sclérodémie, aspect "zébré" du cuir au niveau du thorax et de l'abdomen. ....	- 49 -
Figure 20 : Photographie de la face et de l'encolure d'une vache Aubrac en phase de sclérodémie. ....	- 50 -
Figure 21 : Photographies de bovins de race Limousine en phase de sclérodémie. ....	- 51 -
Figure 22 : Photographies de kystes parasitaires sur la sclère oculaire de bovins en phase de sclérodémie . ....	- 52 -
Figure 23 : Mécanismes physiopathologiques à l'origine de l'infertilité des taureaux atteints de besnoitiose clinique en phase aiguë et en phase chronique.....	- 53 -
Figure 24 : Comparaison des spermogrammes d'un taureau sain et d'un taureau atteint de besnoitiose.....	- 54 -
Figure 25 : Photographie de l'aspect congestivo-hémorragique de la carcasse d'un bovin en phase fébrile de besnoitiose.....	- 55 -
Figure 26 : Photographie de kystes parasitaires visibles à l'œil nu dans le tissu sous cutané d'un bovin en phase de sclérodémie . ....	- 55 -
Figure 27 : Photographie d'un muscle d'une vache atteinte de besnoitiose en phase de sclérodémie. ....	- 56 -
Figure 28 : Photographie de la réaction granulomateuse en périphérie de kystes parasitaires observée sur une coupe histologique d'un bovin en phase de sclérodémie colorée à l'HE et observée au microscope optique, échelle : 100 µm.....	- 57 -
Figure 29 : <b>A</b> : Kyste à bradyzoïtes issu d'un raclage oculaire observé au microscope optique grossissement 50 ; <b>B</b> : bradyzoïtes (flèches) et erythrocytes (pointes de flèches) issus d'un écouvillon vaginal observés au microscope optique, coloration HE, échelle : 10µm .....	- 63 -
Figure 30 : Protocole de réalisation d'une biopsie cutanée à la base de la queue en 5 étapes afin de réaliser une PCR quantitative besnoitiose. ....	- 65 -
Figure 31 : Photographie d'une coupe histologique de paupière d'un bovin en phase de sclérodémie colorée à l'HE et observée au microscope optique.....	- 66 -
Figure 32 : Coupe histologique de muqueuse pharyngée d'un bovin en phase de sclérodémie traitée par IHC et observée au microscope optique.....	- 67 -

Figure 33 : Représentation d'une courbe d'amplification obtenue par qPCR.....	- 69 -
Figure 34 : Photographie de tachyzoïtes observés au microscope à ultra-violet sur une lame témoin positif à la dilution 1:200, grossissement x1600.....	- 71 -
Figure 35 : Photographie de résultats de Western Blot.....	- 73 -
Figure 36 : Schéma représentant les différentes possibilités de diagnostic de laboratoire de la besnoitiose utilisables selon le stade d'infection .....	- 76 -
Figure 37 : Schéma représentant les différentes catégories de bovins existant dans un cheptel non indemne de besnoitiose et l'ordre prioritaire de réforme.....	- 85 -
Figure 38 : Logigramme de la gestion à l'échelle de l'élevage d'une première suspicion clinique de besnoitiose.....	- 87 -
Figure 39 : Photographies d'un piège Vavoua (à gauche) et d'un piège N'zi (à droite) utilisés pour le piégeage respectif des stomoxes et des taons.....	- 90 -
Figure 40 : Photographie d'une vache Gasconne avec trois veaux en estive.....	- 94 -
Figure 41 : Photographie d'un troupeau Gascon en estive.....	- 95 -
Figure 42 : Photographie d'une vache Gasconne en estive.....	- 96 -
Figure 43 : Photographie d'un taureau Gascon.....	- 96 -
Figure 44 : Graphiques des conditions de vêlage de plusieurs races à facilité de vêlage selon les primipares et tous vêlages confondus.....	- 97 -
Figure 45 : Histogramme représentant la part de différents frais vétérinaires selon la race bovine considérée.....	- 98 -
Figure 46 : Carte de France montrant la répartition du cheptel gascon dans les départements en 2006.....	- 99 -
Figure 47 : Carte de l'Espagne montrant la répartition du cheptel gascon dans les différentes régions du pays.....	- 100 -
Figure 48 : Carte du Sud de Toulouse montrant la localisation du Groupe Gascon à proximité de Pamiers dans le département de l'Ariège .....	- 101 -
Figure 49 : Photographie des jeunes taureaux gascons dans la station de sélection après distribution de leur ration.....	- 102 -
Figure 50 : Schéma global de sélection par la voie femelle de la race Gasconne.....	- 103 -

Figure 51 : Schéma global de la sélection par la voie mâle de la race Gasconne. ....	- 104 -
Figure 52 : Vue aérienne de la station Gasconne. ....	- 112 -
Figure 53 : Planning général des contrôles sérologiques systématiques. ....	- 119 -
Figure 54 : Planning des contrôles sérologiques systématiques pour 2019-2020. ....	- 120 -
Figure 55 : Arbre décisionnel de l'avenir des taureaux selon les résultats d'analyses. ....	- 120 -

# Liste des tableaux

---

Tableau 1 : Diagnostic différentiel de la besnoitiose en phase fébrile selon ses principaux signes cliniques et la fréquence relative actuelle des maladies considérées. ....	- 60 -
Tableau 2 : Diagnostic différentiel de la besnoitiose en phase des œdèmes selon ses principaux signes cliniques et la fréquence relative actuelle des maladies considérées. ....	- 61 -
Tableau 3 : Diagnostic différentiel de la besnoitiose en phase de sclérodémie selon ses principaux signes cliniques. ....	- 62 -
Tableau 4 : Comparaison des méthodes de diagnostic de la besnoitiose bovine selon leur seuil de positivité, leur sensibilité et spécificité, leurs avantages et leurs limites. ....	- 77 -
Tableau 5 : Posologies d'utilisation de la sulfadimidine et de la sulfadiméthoxine injectables selon l'AMM et les recommandations en cas de besnoitiose aiguë. ....	- 80 -
Tableau 6 : Tableau de synthèse des différents résultats d'analyses effectuées sur les taureaux au cours de l'année 2019.....	- 111 -
Tableau 7 : Tableau des différentes issues possibles pour les taureaux en fonction des résultats des analyses obtenus.....	- 123 -
Tableau 8 : Tableau de synthèse des différents résultats d'analyses effectuées sur les taureaux au cours de la saison 2019-2020. ....	- 124 -



# Liste des abréviations

---

ADN : acide désoxyribonucléique  
AMM : autorisation de mise sur le marché  
ASAT : aspartate aminotransférase  
BHV 1 : bovine herpesvirus 1  
BPIE : bronchopneumonie infectieuse enzootique  
BRSV : virus respiratoire syncytial bovin  
CK : créatine kinase  
Ct : threshold cycle  
dFAT : direct fluorescence antibody test  
ELISA : enzyme linked immunosorbant assay  
FCO : fièvre catarrhale ovine  
GDS : groupement de défense sanitaire  
GMQ : gain moyen quotidien  
HE : hémalun éosine  
IBR : rhinotrachéite infectieuse bovine  
IFI : immunofluorescence indirecte  
IHC : immunohistochimie  
IM : injection intra-musculaire  
ITS-1 : internal transcribed spacer 1  
IV : injection intra-veineuse  
MAT : test de microagglutination  
mL : millilitre  
PCR : polymerase chain reaction  
Pi3 : virus para influenza 3  
PV : poids vif  
qPCR : PCR en temps réel, PCR quantitative  
Se : sensibilité  
Sp : spécificité  
WB : western blot  
°C : degrés Celsius

# Introduction

---

Depuis l'antiquité, la besnoitiose est une maladie décrite chez les bovins comme la maladie de la « peau d'éléphant ». Elle est due à un protozoaire du phylum des Apicomplexa : *Besnoitia besnoiti*. Historiquement, elle était présente en France dans le piémont pyrénéen et le sud du massif central, zone géographique qui correspond également à l'aire d'origine de la race bovine Gasconne des Pyrénées.

La besnoitiose connaît depuis le début des années 2000 une forte expansion en France mais aussi en Europe. Elle est considérée par l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) comme une maladie émergente chez les bovins et requiert un intérêt grandissant au regard de ses conséquences médicales et économiques. Toutefois, ce n'est pas une maladie réglementée, par conséquent elle ne fait pas l'objet d'un dépistage obligatoire.

La prévalence de la besnoitiose au sein de la race Gasconne n'est pas connue précisément mais elle est suspectée élevée d'après les retours des vétérinaires sanitaires locaux et des laboratoires vétérinaires départementaux. L'enracinement de la besnoitiose dans le cheptel gascon a pu être favorisé par les pratiques pastorales comme la conduite en estives communes en montagne l'été.

Le commerce de bovins infectés de manière asymptomatique constitue la raison principale de sa diffusion à grande échelle. Cependant, entre cheptels voisins et au sein d'un troupeau, la contamination a lieu principalement par l'intermédiaire d'insectes vecteurs à partir d'un animal infecté chronique « fort contamineur ».

Les moyens médicaux curatifs et préventifs montrent une efficacité discutable et de nombreuses limites. Par conséquent, le contrôle de cette maladie est fondé principalement sur la détection des individus séropositifs et leur réforme rapide. Dans les élevages à forte séroprévalence, la réforme rapide de tous les individus séropositifs est impossible d'un point de vue économique et pour la pérennité de l'activité. Dans ces cas précis, la réforme prioritaire des individus « forts contamineurs » semble prometteuse afin de parvenir à un assainissement progressif.

La plupart du temps, les bovins infectés ne montrent aucun signe clinique de la maladie, ils sont dits asymptomatiques, mais lorsque la maladie se manifeste, elle a de nombreuses conséquences sur l'état de santé de l'animal, son bien-être, sa productivité et sa capacité de

reproduction. Les mâles peuvent particulièrement être atteints lors de la phase aigüe par une infertilité transitoire voire définitive.

La station Gasconne accueille chaque année 80 jeunes mâles pendant 5 mois pour procéder à l'évaluation individuelle de leurs performances. L'objectif est d'identifier les mâles qui possèdent les meilleurs caractères de la race et les meilleurs résultats de performances pour les vendre en qualité de futurs reproducteurs.

La période de transit des taureaux dans la station constitue une période à risque de transmission de la besnoitiose car les jeunes mâles proviennent d'élevages divers avec des statuts sanitaires variés. Depuis l'apparition de cas cliniques de besnoitiose au printemps 2019, les responsables de la station ont souhaité établir un plan de gestion de cette maladie. C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail.

La première partie de cette thèse est une synthèse bibliographique des connaissances actuelles au sujet de la besnoitiose et une présentation de la race Gasconne des Pyrénées.

La seconde partie est constituée d'une synthèse des événements survenus sur la bande de taureaux de l'année 2018-2019, de la proposition d'un protocole de gestion de la besnoitiose et de sa mise en œuvre pour la bande de 2019-2020 et d'une discussion sur les résultats obtenus.

## PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

---

# 1. La besnoitiose bovine

## 1.1 Présentation générale

### 1.1.1 Synonymie et historique

La besnoitiose bovine est une maladie décrite dès l'antiquité, les médecins grecs l'appelaient Eléphantiasis car en phase chronique de la maladie, la peau des bovins devient semblable à celle des éléphants, aujourd'hui encore elle est vulgairement appelée la « maladie de la peau d'éléphant ».

Ce n'est qu'en 1817 que Santin, vétérinaire dans le Tarn, décrit les phases précoces de la maladie : œdèmes des zones déclives et de la tête, écoulements oculaires, engorgement des membres et du fanon... Il observe également que ces zones « engorgées » finissent par prendre l'aspect d'un cuir tanné et par s'exfolier (Ferrié, 1984). Cependant, l'existence d'un agent pathogène unique à l'origine des deux phases cliniques de la maladie est controversée, c'est pourquoi la phase d'engorgement est également nommée Anasarque pour la différencier.

L'ensemble des signes cliniques de la maladie ont été décrits par Cadéac en 1884 dans une publication « Identité de l'éléphantiasis et de l'anasarque du bœuf. Description de cette maladie » bien que l'agent pathogène responsable de la maladie demeurait encore inconnu (Cadéac, 1884).

C'est en 1912 que les professeurs C. Besnoit et V. Robin de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse parviennent à isoler dans la peau d'une vache en phase de sclérodermie un agent parasitaire. Ils publient alors un article intitulé « Sarcosporidiose cutanée chez une vache » (Besnoit, Robin, 1912). La même année, Marotel conclut que le parasite observé n'est semblable à aucun parasite connu et propose de le nommer *Sarcocystis besnoiti* en l'honneur de ceux qui l'ont découvert. Cependant, des différences importantes avec les parasites du genre *Sarcocystis* amènent les scientifiques de l'époque à créer un nouveau genre : *Besnoitia*.

De nombreuses controverses auront lieu par rapport au nom à donner à ce parasite, mais la proposition de Henry en 1913 : *Besnoitia besnoiti* sera finalement retenue (Jellison, 1956).

### 1.1.2 Répartition géographique (Figure 1)

#### *Dans le Monde*

A l'échelle mondiale, la maladie a rapidement été considérée comme très fréquente en Afrique sub-saharienne où elle ne fût que plus tard qualifiée de maladie endémique (Bigalke, 1968).

Des cas cliniques de besnoitiose ont été décrits en Asie : Kazakhstan, Ouzbékistan, Russie, mais aussi en Chine et en Corée du Sud (Lee et al., 1970) ou encore en Israël et en Jordanie (Olias et al., 2011 ; Talafha et al., 2015).

Par ailleurs, la maladie a également été observée sur le continent sud-américain au Venezuela (Vogelsang, Gallo, 1941).

En Europe, la besnoitiose est considérée depuis 2010 comme une maladie émergente par l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA, 2010).

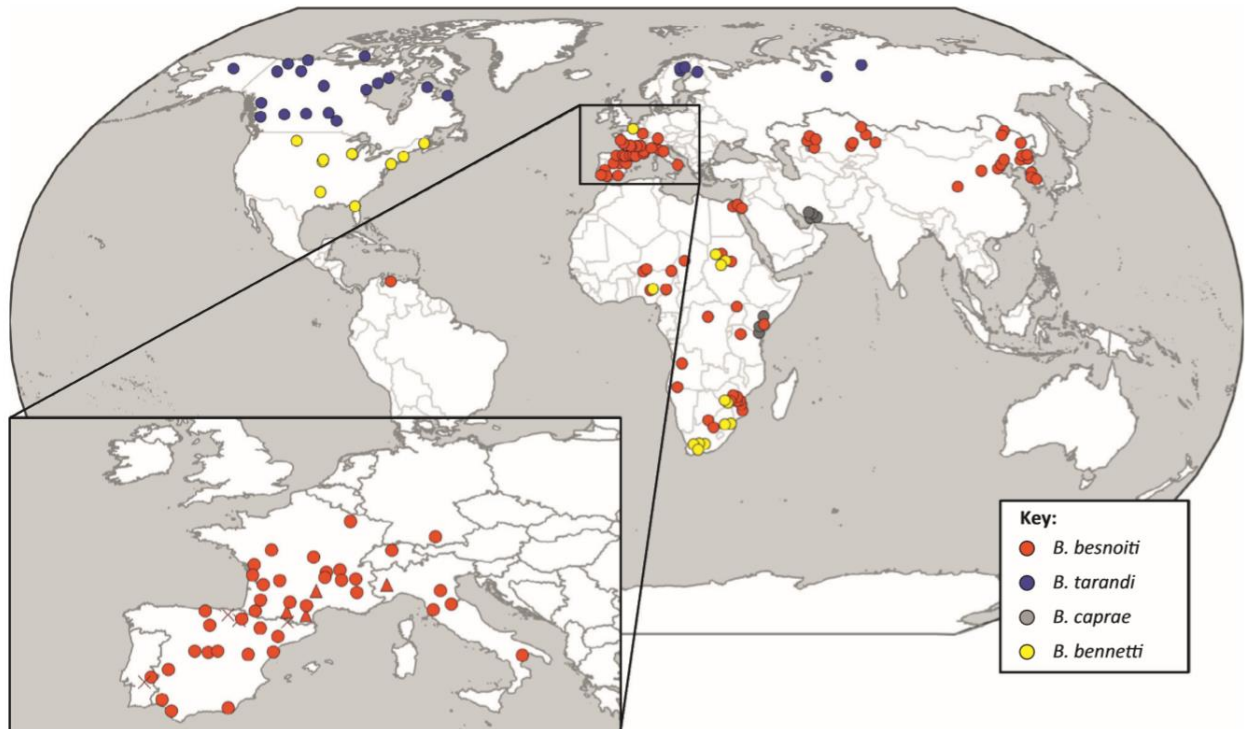
#### *En Europe*

En Europe, les foyers historiques de Besnoitiose correspondent aux zones du piémont pyrénéen ainsi qu'au sud du massif central en France, d'autres cas avaient également été rapportés au Portugal (Franco, Borges, 1916) et en Espagne (Irigoiien et al., 2000) mais l'importance accordée à cette maladie restait mineure (EFSA, 2010 ; Pols, 1960 ; Jacquiet et al., 2010).

Dans les années 1990, l'émergence de nouveaux cas en Espagne (Juste, 1990) et au Portugal (Cortes et al., 2003) ainsi que l'augmentation du nombre de cas cliniques en France (Alzieu et al., 2007) ont attiré l'attention des autorités européennes sur cette maladie.

La preuve de l'expansion de la maladie a été apportée par l'apparition de cas de besnoitiose en Italie (Gentile et al., 2010) et en Allemagne (Schaes et al., 2009) sur des bovins autochtones.

Plus récemment, d'autres pays ont déclaré des cas cliniques de la maladie : Suisse (Basso et al., 2013), Hongrie (Hornok et al., 2014), Belgique (Vanhoudt et al., 2015) et Irlande (Ryan et al., 2016).



Légende : *B. besnoiti* est représenté en rouge, croix : avant 1900, triangles : 1991-2000 et cercles : 2001-2012 (Álvarez-García et al., 2013).

Figure 1 : Cartes de la répartition mondiale et européenne de plusieurs espèces du genre *Besnoitia*.

### En France

En France, les pratiques de transhumance et d'estives collectives des Pyrénées ont probablement favorisé la diffusion locale de la besnoitiose entre les cheptels et favorisé l'enracinement enzootique de la maladie (Alzieu, 1991).

A partir de ce foyer historique et du sud du massif central, des cas sporadiques ont progressivement fait leur apparition vers le nord et l'est et de nouvelles zones d'épizootie sont apparues : Ardèche (Duboisset, 2013), Alpes (Freudiger, 2008). Les cas sporadiques sont restés cantonnés au sud d'une diagonale Nantes-Lyon (Jacquiet, Alzieu, 2009) jusqu'aux années 2010 : Creuse (Boubet, 2018), Rhône (Le Sobre, Pin, 2011), Maine et Loire (Genest, 2008)...

Mais depuis, l'extension de la maladie s'est poursuivie : Orne (Delafosse, 2011), Saône et Loire (Blerot et al., 2012), Vosges (Lorenza, 2017)...

Actuellement, il est difficile d'établir un état des lieux précis de la besnoitiose en France pour plusieurs raisons : ce n'est pas une maladie à déclaration obligatoire, Elle est très probablement sous-diagnostiquée car en expansion récente dans de nombreux départements, et enfin parce que les tests de dépistages ne sont pas réalisés en routine lors d'achats d'animaux ou des prophylaxies annuelles.

Cependant, avec la participation des Groupements de Défense Sanitaire (GDS), des Laboratoires Vétérinaires Départementaux (LVD) et des écoles vétérinaires de Nantes (Oniris) et de Toulouse (ENVT) et la synthèse des travaux de JP. Alzieu et de P. Jacquet, une carte a été réalisée afin de montrer l'extension de la besnoitiose en France depuis les années 1990 (Figure 2).

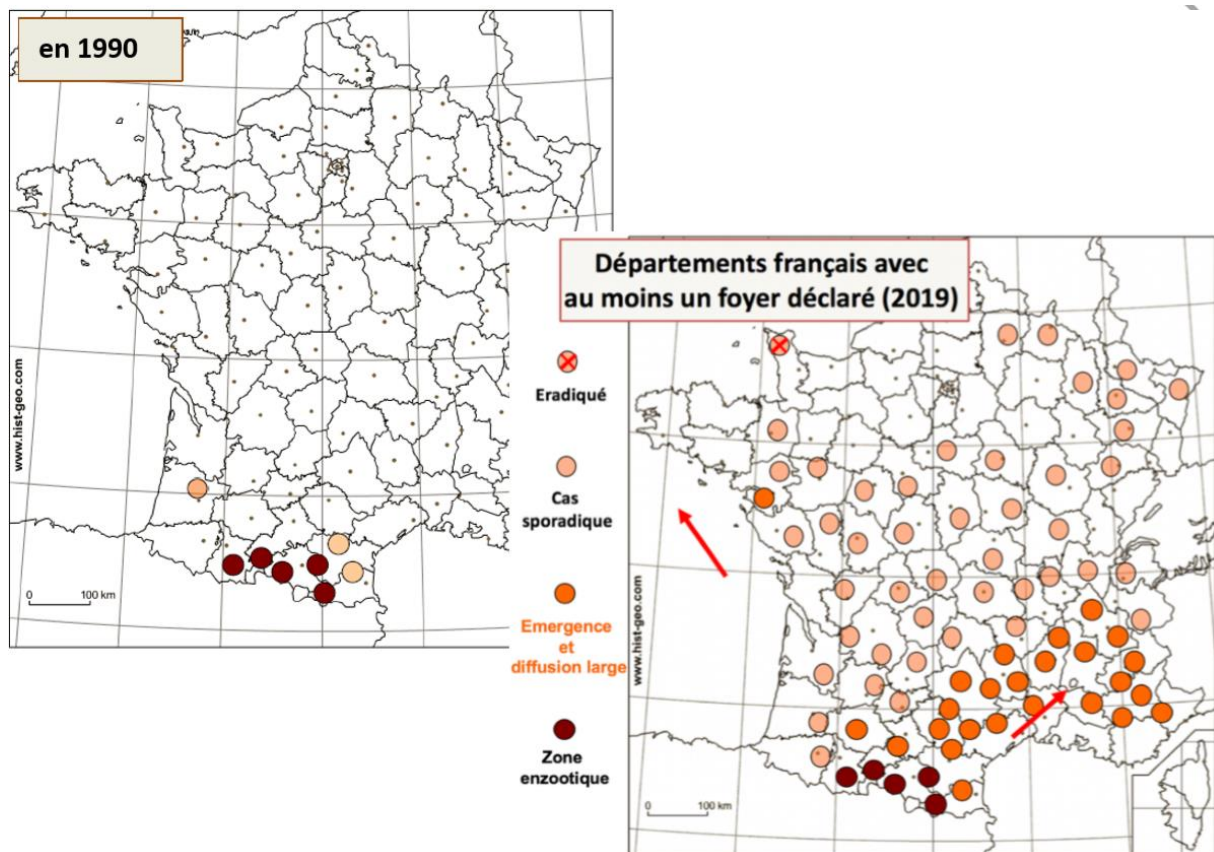


Figure 2 : Cartes montrant l'extension de la besnoitiose bovine en France depuis 1990 (Bottari, 2019).



## 1.2 Etiologie

### 1.2.1 Taxonomie

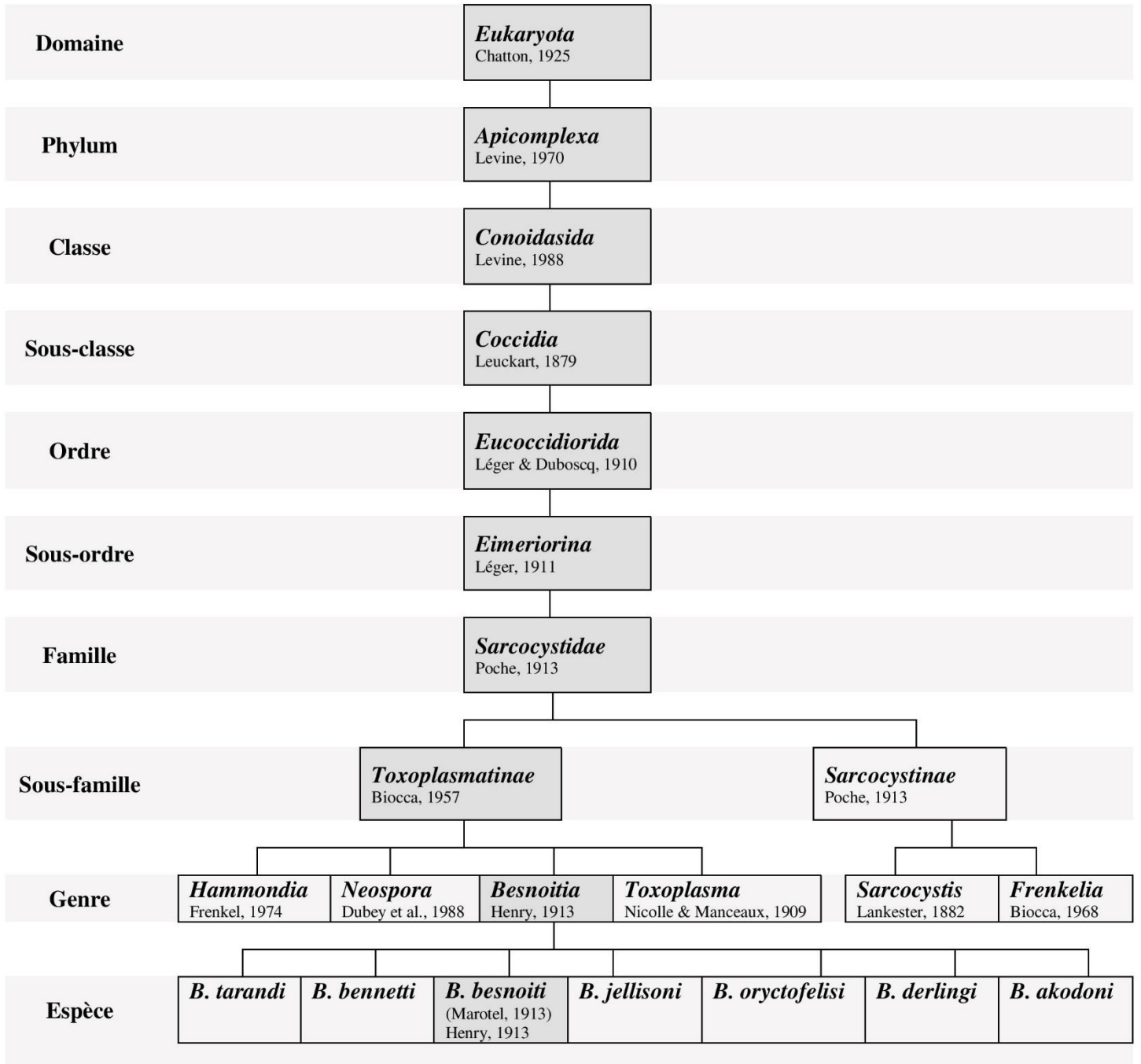


Figure 3 : Place de *B. besnoiti* dans la classification des eucaryotes (Lenfant, 2013).

*Besnoitia besnoiti* est un protozoaire parasite intracellulaire obligatoire. Il appartient au phylum des *Apicomplexa* et à la famille des *Sarcocystidae* car il a la capacité de former des kystes tissulaires chez son hôte.

En outre, on le range dans la sous-famille des *Toxoplasmatinae*. La proximité génétique avec les genres *Toxoplasma* et *Neospora* a par ailleurs largement contribué à une meilleure connaissance de la biologie du genre *Besnoitia* (Tenter et al., 2002). L'appartenance des parasites des genres *Neospora*, *Toxoplasma*, *Hammondia* et *Besnoitia* à un seul groupe monophylétique (Figure 4) a également été mis en évidence par l'analyse génétique de leurs séquences d'ARNr de la petite sous-unité ribosomale (Ellis et al., 2000), cependant les relations évolutives entre ces genres a été peu étudiée.

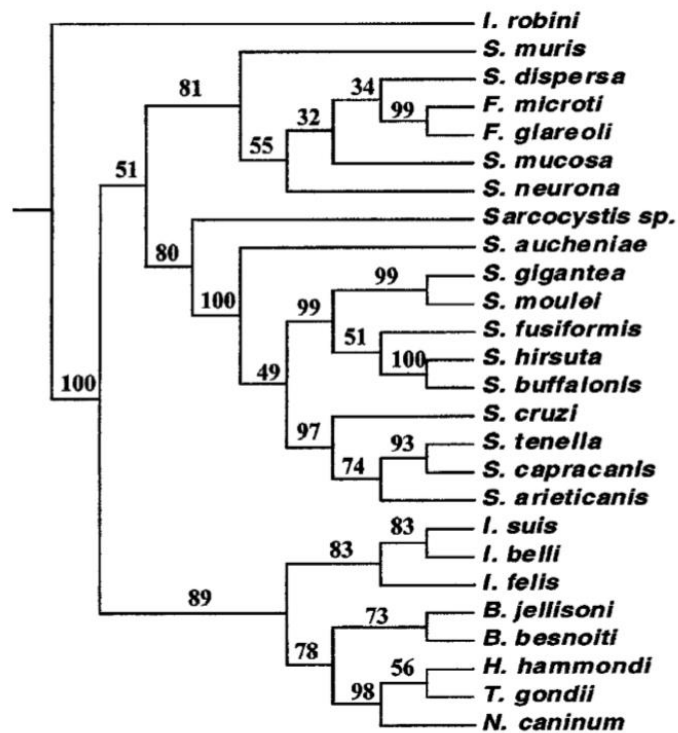


Figure 4 : Arbre phylogénétique de la famille des *Sarcocystidae* établi à partir des séquences d'ADNr de la petite sous-unité ribosomale (Ellis et al., 2000).

Au sein du genre *Besnoitia*, plusieurs espèces ont été décrites, tout d'abord chez des grands mammifères ongulés : *B. tarandi* (rennes), *B. bennetti* (équidés), *B. caprae* (caprins) et *B. besnoiti* (bovinés), puis chez des petits mammifères lagomorphes et marsupiaux ainsi que des lézards : *B. jellisoni*, *B. darlingi*, *B. wallacei*, *B. oryctofelisi*, *B. akodoni* et *B. neotomofelis* (Jacquet et al., 2010). La variabilité génétique du fragment ITS-1 (Figure 5) serait en faveur d'une dichotomie entre les espèces qui affectent les petits mammifères de celles qui affectent les ongulés (Olias et al., 2011).

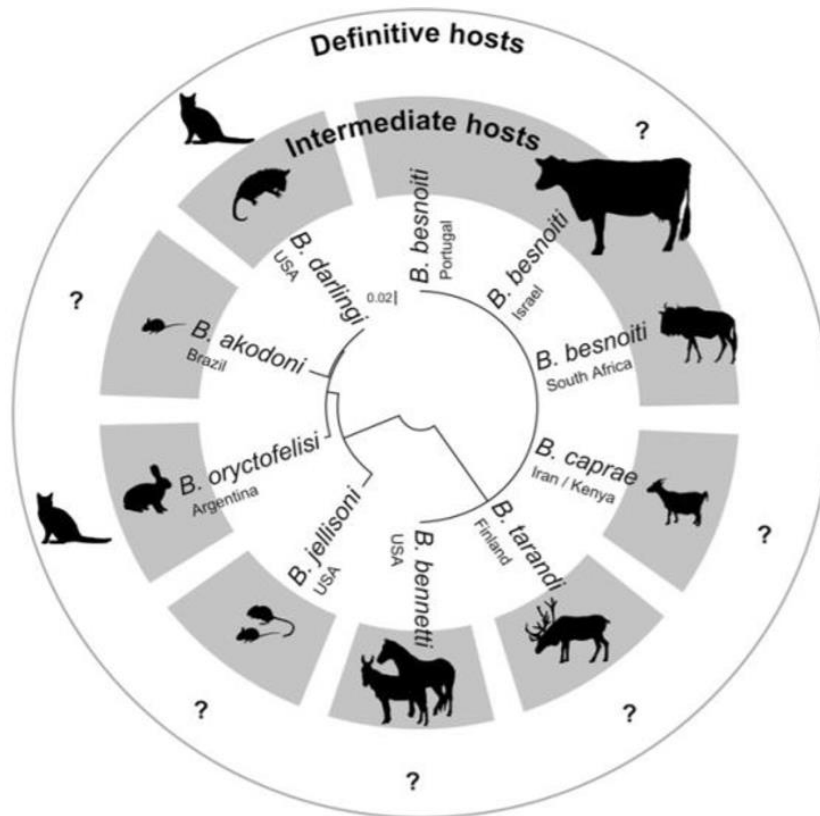


Figure 5 : Hôtes et arbre phylogénétique établi à partir des séquences d'ADN de la région ITS-1 des différentes espèces du genre *Besnoitia* (Olias et al., 2011).

### 1.2.2 Formes du parasite

Lorsqu'un bovin est infecté par *B. besnoiti*, ce protozoaire va d'abord être retrouvé sous une forme de prolifération appelée tachyzoïte puis sous une forme dite bradyzoïte.

#### *Tachyzoïtes*

Les tachyzoïtes ont la capacité de se multiplier de façon très importante et rapide dans les cellules endothéliales où ils forment des pseudo-kystes. Lorsque ces pseudo-kystes se rompent, les tachyzoïtes sont libérés dans le courant sanguin et dans la lymphe, ce qui leur permet de se diffuser dans tout l'organisme (Thomas, 2007). Ils prennent alors une forme de croissant qui mesure en général 6-8  $\mu\text{m}$  x 2,5  $\mu\text{m}$  (Pols, 1960). Cette forme est capable d'infecter de nouvelles cellules endothéliales ce qui explique pourquoi on peut retrouver des

pseudo-kystes dans les capillaires sanguins de nombreux organes : foie, rate, conjonctive oculaire, muqueuse nasale, peau, testicules (Florentin, 2016).

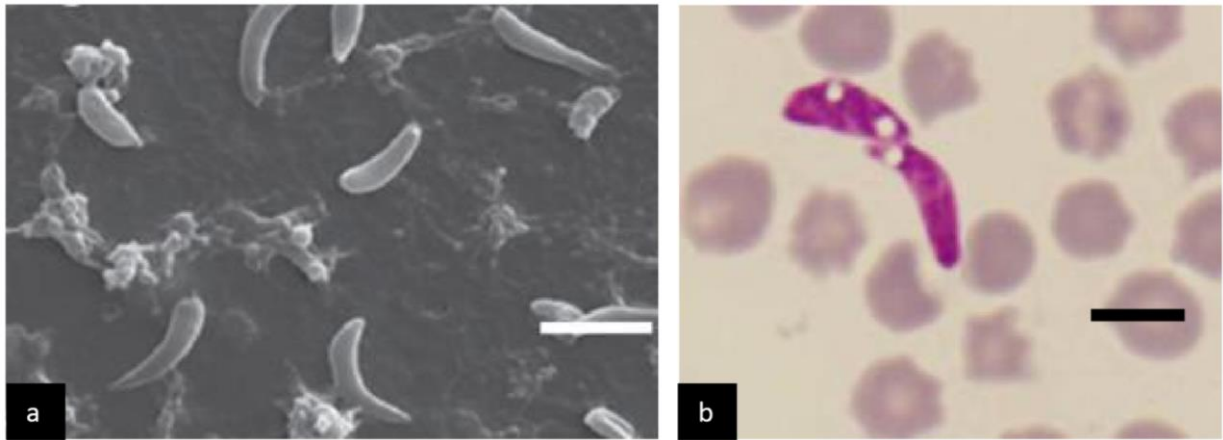


Figure 6 : a : Tachyzoïtes observés au microscope électronique à balayage, échelle : 12  $\mu\text{m}$  ; b : Tachyzoïtes libres dans le sang, échelle : 7  $\mu\text{m}$  (Lenfant, 2013).

### *Bradyzoïtes*

Il existe peu de différences morphologiques entre les tachyzoïtes et les bradyzoïtes qui ont également une forme de croissant et qui mesurent environ 6-7,5  $\mu\text{m}$  x 1,9-2,3  $\mu\text{m}$  (Dubey et al., 2003). Mais les différences résident principalement dans le fait que les bradyzoïtes ne constituent pas des formes prolifératives et qu'ils sont retrouvés uniquement à l'intérieur de kystes caractéristiques de l'infection chronique de l'hôte.

Les kystes ont une paroi épaisse composée de 3 couches : une zone hyaline due à la réaction inflammatoire de l'hôte (capsule), le cytoplasme de la cellule parasitée et une vacuole parasitophore qui renferme plusieurs dizaines de milliers de bradyzoïtes. Leurs tailles varient de 1 à 3 mm, ils sont donc visibles à l'œil nu et peuvent persister chez les bovins pendant 10 ans (Alzieu, Jacquiet, 2011).

Ces kystes sont surtout retrouvés dans les fibroblastes et les histiocytes (Alzieu, Cortes, et al., 2007), c'est pourquoi on les retrouve en abondance dans les tissus riches en ces types de cellules : tissus intermusculaires, sclère oculaire, tubes séminifères, muqueuses, tissus conjonctifs, derme, rate, foie et poumons (Alzieu, Jacquiet, 2011).

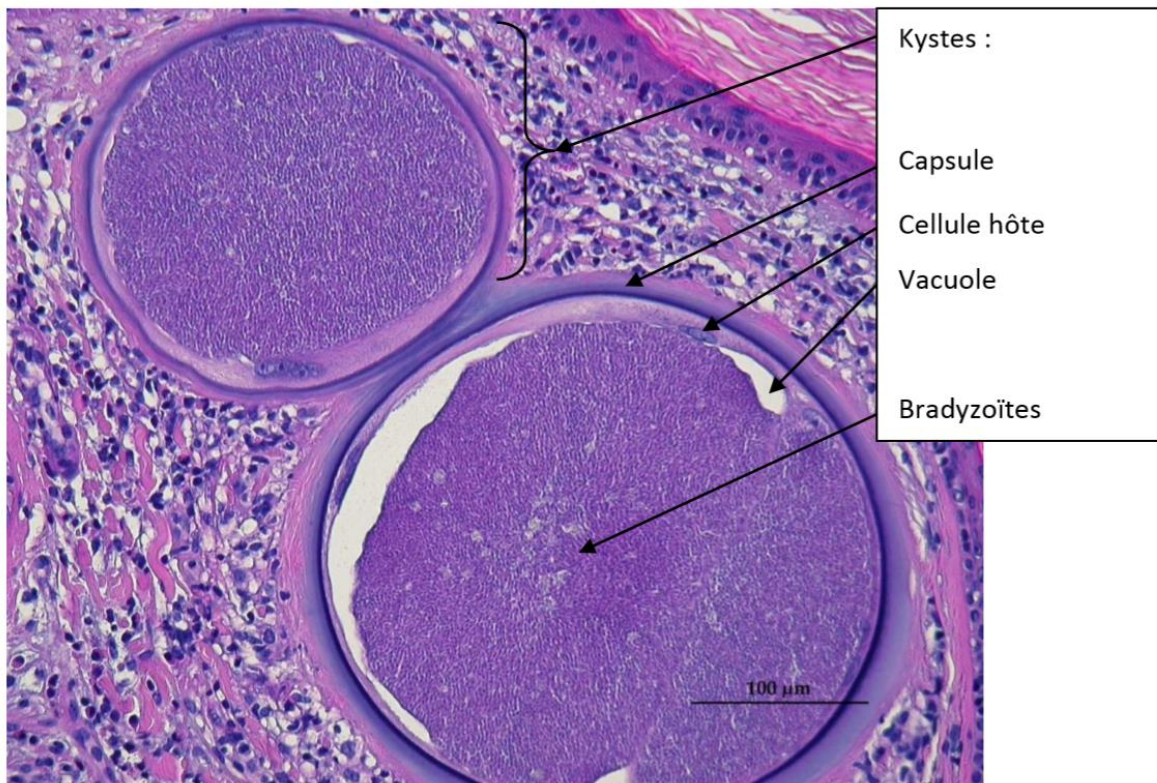


Figure 7 : Kystes à bradyzoïtes chez une vache atteinte de besnoitiose en microscopie optique x200, coloration Hémalun-Eosine (Duboisset, 2013).

### *Ookystes*

Les ookystes sont les produits de la reproduction sexuée (gamogonie) du parasite, ils sont infectants pour l'hôte intermédiaire une fois qu'ils ont subi une phase de sporulation dans le milieu extérieur. Les ookystes de *B. besnoiti* n'ont été décrits qu'une seule fois, par Peteshev en 1974, dans des matières fécales de chats domestiques. Cependant, cela n'a pas été confirmé par des études plus récentes (Diesing et al., 1988 ; Basso et al., 2011), ces dernières n'ont pas démontré que le chat était l'hôte définitif de *B. besnoiti*.

En revanche, les ookystes d'autres espèces du genre *Besnoitia* ont été décrits, ils sont tous bisporulés et tétrazoïques, assez semblables aux ookystes de *Toxoplasma gondii*. Pour *B. wallacei*, la période prépatente chez le chat dure entre 11 et 24 jours et les ookystes sont émis dans ses matières fécales pendant 5 à 12 jours. Avant sporulation, ils sont presque sphériques et mesurent  $17 \mu\text{m} \times 12 \mu\text{m}$ , après sporulation, l'ookyste prend une forme plus elliptique, il contient deux sporocystes contenant chacun quatre sporozoïtes (Thomas, 2007).

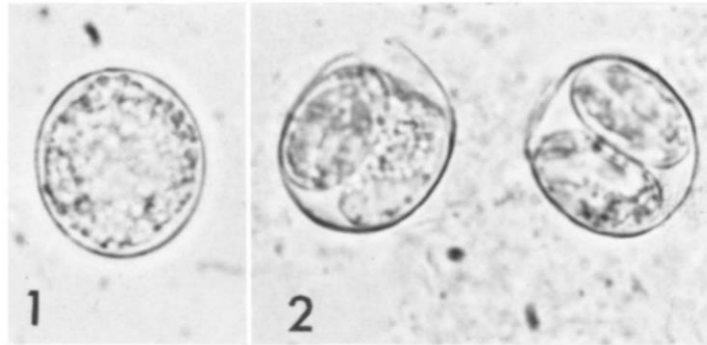


Figure 8 : Ookystes de *Besnoitia wallacei* vus au microscope, 1 : non sporulé, 2 : sporulés (Frenkel, 1977).

### 1.2.3 Biologie

#### *Cycle biologique*

Les parasites de la famille des *Sarcocystidae* ont un cycle biologique hétéroxène (Figure 9). Le cycle est composé d'une phase de multiplication asexuée chez l'hôte intermédiaire et d'une phase de reproduction sexuée dans le tube digestif de l'hôte définitif. L'hôte intermédiaire s'infecte en ingérant des végétaux souillés par les matières fécales de l'hôte définitif qui est lui-même infecté par la consommation d'un hôte intermédiaire contaminé.

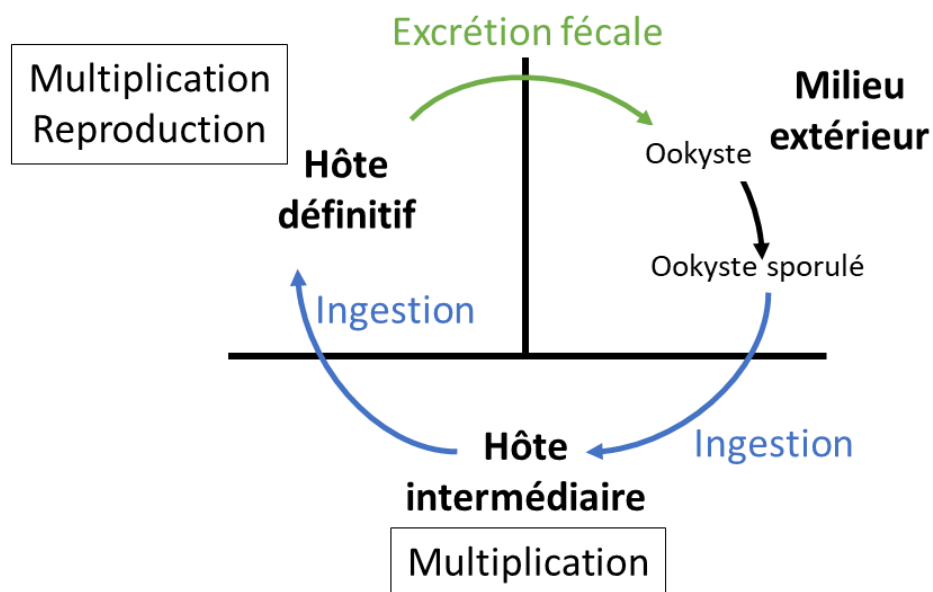


Figure 9 : Schéma général du cycle biologique de la famille des *Sarcocystidae* (Votýpka et al., 2017 ; Tenter et al., 2002).



L'intégralité de ce cycle a été observée pour certaines espèces du genre *Besnoitia* comme *B. darlingi*, *B. wallacei*, *B. oryctofelisi* et *B. neotomofelis*, avec le chat domestique pour hôte définitif (Basso et al., 2011) mais pour *B. besnoiti*, l'hôte définitif demeure inconnu. Actuellement, ce cycle n'est pas pris en compte du point de vue épidémio-clinique car il existe un autre cycle de transmission du parasite qui est largement dominant (Figure 10).

La transmission du parasite se fait principalement par l'existence d'une passerelle secondaire appelée « cycle monoxène » avec une contamination directe entre hôtes intermédiaires, sans passage par l'hôte définitif. Ce cycle ne permet donc pas la reproduction sexuée du parasite mais seulement sa multiplication chez son hôte intermédiaire. En effet, un bovin infecté, qui présente des tachyzoïtes dans son sang ou des kystes à bradyzoïtes peut contaminer un bovin sain (Diesing et al., 1988) par des modalités qui seront exposées dans le paragraphe intitulé « transmission ».

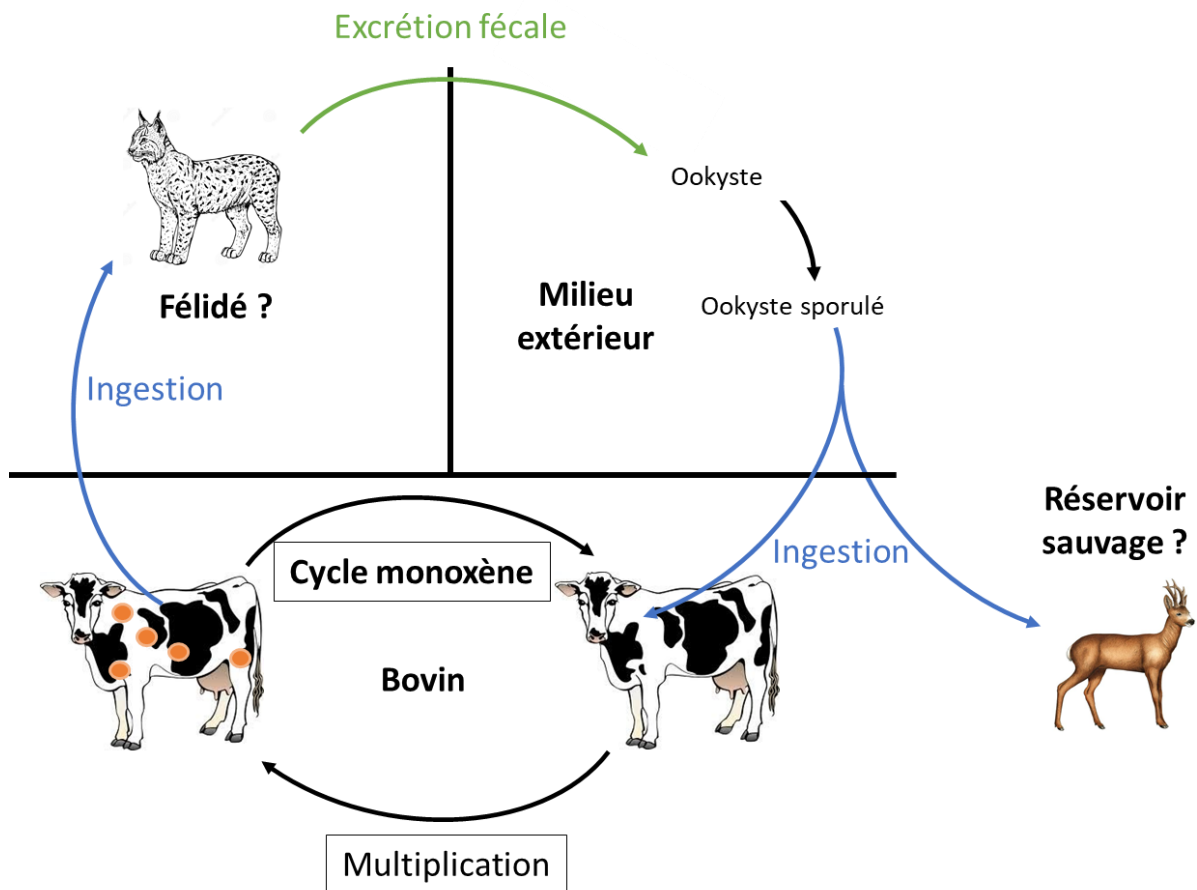


Figure 10 : Schéma général des cycles biologiques de *B. besnoiti* (d'après Alzieu et al., 2011 ; Gutiérrez-Expósito et al., 2016).

## Hôtes

Comme dit dans le paragraphe précédent, l'hôte définitif de *B. besnoiti* est inconnu, mais biologiquement, on peut en déduire qu'il s'agit d'un carnivore, possiblement un mammifère de la famille des Félidés, par analogie avec les autres espèces du genre *Besnoitia*.

De nombreux travaux ont cherché à identifier cet hôte définitif : chien et chat domestiques (Basso et al., 2011 ; Diesing et al., 1988), chat sauvage, genette, mangouste, lion, léopard, panthère, chacal, caracal, vipères, couleuvres et vautour (Diesing et al., 1988), loup, renard, martre, blaireau, loutre, lynx (Millán et al., 2012) mais sans succès. Il est possible que cet hôte définitif soit une espèce éteinte aujourd'hui ou non présente dans les zones où il a été recherché.

Dans cette partie on s'intéressera donc principalement aux hôtes intermédiaires. Les hôtes naturels de *B. besnoiti* sont des grands mammifères comme les bovins domestiques : vaches, yacks et zébus, les antilopes sont également sensibles au parasite bien que l'expression clinique soit différente de celle des bovins (Basson, 1965 ; McCully et al., 1966). Parmi la faune sauvage des régions tempérées, la présence de kystes a été observée chez le Chevreuil (Arnal et al., 2017) et il a été prouvé que des Cerfs Elaphes et des Chevreuils avaient été en contact avec le parasite par la présence d'anticorps dans leur sang. Cependant, même si le portage du parasite semble possible par la faune sauvage, il semble que les cas sporadiques décrits soient observés avec des zones où la séroprévalence chez les bovins est élevée (Gutiérrez-Expósito et al., 2016). Donc il semblerait que l'existence d'un véritable réservoir sauvage soit peu probable et que la transmission se fasse plutôt des bovins vers la faune sauvage.

Le parasite *B. caprae*, décrit chez la chèvre, a d'abord été considéré comme une espèce différente de *B. besnoiti* mais des travaux plus récents ont remis en doute son statut d'espèce à part entière sur des critères morphologiques et génétiques. Actuellement, il n'y a pas de consensus sur la question (Olias et al., 2011).

Les hôtes expérimentaux du parasite sont des hôtes dont l'infection par le parasite n'a été observée qu'à la suite d'une inoculation expérimentale, ce sont des petits mammifères : lapins, gerbilles, souris, campagnols, cobayes et hamsters (Bigalke, 1968 ; Pols, 1960). Ils



permettent d'étudier surtout l'infection en phase aigüe car ils expriment des signes cliniques bien différents de ceux des bovins. Seuls les lapins expriment trois phases cliniques de la maladie comme les bovins et développent des lésions similaires mais atténuées (Liénard et al., 2015). Les ovins sont également sensibles à l'infection expérimentale.

Il semblerait que l'homme ne puisse pas être hôte de *B. besnoiti*, en effet, aucun cas n'a été observé chez les éleveurs de bovins infectés, la besnoitiose n'est donc pas une zoonose (Alzieu, Jacquet, 2011). Par conséquent, on considère que la viande bovine infectée par *B. besnoiti* n'est pas une source de contamination pour l'homme. Ainsi, la présence de kystes de besnoitiose n'est pas un motif direct de saisie de viande ou de carcasse à l'abattoir, cependant, il peut y avoir des saisies partielles (parages) pour des motifs dus à l'infection de façon secondaire (fibroses) qui altère les qualités organoleptiques de la viande (Jacquet, Alzieu, 2011).

### *Transmission*

Dans cette partie et pour la suite de ce travail, nous nous intéresserons uniquement à la transmission du parasite lors du cycle monoxène.

Des voies de contamination directes ont été envisagées comme la transmission *in utero* (Franc, Cadiergues, 1999) car des kystes ont été retrouvés dans l'endomètre utérin de vaches malades et parce que les veaux nés de mères infectées ont des anticorps contre *B. besnoiti* dans leur sang. Cependant l'absence de détection du parasite chez ces veaux et la disparition de ces anticorps vers l'âge de 4-5 mois sont en faveur d'un transfert d'immunité passif via le colostrum de la mère et non d'une infection verticale *in utero* (Liénard et al., 2013).

Même si des kystes parasitaires sont souvent observés dans les testicules des mâles, il n'a pas été possible de détecter l'ADN du parasite dans le sperme de taureaux infectés symptomatiques ou non (Esteban-Gil et al., 2014) cependant une contamination vénérienne n'est pas totalement exclue car la présence de kystes sur la muqueuse vaginale des femelles est fréquente, rendant la contamination par le coït possible bien qu'hypothétique et non démontrée formellement (Alzieu, Jacquet, 2011 ; Gazzonis et al., 2017).

Il est donc admis que la transmission du parasite d'un bovin infecté à un bovin sain se fasse par l'intermédiaire d'insectes piqueurs, on parle alors de transmission vectorielle.

Lorsqu'ils se nourrissent de sang sur un bovin infecté, ces insectes prélèvent des bradyzoïtes venant de kystes cutanés ou des tachyzoïtes circulants dans le sang. A la suite d'un repas interrompu, ils peuvent ensuite contaminer un bovin sain en lui inoculant ces parasites lorsqu'ils cherchent à compléter leur repas de sang (Bigalke, 1960 ; Álvarez-García et al., 2013). Ni évolution ni multiplication du parasite chez le vecteur ne sont observées (Sharif et al., 2017), on parle alors de transmission vectorielle mécanique.

En Europe, les insectes capables de transmettre ce parasite sont les mouches d'étables *Stomoxys calcitrans* ou les Tabanidés (Alzieu, 1991). Les taons semblent plus efficaces dans la transmission du parasite car leurs pièces buccales retiennent plus de sang (12,5 nL) que les stomoxes (0,4 nL) et offrent donc plus de possibilité de transporter des éléments infectants d'un bovin infecté à un bovin sain (Liénard et al., 2013). Toutefois, les stomoxes sont beaucoup plus abondants que les Tabanidés, les mâles et les femelles sont hématophages et ils sont actifs à l'extérieur comme à l'intérieur des bâtiments (Alzieu, Cortes, et al., 2007 ; Jacquiet et al., 2010). Des études anciennes estimaient entre 52 000 et 292 500 le nombre de piqûres de stomoxes nécessaires à la transmission du parasite (Bigalke, 1968), mais une étude récente a montré que seulement 300 stomoxes pouvaient être à l'origine d'une contamination d'un lapin receveur à partir d'un bovin en phase de sclérodémie avancée (Sharif et al., 2019). Ce nombre peut parfaitement correspondre à une situation naturelle, et justifie l'attention qui doit être accordée aux stomoxes dans la transmission de *B. besnoiti* chez les bovins.

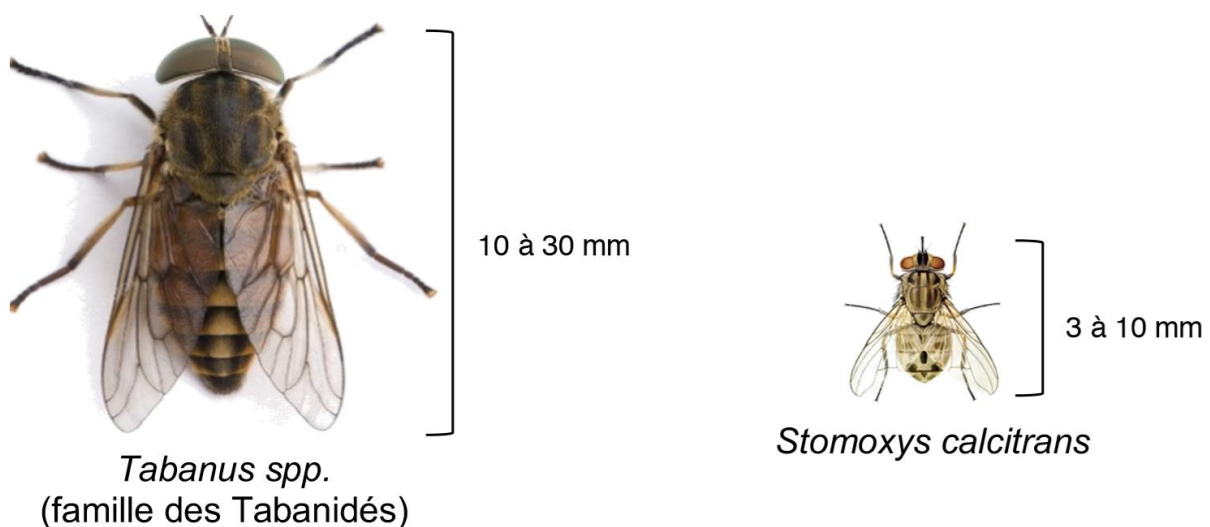


Figure 11 : Les deux principaux vecteurs de *Besnoitia besnoiti* : un Tabanidé et *Stomoxys calcitrans* (Bottari, 2019).

La mouche Tsé-tsé (*Glossina spp.*) est également capable de transmettre le parasite. Les moustiques (*Culex spp.* et *Aedes spp.*) sont capables de récupérer des parasites en se nourrissant sur un bovin infecté mais leur inoculation à un bovin sain n'a encore jamais été démontrée (Bigalke, 1968).

La découverte de tachyzoïtes dans les sécrétions lacrymales des bovins infectés (Cortes et al., 2005) a laissé supposer que des mouches non piqueuses (*Musca autumnalis* et *Musca domestica*) pouvaient transmettre le parasite mais cela n'a jamais été démontré (Bigalke, 1968 ; Álvarez-García et al., 2013).

La transmission peut également se faire de manière iatrogène chez les lapins, par l'intermédiaire d'une seringue souillée (Pols, 1960). L'utilisation multiple d'une aiguille souillée dans le cadre de la prophylaxie annuelle bovine ou d'une séance de vaccination pourrait donc être à l'origine de nouvelles contaminations (Alzieu, Dorchies, et al., 2007).

## 1.3 Epidémiologie

L'épidémiologie de la besnoitiose dépend de sa transmission vectorielle par des insectes, il est donc nécessaire de considérer des caractéristiques qui sont propres aux vecteurs. Du point de vue de l'hôte, il est primordial de différencier la réceptivité des bovins de l'expression clinique de la maladie.

### 1.3.1 Epidémiologie descriptive

#### *Age*

Historiquement, les cas cliniques de besnoitiose concernent surtout les bovins adultes. Mais des formes cliniques ont été observées chez de jeunes veaux de 2-4 mois, ce qui tend à montrer que le jeune âge n'est pas un obstacle à l'expression clinique de l'infection à *B. besnoiti* bien que les formes cliniques sur des animaux aussi jeunes restent rares (Alzieu, Jacquet, 2011 ; Alzieu et al., 2016 ; Diezma-Díaz et al., 2017).

Une étude dans les Alpes, a montré que la majorité des bovins porteurs de kystes étaient des bovins adultes entre 2 et 6 ans (Freudiger, 2008), la même tendance a été mise en évidence en Corée sur les bovins entre 5 et 8 ans (Lee et al., 1970).

Une étude a mis en évidence la présence d'anticorps, qui sont des marqueurs de l'infection par *B. besnoiti*, dans le sérum de veaux de moins de 6 mois issus de mères séronégatives (absence de transfert d'anticorps par le colostrum) montrant ainsi que l'infection des veaux est possible et qu'elle n'entraîne pas toujours une forme clinique de la maladie (Esteban-Gil et al., 2017).

La séroprévalence augmente avec l'âge des animaux, ce qui est concordant avec le fait que les animaux âgés ont été exposés plus longtemps au parasite (Fernandez-Garcia et al., 2010 ; Frey et al., 2013 ; Janitschke et al., 1984).

## *Sexe*

Aucune différence de réceptivité n'a été observée entre les mâles et les femelles, la prévalence de l'infection est proportionnelle à l'effectif relatif dans les élevages (Legrand, 2003). Mais le sérum des bovins mâles aurait un titrage en anticorps plus élevé que celui des femelles (Goldman, Pipano, 1983). Ce qui pourrait être expliqué par leur sensibilité plus élevée à la maladie. En effet, ils présenteraient de manière plus fréquente des signes cliniques de la maladie, avec une intensité accrue et un taux de mortalité plus élevé que pour les femelles (Jacquiet et al., 2010).

## *Race*

Il n'y a pas de prédisposition raciale des bovins à la besnoitiose, aucune différence de réceptivité ou de sensibilité n'a été mise en évidence entre les races et la maladie a été observée aussi bien en cheptel laitier qu'allaitant (Franc, Cadiergues, 1999 ; Alzieu, Jacquiet, 2011).

## *Mode d'élevage*

Il n'y a pas de différence de réceptivité entre les races mais on observe des différences épidémiologiques entre les cheptels laitiers et allaitants atteints de besnoitiose qui sont à relier au mode et aux pratiques d'élevage.

Dans les élevages allaitants, il faut distinguer dans un premier temps les élevages pratiquant une transhumance avec estive collective en montagne pendant la belle saison. Le mélange de cheptels de statuts sanitaires variés et l'augmentation du nombre de têtes du troupeau augmente la probabilité de transmission du parasite (Alzieu, Dorchies, et al., 2007). Ce mode d'élevage a certainement favorisé le caractère enzootique de la besnoitiose dans les vallées Pyrénéennes (Álvarez-García, Fernández-García, et al., 2014).

Il faut ensuite distinguer les élevage allaitants sédentaires où les cas cliniques sont moins nombreux que dans les élevages précédents (Legrand, 2003).

Enfin, les élevages laitiers, avec une conduite en bâtiment très fréquente et peu de périodes de pâture semblent moins affectés que les élevages précédents. Par ailleurs, le taux de renouvellement dans ces élevages étant généralement plus élevé que dans les élevages allaitants, on y retrouve moins de bovins âgés qui sont plus sujets à être porteurs chroniques de kystes ce qui explique peut-être l'allure épizootique de la besnoitiose dans les élevages laitiers infectés. (Legrand, 2003 ; Alzieu, Jacquiet, 2009).

### *Compétence du système immunitaire*

Lorsqu'un bovin est infecté par *B. besnoiti*, son organisme lutte contre le parasite par une réponse cellulaire dans un premier temps puis également par l'intermédiaire d'une immunité humorale.

Dans des élevages où le virus de la BVD (Bovine Viral Diarrhea, principal virus immunosuppresseur bovin) était très présent, des successions de cas cliniques de besnoitiose ont été décrits et avec des effets délétères graves (Alzieu et al., 2016).

Les vaches en post-partum sont plus à risque de développer une forme clinique de besnoitiose si elles sont infectées pendant la période de baisse physiologique de l'immunité après vêlage (Alzieu et al., 2016).

### *Prévalence*

On observe que les cas cliniques de besnoitiose n'apparaissent pas avec la même fréquence selon la situation épidémiologique d'une zone donnée : il semblerait qu'en zone enzootique (zone où la prévalence est forte) les cas cliniques soient rares alors qu'ils sont plus fréquents en zone d'émergence de la maladie (zone où la prévalence est faible), proportionnellement au nombre de nouvelles contaminations.

En zone d'enzootie, la maladie est présente depuis de nombreuses années, il apparaît que les cas cliniques restent rares, seulement 1 à 10% des nouvelles infections (Jacquiet et al., 2010), et qu'ils concernent principalement les jeunes adultes entre 2 et 4 ans (Legrand, 2003 ;

Liénard et al., 2011). Dans ces zones, la maladie s'accompagne d'une séroprévalence très élevée avec des taux supérieurs à 50-60% : Espagne 87,3% (Gutiérrez-Expósito et al., 2014), Afrique du sud 50% (Janitschke et al., 1984), Israël 56,3% (Neuman, 1972).

En zone d'émergence, après mise en évidence de la maladie à la suite d'un premier cas clinique confirmé, les cas cliniques sont plus nombreux qu'en zone d'enzootie : 15 à 20% des nouveaux animaux contaminés (Jacquiet et al., 2010). La séroprévalence augmente de manière rapide jusqu'à atteindre 50-60% en seulement 2-3 ans. Cela a donné l'espoir à certains éleveurs de voir s'installer un équilibre semblable à celui des zones d'enzootie mais, hélas, on a plutôt observé un report des cas cliniques sur des animaux jeunes autour du sevrage vers 6-7 mois (Alzieu et al., 2016).

### 1.3.2 Epidémiologie analytique

Les paragraphes suivants aborderont les éléments épidémiologiques de la besnoitiose qui se basent sur les caractéristiques biologiques des vecteurs du parasite. La majorité des expérimentations réalisées ont utilisé des stomoxes et très peu d'études ont été réalisées avec les Tabanidés car ceux-ci sont beaucoup plus difficiles à élever, cela nous prive certainement de nombreux éléments qui pourraient nous aider à mieux comprendre la transmission de *Besnoitia besnoiti*.

#### *Saisonnalité*

Historiquement, les cas cliniques de besnoitiose ont surtout été rapportés lors de la période estivale entre juin et septembre avec un maximum d'incidence en août (Ferrié, 1984 ; Alzieu, Jacquiet, 2009) ce qui est directement lié avec la période d'activité maximale des vecteurs (Frey et al., 2013) et en particulier à la présence de taons (Alzieu, Cortes, et al., 2007). L'augmentation de la température est également favorable à la survie des œufs, au développement des larves et à la fécondité des stomoxes (Legrand, 2003).

Cependant, la saisonnalité semble de plus en plus étendue depuis 2007 (Alzieu, Jacquet, 2009) avec des cas rapportés de mars à octobre dans les Alpes (Freudiger, 2008), des séroconversions sont également observées toute l'année (Fouquet, 2009) avec un second pic au printemps avant la mise à l'herbe des animaux (Liénard et al., 2011). Cela s'explique par la persistance de l'activité des stomoxes dans les bâtiments d'élevage pendant la saison hivernale qui est également favorisée par la douceur des derniers hivers (Jacquet et al., 2014 ; Alzieu et al., 2016).

### *Comportement trophique des vecteurs*

Dans ce paragraphe, nous allons aborder le comportement des insectes hématophages lorsque ceux-ci se nourrissent sur les bovins.

Les stomoxes passent la majeure partie du temps sur les murs, les barrières, les tôles des bâtiments ou sur la végétation et ne vont sur les bovins que pour se nourrir. Il a été observé que les stomoxes piquent les bovins sur les zones basses du corps et surtout sur les parties inférieures des membres thoraciques. La peau de ces zones est plus fine et les vaisseaux sanguins qui la parcourent sont plus superficiels ce qui facilite le repas de sang des stomoxes. Les repas des stomoxes sont peu volumineux : 10-15  $\mu\text{L}$  en moyenne et durent entre 2 et 3 minutes (Salem et al., 2012).





Figure 12 : Photographie de stomoxes se nourrissant au niveau du pâturon d'un bovin (photographie : P. Jacquet).

On a observé un comportement similaire chez les Tabanidés, leurs piqûres sont surtout réparties sur les zones où la peau est fine et où les poils sont courts ce qui correspond aux membres et au ventre des bovins (Phelps, Holloway, 1990). Leurs repas sont souvent plus volumineux : 20 à 600  $\mu\text{L}$  et durent environ 3 minutes (Hollander, Wright, 1980).

Or, les zones où ont lieu les piqûres de ces insectes, sont des zones qui sont très riches en kystes à bradyzoïtes chez les bovins contaminés et présentant les signes cliniques de la maladie (Alzieu, Jacquet, 2009), cette conjonction pourrait favoriser la transmission du parasite.

#### *Persistence du parasite chez les vecteurs*

Les pièces buccales des insectes hématophages se souillent en parasites lorsqu'ils se nourrissent sur un bovin infecté. Il a été montré que le parasite ne se multiplie pas au sein des stomoxes (Liénard et al., 2013), les insectes agissent donc simplement comme un vecteur mécanique du parasite. Cependant, les insectes ne sont pas favorables à la survie des parasites, il est intéressant d'estimer la durée de vie des parasites chez les vecteurs pour connaître la période pendant laquelle les insectes sont capables d'infecter de nouveaux bovins.

Une étude s'est intéressée à la persistance du parasite chez les stomoxes après un repas de sang sur un bovin infecté, elle a montré que le parasite persistait très peu de temps sur les pièces buccales comme suggéré par Bigalke (1968) mais que celui-ci était encore présent une heure après la piqûre dans l'abdomen des stomoxes (Liénard et al., 2013). Une seconde étude a montré que les stomoxes étaient capables de transmettre des parasites 48h après leur dernier repas sur un bovin infecté, même si le nombre de parasites transmis est bien plus faible que lorsqu'il y a interruption et complétion immédiate du repas sanguin (Sharif et al., 2017).

### *Notion de repas interrompu*

La courte durée de vie des parasites chez les vecteurs laisse supposer que le risque de transmission est augmenté lorsqu'un insecte pique un bovin sain immédiatement après avoir piqué un bovin infecté.

Les piqûres infligées par les taons sont très douloureuses et celles des stomoxes le sont un peu moins car ils ont des pièces buccales moins vulnérantes mais, dans la majorité des cas, les piqûres de ces insectes provoquent des réactions de défense des bovins. Les bovins chassent les mouches par l'intermédiaires de coups de queue, en balançant leur tête contre leur flanc ou encore par tressaillement de leurs muscles peauciers. Ces mécanismes de défense ont pour conséquence d'interrompre le repas des insectes et de provoquer leur envol. Une étude a montré que la plupart des stomoxes quittaient le bovin sur lequel ils étaient en train de se nourrir avant la fin de leur repas : en moyenne dans 24% des cas après 59 secondes de repas à cause des réactions de défense du bovin et dans 44% des cas après 71 secondes à cause de la concurrence des autres stomoxes, alors que la durée d'un repas complet était en moyenne de 147 secondes dans cette étude (Schofield, Torr, 2002).

Les insectes cherchent très rapidement à compléter leur repas de sang après interruption, une étude sur les taons a montré qu'ils cherchent à compléter leur repas à proximité immédiate du bovin qui les a chassés. Le rayon dans lequel ils cherchent à compléter leur repas peut s'étendre jusqu'à 25 mètres mais en général il n'excède pas 10 mètres et le plus souvent il est même de moins de 5 mètres (Barros, Foil, 2007). Cela montre que la proximité entre les bovins contaminés et les bovins sains est nécessaire à la transmission du parasite par les vecteurs.

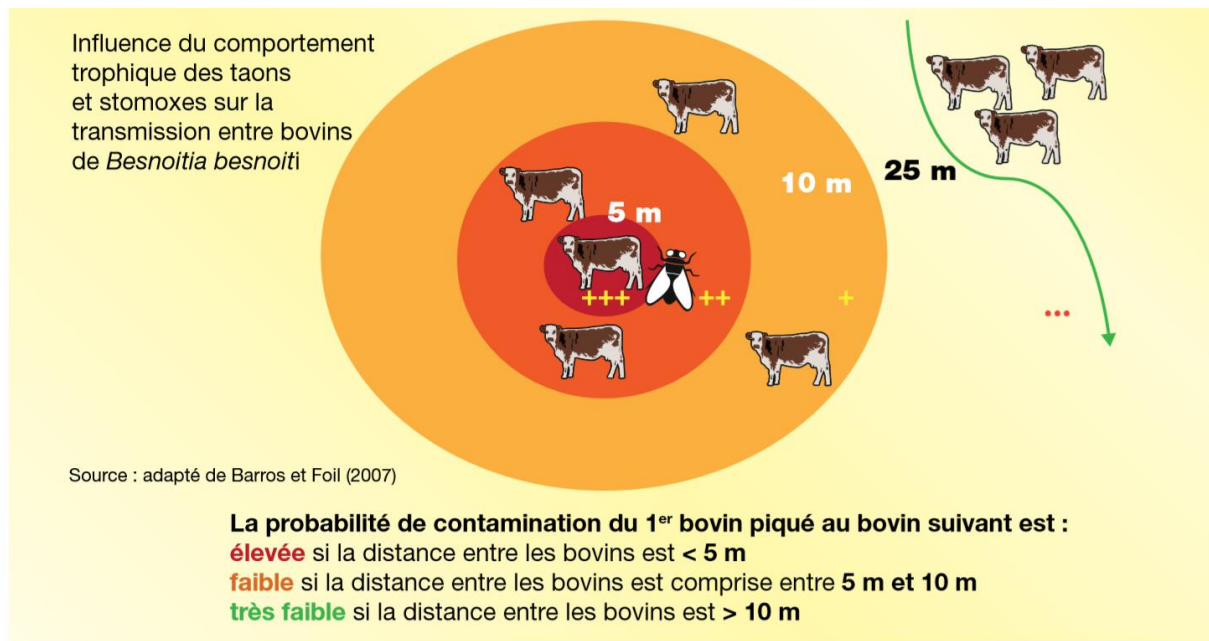


Figure 13 : Schéma montrant l'influence du comportement trophique des vecteurs sur la probabilité de transmission de *B. besnoiti* entre bovins (Alzieu et al., 2016).

L'interruption du repas sanguin a été reproduite expérimentalement sur des stomoxes, puis ils ont été mis en contact immédiatement avec une membrane artificielle qui les séparait de sang non infecté pendant une heure. Après cela, un grand nombre de parasites a été observé dans le sang initialement sain ce qui montre l'efficacité des stomoxes dans la transmission du parasite lors d'un repas interrompu (Sharif et al., 2017).

### *Notion d'individu « fort contaminateur »*

L'idée que tous les individus infectés ne possèdent pas le même potentiel de transmission du parasite aux autres bovins avait déjà été émise par Bigalke (1968). Ce risque serait finalement proportionnel au nombre de kystes parasitaires dans la peau des bovins infectés (Alzieu, Jacquiet, 2011). Parmi les bovins infectés, il faut donc distinguer les bovins dont la peau est fortement contaminée en kystes car ces bovins sont plus fortement susceptibles d'être à l'origine de nouvelles contaminations par transmission via les insectes piqueurs. On appelle ces bovins « forts contamineurs » ou en anglais « super spreader », ils constituent en quelque sorte un réservoir riche en parasites. Leur réforme au sein d'un troupeau doit être prioritaire afin d'éviter une flambée de cas cliniques.

Le problème réside alors dans la détection de ces individus. Les « forts contaminateurs » sont constitués d'une part des bovins qui expriment les formes cliniques de la maladie, ils sont donc aisément identifiables, et d'autre part, de certains bovins asymptomatiques, il est donc beaucoup plus difficile de les identifier. C'est en particulier la conservation de bovins appartenant à ce second groupe dans les élevages infectés de besnoitiose qui rend l'éradication de la maladie très difficile (Alzieu et al., 2019).

#### *Contamination intra-cheptel*

Le grand nombre de repas interrompus et la propension des insectes à compléter rapidement ces repas interrompus sont des éléments qui favorisent la diffusion de *B. besnoiti* au sein d'un cheptel et au sein des mélanges d'animaux lors des estives. Mais cela n'explique pas complètement comment la besnoitiose peut survenir dans des élevages sédentaires.

#### *Contamination inter-cheptel*

Si la contamination entre bovins proches semble dominante, il ne faut pas négliger la contamination entre élevages voisins. En effet, des études ont montré que les stomoxes pouvaient transmettre des parasites 48h après leur dernier repas sur un bovin infecté (Sharif et al., 2017) ce qui peut laisser supposer que les vecteurs peuvent contaminer des bovins dans un cheptel voisin d'un cheptel atteint de besnoitiose. Une étude sur plusieurs années a mis en évidence qu'une contamination de bovins entre cheptels séparés par une haie ou une clôture était possible (Alzieu et al., 2016).

Cependant, les cas de besnoitiose rapportés dans des pays européens très éloignés de la zone endémique Pyrénéenne (Allemagne, Irlande, Belgique) ne peuvent pas s'expliquer uniquement par une diffusion vectorielle du parasite. Des études épidémiologiques dans ces pays ont permis de remonter à l'origine du problème et d'identifier une cause commune : l'importation de bovins français contaminés. En effet, le déplacement d'animaux porteurs de kystes et donc de parasites a permis une diffusion à grande échelle, puis la diffusion à l'échelle locale par les vecteurs hématophages a favorisé l'apparition de nouveaux foyers de besnoitiose dans des zones jusqu'alors indemnes. Cela a été favorisé par l'intensification des mouvements

de bovins avec des contrôles non systématiques lors des achats. Ces échanges commerciaux, en particulier avec les zones à forte prévalence de besnoitiose, sont les causes majoritaires de l'expansion de la maladie en Europe et en France. La besnoitiose est qualifiée de « maladie qui s'achète » (Alzieu, Jacquet, 2009 ; Lorenza, 2015).

### 1.3.3 Bilan

En bilan, les facteurs principaux de transmission de la besnoitiose à l'échelle d'un troupeau sont principalement dépendant des insectes hématophages. On observe que le taux d'incidence est maximal lorsque trois conditions sont réunies : la présence dans le troupeau d'animaux « forts contamineurs », la présence d'un grand nombre d'animaux sains et un grand nombre d'insectes piqueurs (Alzieu et al., 2016).

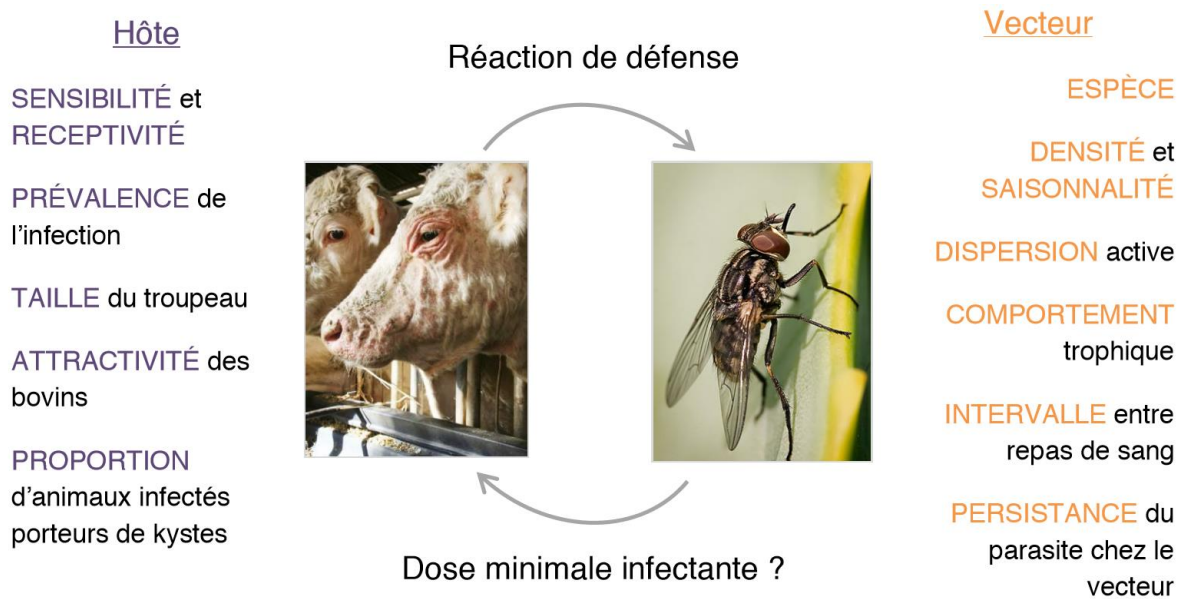


Figure 14 : Schéma représentant les principaux facteurs de l'hôte et du vecteur régissant la transmission de *B. besnoiti* au sein d'un cheptel (Bottari, 2019).

En outre, entre cheptels, la transmission de la maladie se fait principalement par l'achat d'un animal infecté puis par une diffusion locale via les insectes piqueurs.

## 1.4 Etude clinique

### 1.4.1 Infection et réponse immunitaire

Comme cela a été détaillé dans les parties précédentes, l'infection d'un bovin se fait principalement par la piqûre d'insectes porteurs de parasites. L'infection peut se faire via l'intermédiaires de tachyzoïtes provenant d'un bovin en phase aigüe ou via l'intermédiaire de bradyzoïtes provenant d'un bovin en phase chronique de la maladie. Cependant, une étude sur des lapins a montré que l'infection par des tachyzoïtes ne provoquait pas l'apparition de signes cliniques de la maladie contrairement à une infection par des bradyzoïtes même si une séroconversion est bien observée dans les deux cas. Cette étude suggère donc une plus grande virulence de la forme bradyzoïte (Liénard et al., 2015). Par ailleurs, cette forme serait capable de se transformer en forme tachyzoïte, en 6 à 10 jours selon des modalités encore inconnues, lorsqu'elle est inoculée à un nouveau bovin (Bigalke, 1968 ; Alzieu, Cortes, et al., 2007).

La réponse immunitaire du bovin, fait d'abord intervenir les mécanismes du système immunitaire inné : monocytes et granulocytes qui luttent contre la multiplication et la dissémination des tachyzoïtes qui parasitent les cellules endothéliales (Muñoz Caro et al., 2014 a et b). Par la suite, il y aurait mise en place d'une immunité cellulaire spécifique dépendante de l'interféron gamma dirigée contre les parasites intracellulaires mais cela a été peu étudié bien qu'il semblerait que ce soit le principal moyen de défense de l'hôte. Il semblerait également que le système immunitaire soit totalement inefficace contre le parasite une fois que celui-ci est protégé par l'épaisse paroi des kystes à bradyzoïtes ce qui est à l'origine de l'infection chronique persistante des bovins. Cependant, un retour de certains kystes vers des phases de multiplication active, notamment à l'occasion d'une déficience immunitaire transitoire ou d'une autre maladie intercurrente n'est pas exclue (Alzieu, Jacquiet, 2011 ; Gutiérrez-Expósito et al., 2017).

La réponse immunologique des bovins commence à se manifester généralement entre 14 et 20 jours après l'infection. La persistance des anticorps dans le temps fait l'objet de peu de publications, au moins 18 mois selon une étude française (Liénard et al., 2011), des anticorps ont été détectés pendant quatre ans dans le sérum d'une vache Limousine infectée chronique (Alzieu et al., 2016), les observations de terrain montrent également que les anticorps persistent

plusieurs années. Il est possible que les animaux porteurs de kystes restent séropositifs à vie. Le rôle des anticorps dans le contrôle de l'infection par *B. besnoiti* n'est cependant pas connu.

#### 1.4.2 Infection asymptomatique

L'existence de bovins infectés mais ne présentant pas de signes cliniques de la maladie a déjà été évoqué à plusieurs reprises, dans cette partie nous allons aborder plus en détail cette particularité.

Dans 80 à 95% des cas, lorsqu'un bovin est infecté, l'infection passe inaperçue car celui-ci ne montre aucun signe clinique, on dit que l'infection est asymptomatique (Dorchies, 2012). Finalement, les animaux qui développent une besnoitiose clinique classique ne représentent en général que le sommet de l'iceberg des animaux infectés au sein d'un élevage. On ne sait pas précisément quels sont les facteurs influençant l'apparition des signes cliniques ou non, plusieurs hypothèses ont été formulées comme la forme ou la quantité de parasites inoculés, la sensibilité individuelle (caractère génétique en particulier) et le statut immunitaire de l'hôte (Fouquet, 2009 ; Alzieu, Jacquet, 2012 ; Diezma-Díaz et al., 2018).

Cependant, même si un bovin est infecté asymptomatique, il peut être porteur latent de kystes à bradyzoïtes car il est possible de retrouver dans sa peau de l'ADN du parasite (Esteban-Gil et al., 2014). Donc même si un bovin n'a pas exprimé de signes cliniques de la besnoitiose, il peut être un individu « super contaminateur » et donc être à l'origine de la contamination d'autres bovins par transmission vectorielle.

La figure suivante montre que les bovins atteints de besnoitiose clinique ne constituent en général que le sommet de l'iceberg de tous les animaux infectés au sein d'un élevage et que le nombre de kystes à bradyzoïtes dans le derme des animaux asymptomatiques peut être très variable d'un individu à l'autre.

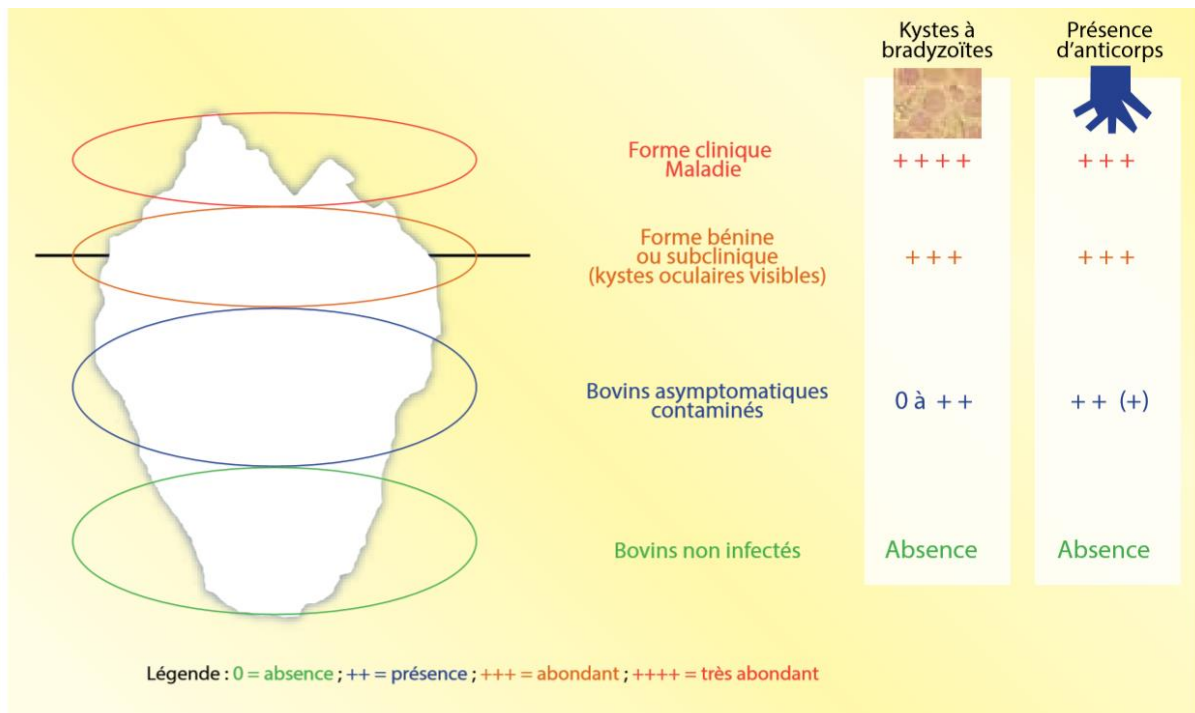


Figure 15 : Schéma représentant la répartition des animaux selon leur expression clinique dans un cheptel atteint de besnoitiose et les probabilités de présence d'anticorps et de kystes à bradyzoïtes (Alzieu et al., 2017)

C'est à cause de l'achat de bovins infectés asymptomatiques que la besnoitiose peut être introduite dans une région ou un élevage jusqu'alors indemne, d'où l'importance de la réalisation de contrôles biologiques lors des achats.

#### 1.4.3 Infection symptomatique

Lorsqu'un bovin est infecté de façon symptomatique, on peut en général distinguer trois phases cliniques successives. Cependant, tous les bovins n'expriment pas ces phases avec la même intensité : la phase fébrile et celle des œdèmes semblent assez constantes, fréquentes et liées mais la phase de sclérodémie n'est pas systématique et lorsqu'elle survient, elle peut être d'une intensité variable. Finalement la forme classique dite de la « peau d'éléphant » s'avère assez rare (Alzieu et al., 2016).



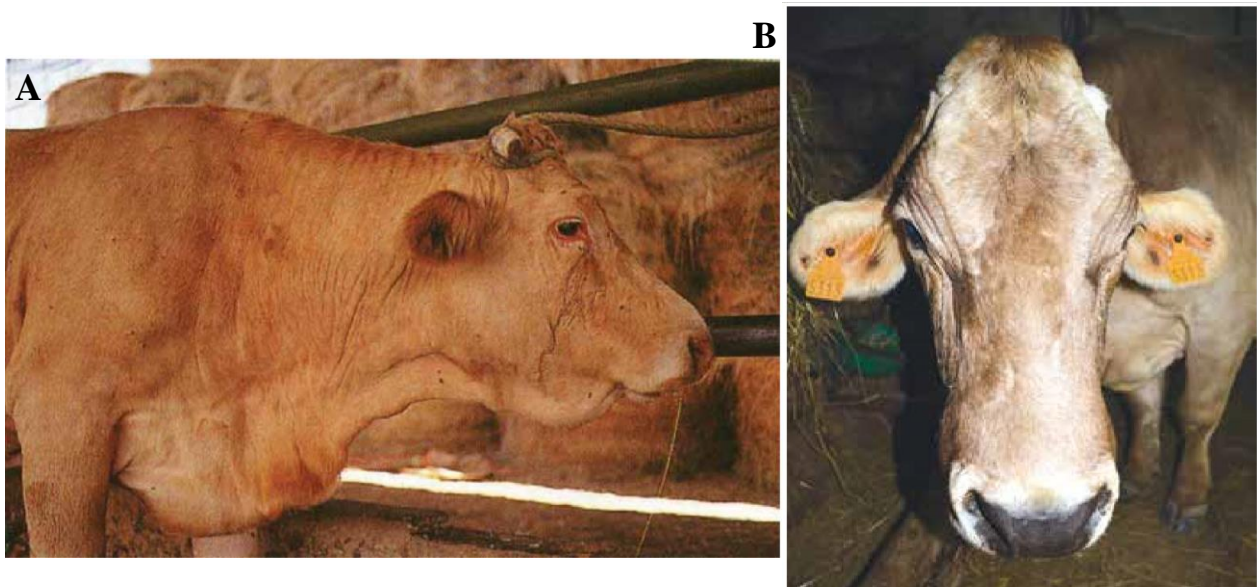
### *Phase fébrile*

La phase fébrile apparaît après une incubation minimale de 6 à 10 jours post-infection. Elle est caractérisée par un syndrome fébrile prononcé avec une hyperthermie sévère entre 40 et 42°C accompagnée d'autres signes classiques de fébrilité : abattement, tachypnée, tachycardie, anorexie et diminution de la motricité ruminale (Alzieu, Dorchies, et al., 2007).

On observe également des signes cutanés, le pelage est hérissé, la peau est congestionnée et sensible voire même douloureuse au pincement, en particulier dans les zones où la peau est fine : encolure, face interne des membres, mamelle, scrotum, périnée, oreilles, chanfrein. On parle d'hyperesthésie cutanée. La congestion de la peau peut lui donner un aspect « zébré » particulièrement visible sur l'encolure. La face est également congestionnée ce qui peut induire le gonflement des yeux à l'origine d'une exophtalmie ce qui a été décrit comme l'apparence d'une « tête d'hippopotame » (Dorchies, 2012).

Il y a une inflammation des muqueuses oculaires et pituitaires à l'origine d'un épiphora constant et d'un jetage séreux à séro-muqueux filant abondant. Les animaux présentent une photophobie, ils sont généralement retrouvés isolés du troupeau, à l'ombre.

De la diarrhée a également été décrite durant cette phase (Pols, 1960).



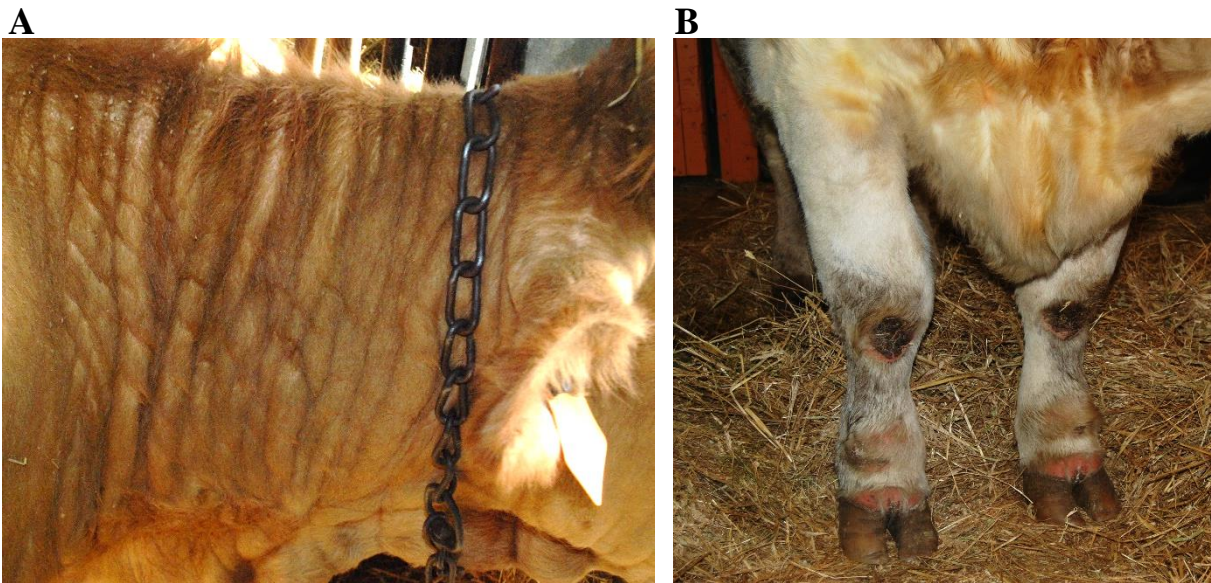
*Légende : A : épiphora et jetage séreux ; B : congestion de la face dite en "tête d'hippopotame" (photographies : JP Alzieu).*

Figure 16 : Photographies de bovins en phase fébrile de besnoitiose.

Cette phase dure entre 3 et 10 jours, elle correspond à la phase de parasitémie et de multiplication des tachyzoïtes dans les cellules endothéliales. Dans les cas les plus sévères, cette phase peut conduire à la mort de l'animal (Cortes et al., 2005).

### *Phase des œdèmes*

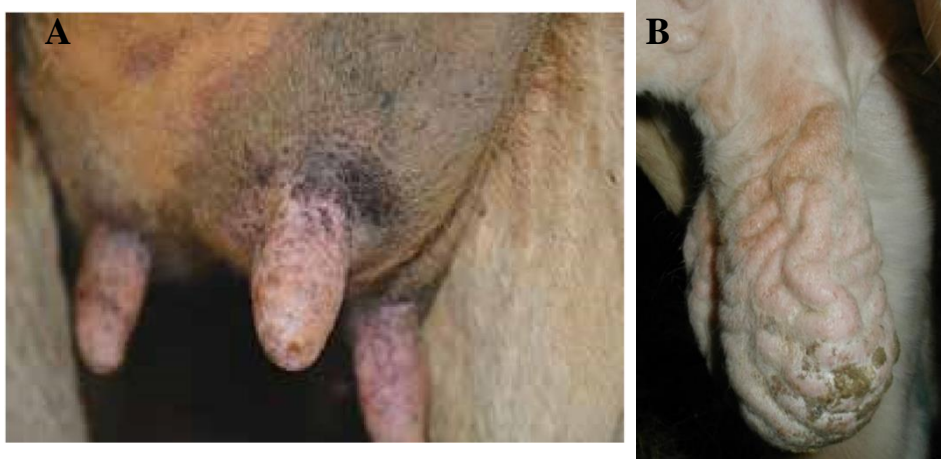
Cette phase est en continuité avec la phase précédente, elle se caractérise par une normalisation de la température rectale. Les signes cutanés persistent par un épaissement de la peau et des œdèmes sous-cutanés marqués sur la tête, l'auge et le fanon, à l'extrémité des membres : boulets et canons, surtout sur les membre pelviens, ce qui est à l'origine de difficultés locomotrices (Alzieu, Jacquet, 2011). La démarche est raide et la flexion des articulations est douloureuse, les bovins piétinent, se déplacent et se couchent peu ce qui contribue également à une diminution de l'alimentation (Franc, Cadiergues, 1999).



*Légende : A : œdème et plis de l'encolure ; B : œdèmes des pâturons, des boulets et de l'auge (photographies : pathologie des ruminants ENVT).*

Figure 17 : Photographie de bovins en phase des œdèmes.

Plus globalement, toutes les zones déclives sont atteintes, chez la vache, la mamelle est également œdématisée ce qui provoque une congestion marquée qui se traduit par la coloration violette de la peau à la base des trayons. Chez le mâle, l'œdème est à l'origine d'une hypertrophie scrotale, on peut palper des indurations dans les testicules qui correspondent à des zones de nécrose.



*Légende : A : anneaux violacés à la base des trayons et œdème de la mamelle chez une vache (photographie : JP Alzieu) ; B : épaissement du scrotum d'un taureau (photographie : pathologie des ruminants ENVT).*

Figure 18 : Photographies de bovins en phase des œdèmes.

Une respiration bruyante est souvent observée, elle est due à une inflammation de l'appareil respiratoire supérieur et aux œdèmes qui touchent également la face à l'origine d'un rétrécissement de l'ouverture des nasaux (Alzieu, 1991).

On observe une hypertrophie des nœuds lymphatiques superficiels, en particulier ceux qui drainent les zones œdématisées (Dorchies, 2012).

Cette phase, qui dure entre une et deux semaines, est la conséquence de la multiplication massive des tachyzoïtes dans les vaisseaux sanguins à l'origine de thrombi et de vascularites qui augmentent la perméabilité des capillaires provoquant ainsi l'accumulation de liquide dans les tissus sous-cutanés.



### *Phase de sclérodermie*

La phase de sclérodermie commence environ 6 semaines après le début des premiers signes cliniques et peut durer plusieurs mois, plusieurs années, souvent jusqu'à la mort de l'animal.

À la suite de la résorption des œdèmes, la peau a perdu son élasticité, elle s'épaissit et se plisse progressivement. Sur les zones atteintes, les poils tombent et la peau desquame, cela lui donne un aspect cartonné semblable à celui de la peau des éléphants. Cette alopecie non prurigineuse s'observe principalement sur l'encolure, la tête, la face interne des cuisses. On peut observer dans certains cas, la chute de lambeaux de peau qui laissent à nu le tissu sous-cutané qui peut alors se surinfecter ou favoriser l'installation de myiases. Le cuir peut prendre un aspect « zébré » dû à l'alternance de zones hyperkératosiques sombres et de zones moins touchées plus claires.



Figure 19 : Photographie d'un taureau Gascon en phase de sclérodermie, aspect "zébré" du cuir au niveau du thorax et de l'abdomen (photographie : pathologie des ruminants ENVT).

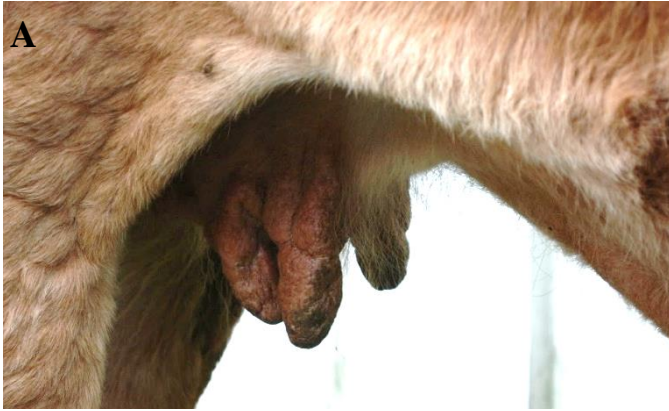
Des crevasses peuvent se former au niveau des lèvres à cause de l'abrasion des aliments, les pourtours du mufle sont dépilés. Une dyspnée accompagnée d'un bruit de cornage est souvent observée, elle est la conséquence du rétrécissement des nasaux et de la présence d'un jetage séro-hémorragique ou muco-purulent (Esquerré, 2015).



Figure 20 : Photographie de la face et de l'encolure d'une vache Aubrac en phase de sclérodermie (photographie : pathologie des ruminants ENVT).

Au niveau des articulations, les œdèmes laissent place à des crevasses ou des escarres, au niveau des carpes, des boulets et des jarrets surtout, les animaux ont des difficultés à se déplacer et à se tenir debout.

La mamelle est déformée par des excroissances et des hypertrophies des trayons ce qui peut rendre la traite ou la tétée difficile. Le scrotum présente très souvent des lésions de sclérodermie et des calcifications apparaissent dans les testicules.



Légende : **A** : hyperkératose de la mamelle d'une vache (photographie : pathologie des ruminants ENVT) ; **B** : hyperkératose des cuisses et du scrotum d'un taureau (Le Sobre, Pin, 2011).

Figure 21 : Photographies de bovins de race Limousine en phase de sclérodémie.

Certains bovins moins atteints montrent parfois une amélioration clinique au bout de quelques semaines ou mois, l'infection peut alors devenir chronique et le bovin peut survivre avec uniquement des signes d'hyperkératose et d'alopécies (Jacquiet et al., 2010).

Cette phase est concomitante à l'apparition des kystes à bradyzoïtes, ils sont visibles sur la sclère oculaire. Les bovins en phase clinique de sclérodémie possèdent beaucoup de kystes dans leur peau, ils sont tous des « forts contaminateurs ».

Sur l'œil, les kystes ont la taille d'une tête d'épingle ou d'un grain de semoule, de couleur blanchâtre, ils apparaissent entre la 6<sup>ème</sup> et la 7<sup>ème</sup> semaine après le début des signes cliniques et ils sont pathognomoniques de la phase de sclérodémie de la besnoitiose (Alzieu, Jacquiet, 2011). Certains individus peuvent avoir des kystes sur la sclère oculaire sans avoir présentés les signes cliniques caractéristiques décrits précédemment.





Figure 22 : Photographies de kystes parasitaires sur la sclère oculaire de bovins en phase de sclérodermie (photographies : pathologie des ruminants ENVT).

#### 1.4.4 Conséquences fonctionnelles

La besnoitiose est une maladie cachectisante, les animaux s'alimentent de moins en moins et la perte d'état est progressive. Parallèlement, on observe une chute de la production laitière assez brutale en début d'évolution de la maladie chez les vaches en lactation (Fouquet, 2009). En phase de sclérodermie, la traite est compliquée par les excroissances présentes sur la mamelle, et généralement la production laitière de ces vaches est très fortement diminuée (Duboisset, 2013).

Les conséquences cliniques de la besnoitiose sont nombreuses mais c'est la fonction de reproduction qui est le plus lourdement affectée.

Des avortements ont été décrits pendant la phase fébrile et la phase des œdèmes, ces interruptions de gestation ne sont pas directement dues à l'infection par *B. besnoiti* mais elles sont la conséquence du syndrome fébrile et témoignent du mauvais état de santé général de la vache (Alzieu, Dorchies, et al., 2007 ; Jacquiet et al., 2010 ; Pols, 1960). Même si cela reste rare, les conséquences sont lourdes pour les éleveurs car c'est une gestation entière qui est mise en jeu. De plus, la mise à la reproduction de certaines vaches en phase de sclérodermie est impossible à cause d'une perte d'état trop importante.

Chez les taureaux, on observe souvent une infertilité transitoire en phase aiguë de la maladie et pour certains une infertilité définitive en phase chronique, les mécanismes à l'origine de ces infertilités sont schématisés dans la figure suivante

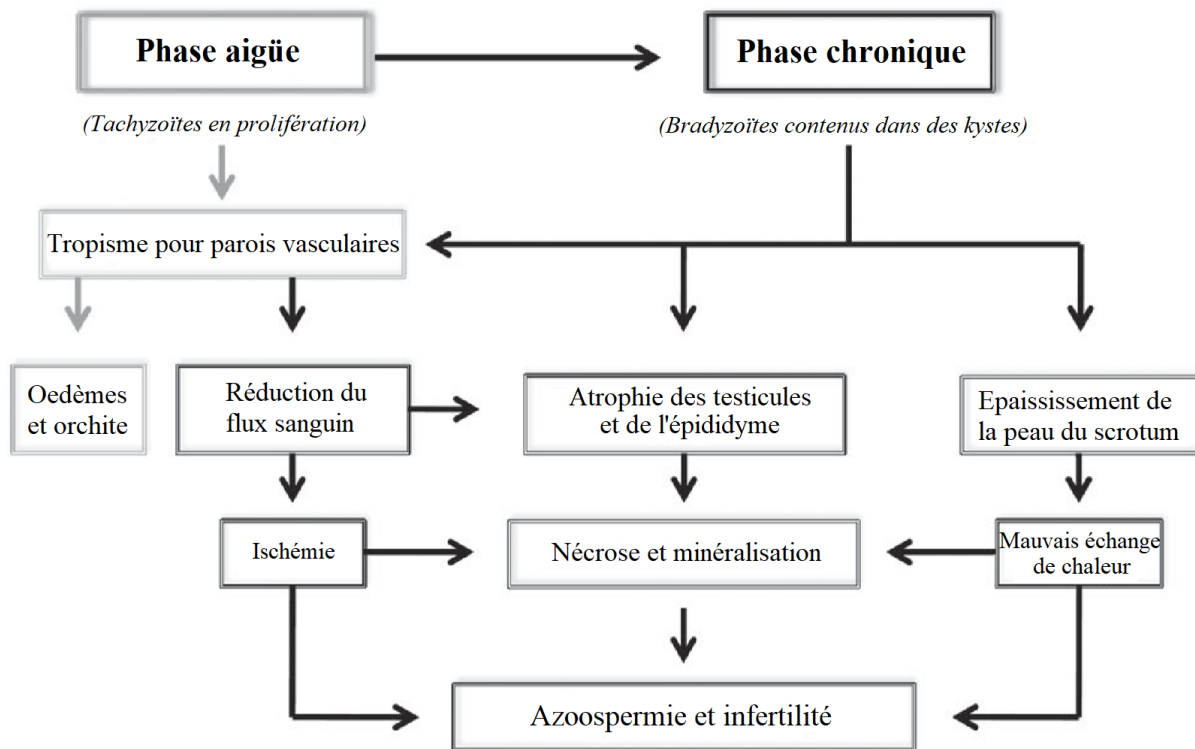
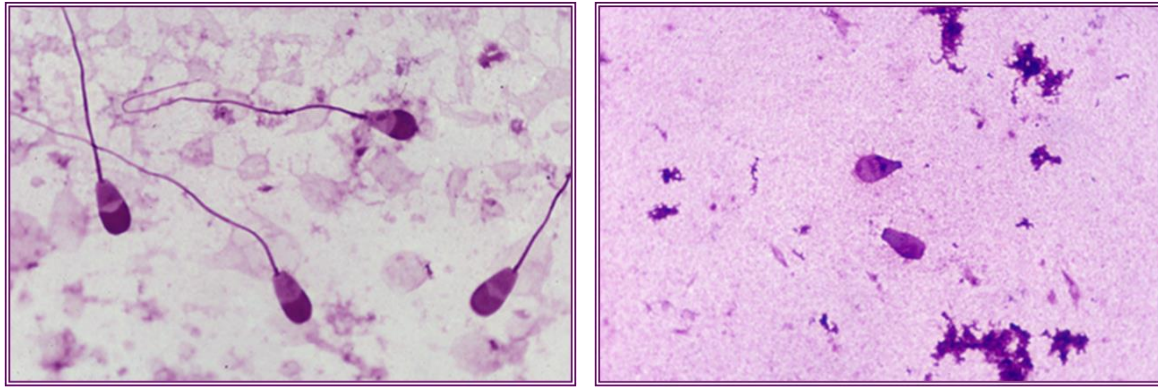


Figure 23 : Mécanismes physiopathologiques à l'origine de l'infertilité des taureaux atteints de besnoitiose clinique en phase aiguë et en phase chronique (traduit de Álvarez-García, García-Lunar, et al., 2014).

Chez certains taureaux infectés chroniques, les kystes à bradyzoïtes se localisent dans le plexus pampiniforme, le rete testis ou même les tubes séminifères (Esteban-Gil et al., 2016) ce qui crée des lésions testiculaires de nécrose, fibrose et calcification (Alzieu et al., 2016). La qualité de la semence des individus ayant présenté une forme clinique est altérée par rapport à celle des individus non infectés ou infectés asymptomatiques (Esteban-Gil et al., 2016). Dans certains cas, on observe une absence totale de spermatogénèse, dans d'autres cas on observe un grand nombre de spermatozoïdes morts ou malformés (Álvarez-García, García-Lunar, et al., 2014). Une infertilité définitive est observée dans environ 50% des cas cliniques de besnoitiose chez les taureaux malgré l'administration d'un traitement adapté en phase aiguë (Alzieu, Jacquet, 2011).





Légende : A : spermogramme normal ; B : spermogramme d'un taureau atteint de besnoitiose (photographies : V Shkap).

Figure 24 : Comparaison des spermogrammes d'un taureau sain et d'un taureau atteint de besnoitiose.

Les conséquences économiques sont majeures pour les éleveurs naisseurs qui doivent soit avoir recours à l'insémination artificielle soit acheter un autre taureau. La réforme des taureaux stériles se fait souvent de façon précoce, certains éleveurs sont obligés de se séparer de taureaux de grande valeur génétique et souvent à des prix dérisoires à l'abattoir.

#### 1.4.5 Lésions

##### *Macroscopiques*

Les lésions macroscopiques de la phase aiguë (phase fébrile) ou subaiguë (phase des œdèmes) ne sont pas spécifiques, ce sont des lésions de type congestivo-hémorragique.

On observe de nombreuses pétéchies sur les muqueuses (langue, trachée, utérus), sur l'endocarde, les muscles, les reins, la caillette, la vésicule biliaire. On peut retrouver des signes de congestion dans les poumons et la trachée. Des foyers inflammatoires fibrineux circonscrits sont visibles sur les séreuses (plèvres et péritoines), les muscles ainsi que les parenchymes rénaux et hépatiques contiennent des foyers de dégénérescence. Les nœuds lymphatiques superficiels sont légèrement hypertrophiés et ont un aspect encéphaloïde en lien avec les œdèmes sous-cutanés. Des arthrites séro-fibrineuses ont été observées surtout au niveau des boulets, la carcasse a un aspect général fiévreux (Lenfant, 2013 ; Fouquet, 2009).

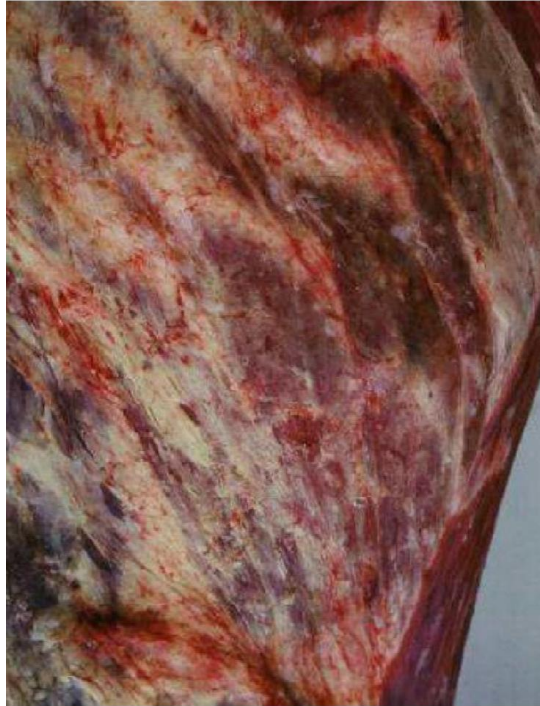


Figure 25 : Photographie de l'aspect congestivo-hémorragique de la carcasse d'un bovin en phase fébrile de besnoitiose (photographie : JP Alzieu).

En phase chronique, le tableau lésionnel est plus caractéristique de la besnoitiose, de nombreux kystes à bradyzoïtes sont identifiables dans les muscles et fascias, les capsules articulaires, le périoste, le foie, la rate, les reins, les poumons, les muqueuses respiratoires, génitales, pituitaire et conjonctivale, les veines et l'endocarde. Les lésions cutanées ont été décrites dans le paragraphe « Phases de l'infection symptomatique – Phase de sclérodermie ».



Figure 26 : Photographie de kystes parasitaires visibles à l'œil nu dans le tissu sous cutané d'un bovin en phase de sclérodermie (photographie : JP Alzieu).

On peut retrouver des lésions de pleurésie et de péritonite fibreuses, les muscles sont parcourus de marbrures blanchâtres. La carcasse est souvent cachectique avec une infiltration séreuse du tissu adipeux (Lenfant, 2013 ; Esquerré, 2015).



Figure 27 : Photographie d'un muscle d'une vache atteinte de besnoitiose en phase de sclérodermie (photographie : pathologie des ruminants ENVT).

### *Microscopiques*

En phase aigüe, les lésions sont principalement observées au niveau des vaisseaux sanguins. Les petites veines sont les plus affectées, jusqu'à environ 4 mm de diamètre. Des tachyzoïtes sont visibles dans les histiocytes périvasculaires, ils sont entourés par une réaction inflammatoire cellulaire éosinophile et mononucléée. Les parasites sont également retrouvés dans l'endothélium vasculaire ce qui est la cause de son épaissement. Ils forment des thrombi et des foyers nécrotiques puis des lésions de thrombophlébites à l'origine de foyers hémorragiques. Ces lésions sont visibles dans tous les organes mais plus fréquentes au niveau de la peau et des muqueuses.

Dans le foie, les hépatocytes subissent une dégénérescence hyaline avec vacuolisation ce qui est à l'origine de foyers de nécrose. On retrouve des lésions musculaires nécrotiques et des foyers de minéralisation (Ferrié, 1984).



En phase chronique, on retrouve de nombreux kystes dans les tissus où ils sont observables macroscopiquement, ils sont entourés d'une zone fibrocellulaire riche en collagène avec une néovascularisation importante. En périphérie des kystes, la réaction inflammatoire granulomateuse est marquée, on observe des lymphocytes, des macrophages, des éosinophiles et parfois des cellules géantes multinucléées et épithélioïdes. C'est dans les muscles que la réaction inflammatoire est la plus intense, outre la réaction granulomateuse, une seconde couche composée de cellules en fuseau puis une troisième couche nécrotique entourent les kystes : dégénérescence cireuse de Zenker (Esquerré, 2015).

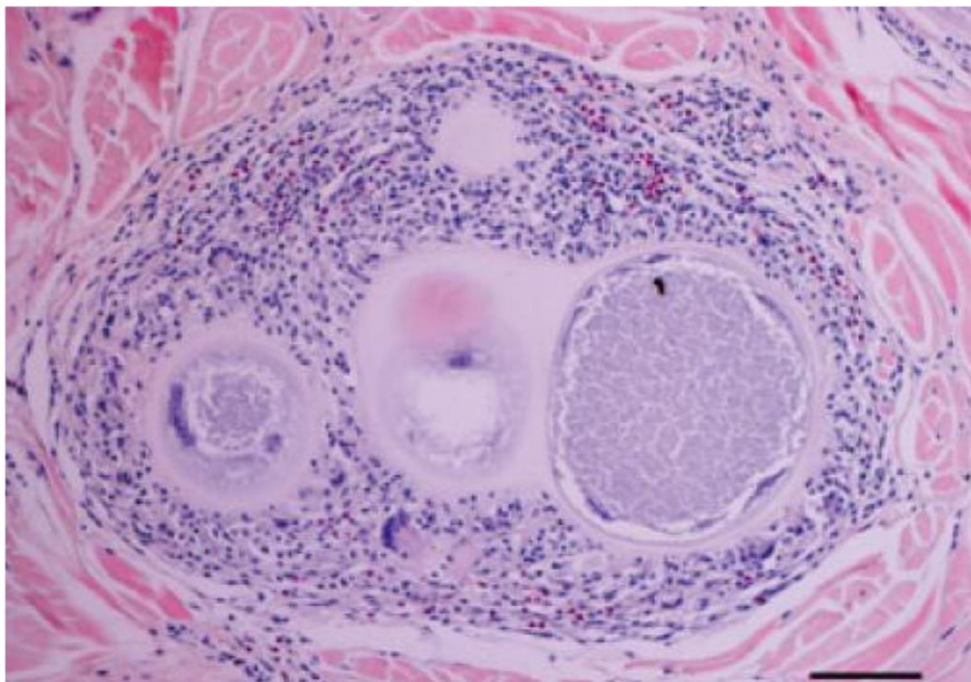


Figure 28 : Photographie de la réaction granulomateuse en périphérie de kystes parasitaires observée sur une coupe histologique d'un bovin en phase de sclérodémie colorée à l'HE et observée au microscope optique, échelle : 100 µm (Esquerré, 2015).

Au niveau vasculaire, l'endothélium est hypertrophié par les kystes et les cellules endothéliales sont remplacées par des fibroblastes et des fibrocytes producteurs de collagène. Les lésions de sclérose sont le plus souvent rapportées sur les veines des membres pelviens, mammaire superficielle, céphalique, labiale, faciale, nasales ainsi que les veines et artères intercostales (Fouquet, 2009).

Les nœuds lymphatiques sont légèrement hypertrophiés, on y retrouve une hyperplasie lymphoïde et une prolifération de cellules réticulo-endothéliales, ils sont généralement dépourvus de kystes sauf dans le portion sous-capsulaire (Ferrié, 1984).

#### 1.4.6 Modifications biochimiques et hématologiques

Les modifications biochimiques et hématologiques lors d'infection par *B. besnoiti* ont été peu étudiées. Une équipe allemande a publié ses observations en 2015 sur un nombre limité de vaches.

Lors de la phase aigüe, le nombre de lymphocytes et de neutrophiles serait diminué de moitié par rapport à la norme (leucopénie) puis la numération de leucocytes augmenterait jusque dans des valeurs normales lors de la phase chronique.

Une anémie modérée est également rapportée lors de la phase aigüe : diminution de 10 à 25% du nombre d'érythrocytes, de l'hématocrite et de l'hémoglobine sanguine, et en phase chronique, le nombre d'érythrocytes semble également légèrement inférieur à celui des bovins sains ce qui peut être expliqué par l'inflammation chronique causée par le parasite (Langenmayer et al., 2015).

En phase aigüe, on observe une réponse inflammatoire avec une augmentation des  $\alpha$ -globulines, le temps de réaction du glutaraldéhyde (Test de Sandholm) est fortement diminué (2 min, valeur usuelle > 15 min) ce qui est également signe d'une inflammation aigüe. En phase de sclérodémie, on observe des marqueurs d'inflammation chronique : une diminution de l'albuminémie et une augmentation des  $\gamma$ -globulines en lien avec la production d'anticorps (Rostaher et al., 2010 ; Langenmayer et al., 2015).

La phase aigüe de la maladie peut également entraîner une augmentation des activités ASAT et CK, marqueurs de cytolysse musculaire ce qui peut être expliqué par les lésions de nécrose musculaire qui sont parfois observées ou par un décubitus prolongé (Langenmayer et al., 2015).

#### 1.4.7 Evolution et pronostic

Un bovin infecté par *B. besnoiti* de façon asymptomatique peut vivre plusieurs années sans que rien ne soit suspecté, le parasite ne semble pas nuire à sa santé cependant ce bovin reste un réservoir potentiel de parasites pour les autres bovins.

Lorsqu'un traitement adapté est réalisé de façon précoce (en phase fébrile), les chances de guérison clinique sont réelles et le pronostic vital est favorable (Alzieu, 1991). Lorsque l'infection devient chronique, les animaux peuvent retrouver de l'appétit mais ils ne parviennent pas à s'alimenter correctement car ils ont d'importantes difficultés à se déplacer. En général, l'état général des animaux se dégrade davantage, parfois jusqu'à la cachexie. Il est impossible de les engraisser ou de les remettre à la reproduction. Les animaux deviennent des non-valeurs économiques et le vétérinaire procède souvent à leur euthanasie pour mettre fin aux souffrances de l'animal.

Cependant, quelques individus en phase chronique montrent parfois une amélioration clinique après quelques semaines ou mois permettant un engraissement avant réforme (Jacquiet et al., 2010).

## 1.5 Diagnostic

Dans cette partie, nous allons nous intéresser aux différents moyens de diagnostiquer la besnoitiose bovine. Dans la majorité des cas, le diagnostic est fondamentalement basé sur les suspicions épidémio-cliniques des vétérinaires.

### 1.5.1 Diagnostic différentiel des suspicions épidémio-cliniques

Pour la besnoitiose, la précocité de diagnostic et de prise en charge est fondamentale. Il est donc nécessaire que les éleveurs et les vétérinaires aient un œil averti sur les signes cliniques qui apparaissent en phase aigüe. Cependant, les signes cliniques en phase aigüe n'étant pas spécifiques de cette maladie, il est important d'établir rapidement un diagnostic différentiel.

Tableau 1 : Diagnostic différentiel de la besnoitiose en phase fébrile selon ses principaux signes cliniques et la fréquence relative actuelle des maladies considérées (d'après Alzieu et al., 2016).

Maladie <i>Agent pathogène</i>	Fréquence relative	Fièvre	Signes respiratoires	Jetage nasal séreux	Congestion cutanée
<b>Besnoitiose (phase fébrile)</b> <i>Besnoitia besnoiti</i>	+++	+++++	+++	+++	+++++
<b>Coryza gangréneux</b> <i>Ovine herpesvirus 2</i>	0 à +	+++++	+++	+++	+++
<b>Ehrlichiose granulocytaire bovine</b> <i>Anaplasma phagocytophilum</i>	+++++	+++++	+++	++	+
<b>FCO (phase aigüe)</b> <i>Bluetongue virus</i>	+	+++	++	++	++
<b>BPIE</b> <i>Mannheimia haemolytica, Pasteurella multocida, Mycoplasma bovis, BHV 1, VRSB, Pi3</i>	++	+++++	+++	+++	0 à +
<b>Photosensibilisation (phase aigüe)</b>	+	+ à ++	+ à ++	+	+++++

Légende : 0 = absence ; + = léger ; ++ = modéré ; +++ = marqué ; ++++ = sévère

Parfois, la phase fébrile est fruste et elle n'est pas observée par l'éleveur, celui-ci perçoit son bovin malade qu'à partir de la phase des œdèmes. Le diagnostic différentiel à ce stade est plus aisé car les signes cliniques observés sont plus caractéristiques de la besnoitiose. Il se fait principalement avec une autre maladie, l'ehrlichiose granulocytaire bovine qui entraîne également des œdèmes des zones déclives, on l'appelle aussi la maladie des « gros pâturons ».

Tableau 2 : Diagnostic différentiel de la besnoitiose en phase des œdèmes selon ses principaux signes cliniques et la fréquence relative actuelle des maladies considérées (d'après Alzieu et al., 2016).

<b>Maladie</b> <i>Agent pathogène</i>	Fréquence relative	Epaississement et chaleur cutanés	Œdèmes des zones déclives
<b>Besnoitiose (phase des œdèmes)</b> <i>Besnoitia besnoiti</i>	+++	+++	++ à +++
<b>Ehrlichiose granulocytaire bovine</b> <i>Anaplasma phagocytophilum</i>	++++	0	+ à ++
<b>FCO (phase aigüe)</b> <i>Bluetongue virus</i>	+	0 à +	+ à ++
<b>Photosensibilisation (phase aigüe)</b>	+	++	0

**Légende : 0 = absence ; + = léger ; ++ = modéré ; +++ = marqué ; ++++ = sévère**

En phase de sclérodémie, le diagnostic différentiel est encore plus facile car bien souvent on peut observer des kystes. Ces kystes sont pathognomoniques lorsqu'ils sont observés sur la sclère oculaire des bovins, cependant ils seraient présents uniquement sur environ 25% des bovins en phase de sclérodémie. L'hyperkératose pourrait laisser suspecter une infection par des agents de gale or celle-ci s'accompagne généralement de prurit qui n'a jamais été décrit pour la besnoitiose. Une carence en zinc pourrait expliquer les dépilations mais elle cause rarement une hyperkératose marquée, elle peut cependant être à l'origine de parakératose au niveau du mufle, de la base des cornes, des articulations et de la région périnéale (Lenfant, 2013 ; Alzieu et al., 2016). La photosensibilisation chronique peut provoquer des exfoliations par plaques fines mais jamais d'épaississement cutané et d'hyperkératose (Jacquet, Alzieu, 2011).



Tableau 3 : Diagnostic différentiel de la besnoitiose en phase de sclérodémie selon ses principaux signes cliniques (d'après Alzieu et al., 2016).

Maladie <i>Agent pathogène</i>	Hyperkératose et plis cutanés	Dépilations	Prurit
<b>Besnoitiose (phase de sclérodémie)</b> <i>Besnoitia besnoiti</i>	++++	+++	0
<b>Carence en Zinc</b>	+	+++	0
<b>Gales</b> <i>Psoroptes ovis, Chorioptes bovis, Sarcoptes scabiei</i>	++ à +++	+	++++

**Légende : 0 = absence ; + = léger ; ++ = modéré ; +++ = marqué ; ++++ = sévère**

Lorsque le vétérinaire suspecte un cas de besnoitiose dans un cheptel qui était considéré comme indemne jusque-là, il a souvent recours à des analyses de laboratoire afin d'éprouver cette hypothèse.

#### 1.5.2 Post mortem

Le diagnostic post-mortem peut être réalisé lors d'une autopsie, les lésions observées dépendent de la phase clinique au cours de laquelle la mort du bovin est intervenue. Les lésions évocatrices de besnoitiose ont été décrites dans la partie consacrée aux lésions macroscopiques. Les autopsies sont également propices au prélèvement d'échantillons pour analyses de laboratoire.

#### 1.5.3 Diagnostic de laboratoire

Il existe de nombreuses techniques de laboratoire qui permettent de mettre en évidence une infection par *B. besnoiti*. Ces techniques ont des propriétés différentes, il est important pour chacune de considérer la sensibilité (Se) : capacité du test à donner un résultat positif lorsque l'animal est infecté et la spécificité (Sp) : capacité du test à donner un résultat négatif lorsque l'animal n'est pas infecté.

Dans un premier temps, nous allons nous intéresser aux méthodes directes qui permettent de mettre en évidence la présence du parasite directement.

### *Raclage*

Le raclage est une méthode facile à mettre en œuvre et qui apporte une réponse rapide car le prélèvement peut être observé directement au microscope à la clinique vétérinaire. Il est réalisé sur des animaux qui sont suspects d'être en phase de sclérodermie.

Le principe consiste à racler les zones lésées (peau, sclère oculaire, muqueuse vaginale) avec une lame de scalpel ou une lame en verre, la matière ainsi retirée est écrasée entre une lame et une lamelle. La lame peut être observée directement au microscope sans coloration, au grossissement 50, on observe généralement des kystes caractéristiques. Il est aussi possible d'observer directement des bradyzoïtes après colorations au Giemsa (Rostaher et al., 2010).

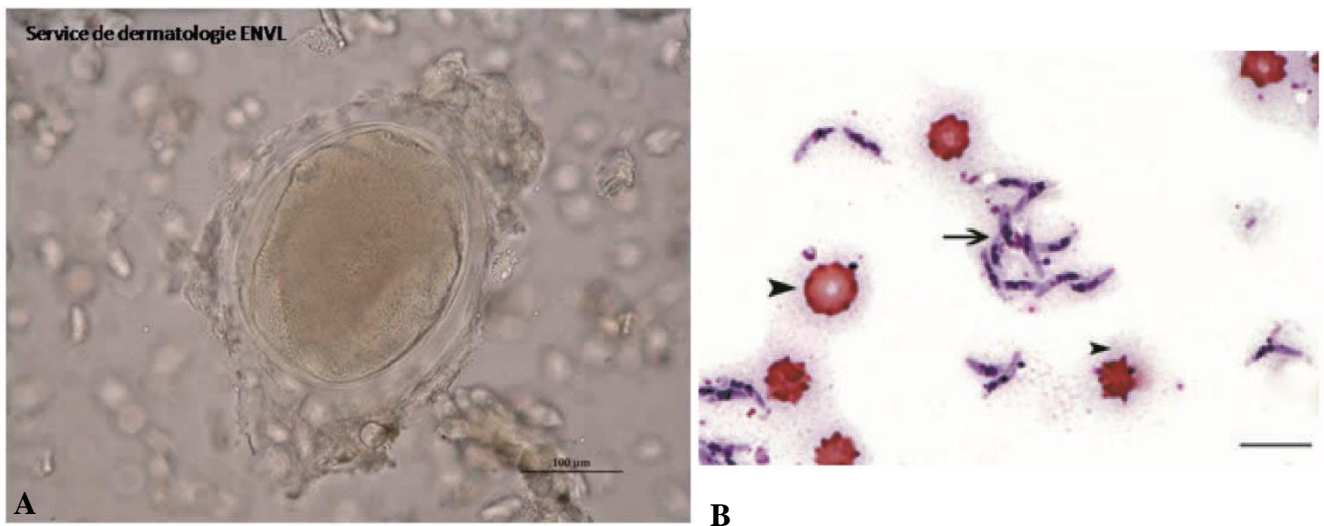


Figure 29 : **A** : Kyste à bradyzoïtes issu d'un raclage oculaire observé au microscope optique grossissement 50 (service dermatologie ENVL) ; **B** : bradyzoïtes (flèches) et erythrocytes (pointes de flèches) issus d'un écouvillon vaginal observés au microscope optique, coloration HE, échelle : 10µm (Rostaher et al., 2010).

## *Biopsie cutanée*

La réalisation d'une biopsie cutanée est nécessaire afin de mettre en œuvre certains examens de laboratoires plus complexes (histopathologie, immunohistochimie et PCR quantitative).

La peau est une bonne matrice d'analyse car elle est plus riche en parasites que les tissus internes chez les bovins atteints de façon chronique (Grisez et al., 2020), ce tropisme cutané est en lien avec les modalités de transmission vectorielle du parasite (Schaes et al., 2016).

Des prélèvements ont été réalisés sur des bovins asymptomatiques séropositifs à différents endroits (oreille, encolure, base de la queue) puis ils ont été analysés par PCR quantitative. La quantité d'ADN parasitaire était significativement plus élevée sur les prélèvements réalisés à la base de la queue. Cette zone semble donc présenter une meilleure sensibilité que les autres zones de la peau. De plus, cette zone étant facilement accessible en élevage pour réaliser un prélèvement lorsque le bovin est au cornadis, elle est désormais définie comme le prélèvement de choix pour la réalisation d'une biopsie cutanée sur un bovin asymptomatique (Grisez et al., 2020).

Sur un bovin qui a des lésions de sclérodémie, la répartition des parasites dans la peau semble plus homogène, les résultats obtenus par qPCR sont assez semblables quelque soit la zone de biopsie (Grisez et al., 2020).



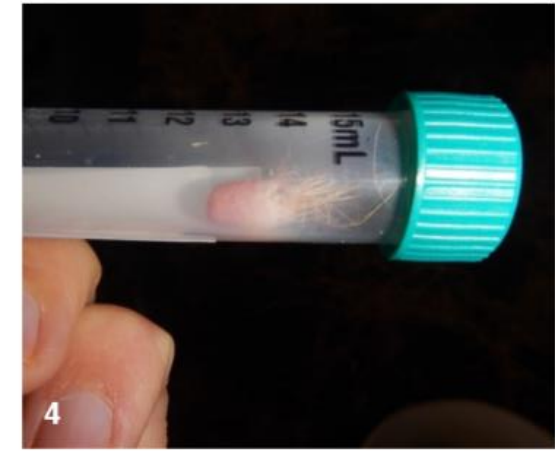
***Etape 1*** : Localisation de la zone de prélèvement et désinfection à la Vétédine® solution.



***Etape 2*** : Ponction à l'aide du Biopsy Punch® (6-8mm)



***Etape 3*** : Extraction du fragment à la pince et au bistouri lame 23.



***Etape 4*** : Dépôt du prélèvement dans un tube Falcon 15 ml sans liquide de conservation.



***Etape 5*** : Application d'Aluspray® sur la zone de prélèvement.

Figure 30 : Protocole de réalisation d'une biopsie cutanée à la base de la queue en 5 étapes afin de réaliser une PCR quantitative besnoitiose (Bottari, 2019).

## *Histopathologie*

L'histopathologie a été un des premiers examens de laboratoire utilisé sur les cas de besnoitiose, elle est rapidement devenue un examen incontournable pour la détection de bovins infectés de façon chronique. Elle permet d'observer directement les kystes parasitaires à partir d'échantillons de peau.

L'échantillon obtenu par biopsie doit être fixé dans du méthanol ou du formaldéhyde. Ce prélèvement est ensuite généralement expédié à un spécialiste d'histopathologie, qui réalise des lames du tissu et les colore au Giemsa et/ou à l'Hemalun Eosine (Sannusi, 1991). L'observation au microscope permet généralement d'observer de nombreux kystes à bradyzoïtes.

Cependant lorsque le nombre de kystes est faible, la sensibilité de cette méthode est fortement réduite, c'est pour cela qu'elle est surtout utilisée sur les bovins qui expriment des signes cliniques de sclérodémie et peu sur les animaux asymptomatiques (Cortes et al., 2006).

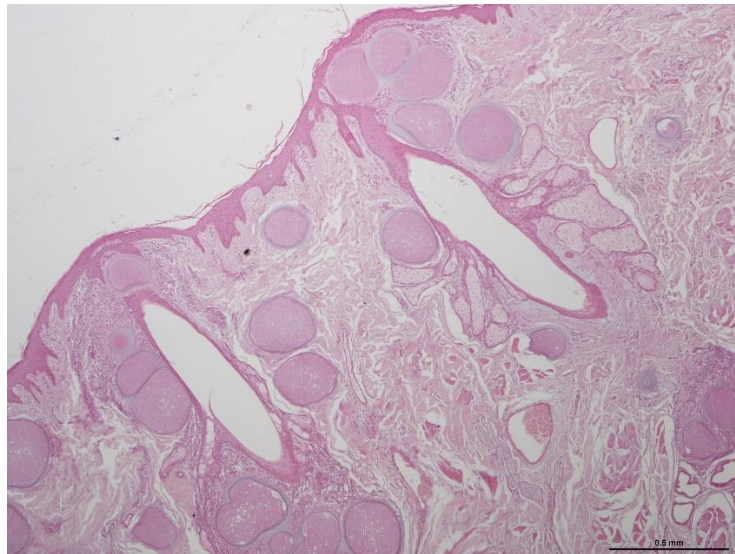


Figure 31 : Photographie d'une coupe histologique de paupière d'un bovin en phase de sclérodémie colorée à l'HE et observée au microscope optique (photographie : histologie ENVT)

L'observation de tachyzoïtes en phase aiguë par examen histologique ou frottis sanguin n'a été que très rarement rapportée (Bigalke, 1968 ; Gollnick et al., 2015) contrairement aux lésions de vascularite induites par la multiplication des parasites (Langenmayer et al., 2015). Le frottis de ponction ganglionnaire avec une coloration de Giemsa est plus riche en tachyzoïtes et en pseudo-kystes monocytaires que le sang. Les tachyzoïtes sont généralement observables



entre le 4<sup>ème</sup> jour et le 12<sup>ème</sup> jour après contamination mais leur présence semble inconstante (Fouquet, 2009).

### *Immunohistochimie (IHC)*

L'immunohistochimie est une méthode qui utilise des anticorps monoclonaux et des anticorps polyclonaux spécifiques de *B. besnoiti* sous forme tachyzoïte ou bradyzoïte pour mettre en évidence les kystes cutanés. Cette méthode doit être réalisée dans un laboratoire spécialisé. Elle est rarement utilisée à visée diagnostique mais plus fréquemment pour l'étude des lésions ou lors d'infections expérimentales (Frey et al., 2013 ; Langenmayer et al., 2015).

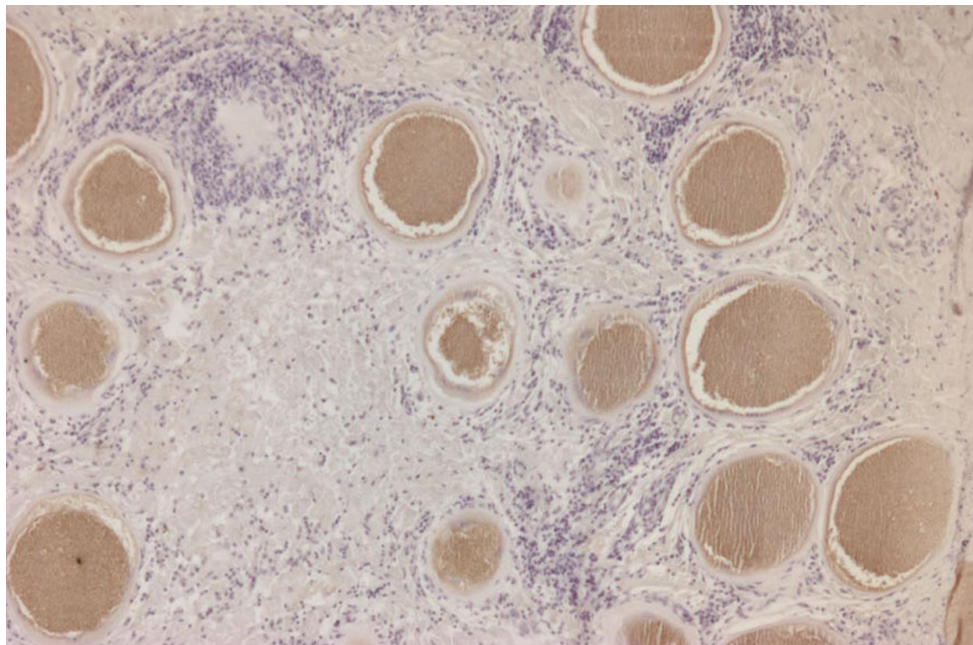


Figure 32 : Coupe histologique de muqueuse pharyngée d'un bovin en phase de sclérodermie traitée par IHC et observée au microscope optique (Gazzonis et al., 2017)

Une technique proche d'immunofluorescence directe (dFAT) a été développée pour la mise en évidence de tachyzoïtes à partir de sang. Elle n'est pour l'instant utilisée que dans le cadre de travaux de recherche (Liénard et al., 2013).

## *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

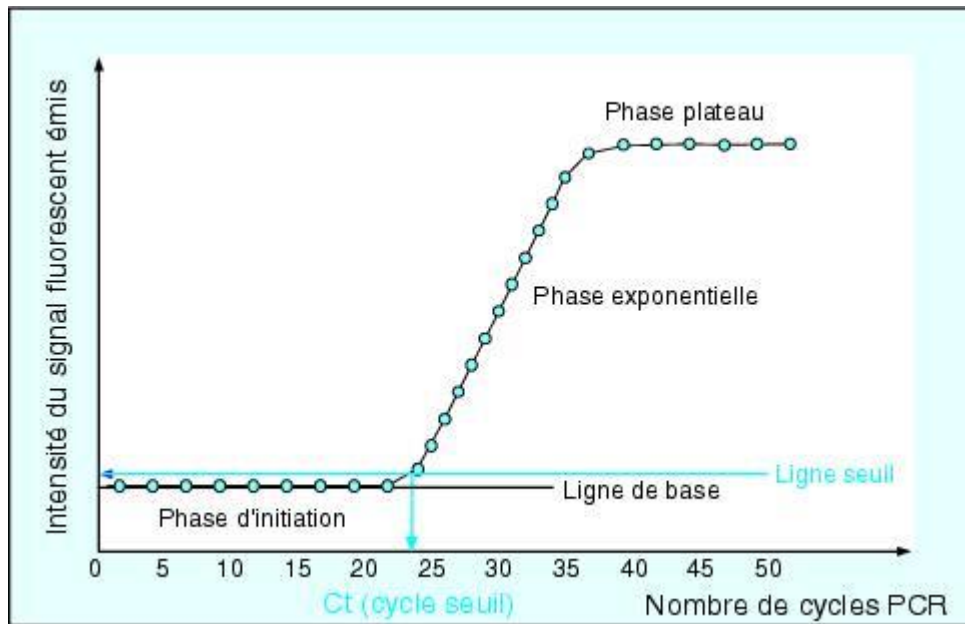
La technique de PCR est un outil de diagnostic moléculaire, elle permet de mettre en évidence la présence de l'ADN du parasite lorsque celui-ci est présent dans l'échantillon analysé. Il est possible d'utiliser la méthode conventionnelle ou une méthode en temps réel, également appelée PCR quantitative (qPCR) qui permet de donner un ordre de grandeur relatif de la quantité de parasites présents dans l'échantillon.

Le principe de cette méthode est d'amplifier l'ADN du parasite présent dans l'échantillon afin de pouvoir le mettre en évidence par fluorescence. Les amorces qui permettent d'initier les cycles d'amplification sont complémentaires du fragment du gène codant pour la partie ITS-1 de l'ARN ribosomal de *B. besnoiti* (Cortes et al., 2007 ; Schares, Maksimov, et al., 2011 ; Schares et al., 2013).

Cette méthode est utilisable à partir de matrices variées : sang prélevé avec un tube EDTA (anticoagulant), écouvillon vaginal, biopsie cutanée (Álvarez-García et al., 2013 ; Schares et al., 2013). Une analyse par PCR est donc possible sur la peau en phase chronique mais également sur le sang lors de suspicion de besnoitiose en phase aiguë.

En France, un test de PCR quantitative est disponible : Adiavet™ Besnoitia Real-Time (BiOX, France). Dans le dépistage de la forme aiguë de la maladie (donc dépistage des tachyzoïtes dans le système vasculaire), un résultat positif par ce test permet de confirmer une suspicion de besnoitiose mais un résultat négatif ne permet pas de l'exclure. Plusieurs résultats négatifs ont été obtenus sur du sang d'animaux suspects en phase aiguë et qui ont été testés positifs en sérologie peu de temps après les phases cliniques. Cela peut être expliqué par le fait que la forme tachyzoïte se situe principalement dans les cellules endothéliales et que son passage sous forme libre dans le sang soit bref.

Sur les animaux qui expriment des signes cliniques de la phase de sclérodermie, les résultats sont plus constants, les valeurs de Ct (nombre de cycles d'amplification nécessaire pour détecter l'ADN du parasite) sont souvent faibles (Ct < 20), cela signifie que peu de cycles sont nécessaires pour parvenir à détecter l'ADN parasitaire, c'est donc que l'échantillon contenait déjà beaucoup d'ADN donc beaucoup de parasites. Finalement, plus la valeur du Ct est faible, plus l'échantillon contient de parasites, c'est ainsi qu'on obtient un résultat quantitatif (Alzieu et al., 2017).



*Légende : la courbe d'amplification est composée de 3 phases successives : la phase d'initiation, la phase exponentielle et la phase de plateau la ligne de base correspond au bruit de fond de fluorescence observé lors des premiers cycles d'amplification ; la ligne seuil correspond au seuil de positivité, elle est coupée par la ligne d'amplification en un point qui a pour abscisse la valeur Ct de l'échantillon.*

Figure 33 : Représentation d'une courbe d'amplification obtenue par qPCR (Tse, Capeau, 2003).

La PCR quantitative permet ainsi d'identifier les bovins « forts contaminateurs », ce sont les individus dont le derme est riche en kystes à bradyzoïtes. Ces « forts contaminateurs » sont constitués des bovins en phase clinique de la maladie et d'une partie des infectés asymptomatiques. La qPCR permet en particulier d'identifier les bovins appartenant à ce second groupe. Une étude sur 518 bovins a permis de déterminer un seuil de Ct de 36 en dessous duquel un bovin était considéré comme « fort contaminateur ». Les bovins dont la valeur de CT se situe entre 36 et 40 sont considérés comme douteux et au-delà d'une valeur de 40, les bovins sont faiblement parasités et représente donc un risque moins élevé de contamination (Bottari, 2019).

Il existe également des méthodes indirectes qui permettent de détecter des marqueurs de l'infection par le parasite. Ce sont les techniques d'agglutination, d'immunofluorescence et de sérologies ELISA ou Western Blot. Elles sont toutes basées sur le principe de la réaction anticorps-antigène.



### *Test de microagglutination (MAT)*

La réaction anticorps-antigène est à l'origine d'une agglutination de protéines. Ce test consiste à mettre en contact le sérum de l'animal à tester avec des antigènes de tachyzoïtes.

Si le sérum testé contient des anticorps contre *B. besnoiti*, un phénomène d'agglutination se produit ce qui peut être à l'origine d'une opacité visible à l'œil nu. Le seuil de positivité retenu lors de l'étude fondamentale est une agglutination nette à la dilution de 1:160. Si le sérum testé ne contient pas d'anticorps contre *B. besnoiti*, les antigènes de tachyzoïtes sédimentent alors en anneau ce qui est signe d'un résultat négatif (Waap et al., 2011).

Cette méthode présente les avantages d'un faible coût et la possibilité de réalisation de nombreux tests rapidement, cela en fait une technique très intéressante dans le cadre de la recherche. Elle ne requiert pas d'équipements sophistiqués et coûteux comme les méthodes suivantes (Gutiérrez-Expósito et al., 2017)

Cependant, ce test ne constitue pas un test de certitude car des réactions croisées sont possibles avec des anticorps contre *T. gondii*, *Sarcocystis spp.*, et *N. caninum*. De plus, la sensibilité et la spécificité de ce test ont été obtenues avec un panel de sérum limité (Waap et al., 2011).

### *Immunofluorescence indirecte (IFI)*

Cette méthode permet d'obtenir un résultat semi-quantitatif, elle n'est pas utilisée en routine mais elle est plutôt réservée au domaine de la recherche.

Ce test consiste à mettre en contact le sérum de l'animal à tester avec des antigènes de tachyzoïtes fixés sur une lame puis d'ajouter après rinçage des anticorps secondaires capables de fluorescence, enfin un dernier rinçage a lieu. Si le sérum à tester contient des anticorps contre *B. besnoiti* alors il est possible d'observer une fluorescence au microscope à fluorescence au grossissement x400.

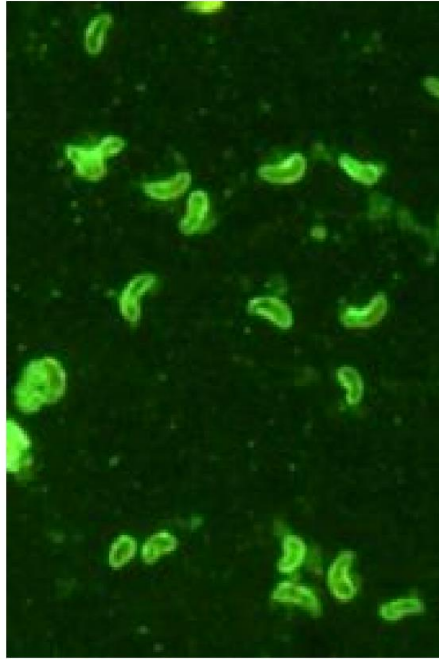


Figure 34 : Photographie de tachyzoïtes observés au microscope à ultra-violets sur une lame témoin positif à la dilution 1:200, grossissement x1600 (Lenfant, 2013).

Lorsque la dilution du sérum est faible (1:64, 1:100), il est possible d'observer des réactions croisées avec des anticorps contre *N. caninum*. Le seuil de positivité retenu est une fluorescence ininterrompue sur tout le contour du tachyzoïte à la dilution 1:200 du sérum (Shkap et al., 2002 ; Lenfant, 2013).

#### *Enzyme linked immunosorbant assay (ELISA)*

Les antigènes utilisés pour la méthode ELISA sont des antigènes de tachyzoïtes solubles et totaux. Ils sont obtenus par culture de tachyzoïtes *in vitro* puis purifiés à l'aide d'une colonne de chromatographie et lysés. Ces antigènes peuvent induire des réactions croisées avec des anticorps contre d'autres protozoaires proches de *B. besnoiti* comme *N. caninum* et *Sarcocystis spp.* (Schaes, Basso, et al., 2011 ; García-Lunar et al., 2013).

Cette méthode consiste à mettre en contact ces antigènes avec le sérum du bovin à tester. Si ce sérum contient des anticorps, alors des complexes immuns vont se former. Après rinçage, on ajoute des anticorps secondaires couplés à une enzyme qui vont venir se fixer sur les complexes immuns. Enfin, un dernier rinçage est réalisé puis on ajoute le substrat de l'enzyme, la réaction enzymatique permet d'obtenir un signal chromogénique qui est quantifié par

spectrophotométrie permettant ainsi de mettre en évidence la présence de complexes immuns. Si le sérum testé ne contient pas d'anticorps, alors aucun complexe immun ne se forme et aucun signal n'est observé.

Les tests disponibles en France présentent de bons résultats d'efficacité par rapport à d'autres tests du marché européen. Ils diffèrent légèrement entre eux au niveau de leur sensibilité et spécificité (García-Lunar et al., 2013).

Le test ID Screen Besnoitia Indirect<sup>®</sup> (IDVET, France) a une sensibilité de 97,2% et une spécificité de 100%, il est donc possible d'obtenir un résultat faussement négatif avec ce test.

D'autres tests développés plus récemment : Apure-BbELISA<sup>®</sup> et BbSALUVET ELISA 2.0<sup>®</sup> présentent de très bons résultats de sensibilité et de spécificité. Ils seraient également capables de détecter la présence d'anticorps de façon plus précoce : entre 7 et 8 jours après le début des signes cliniques (Schares et al., 2013).

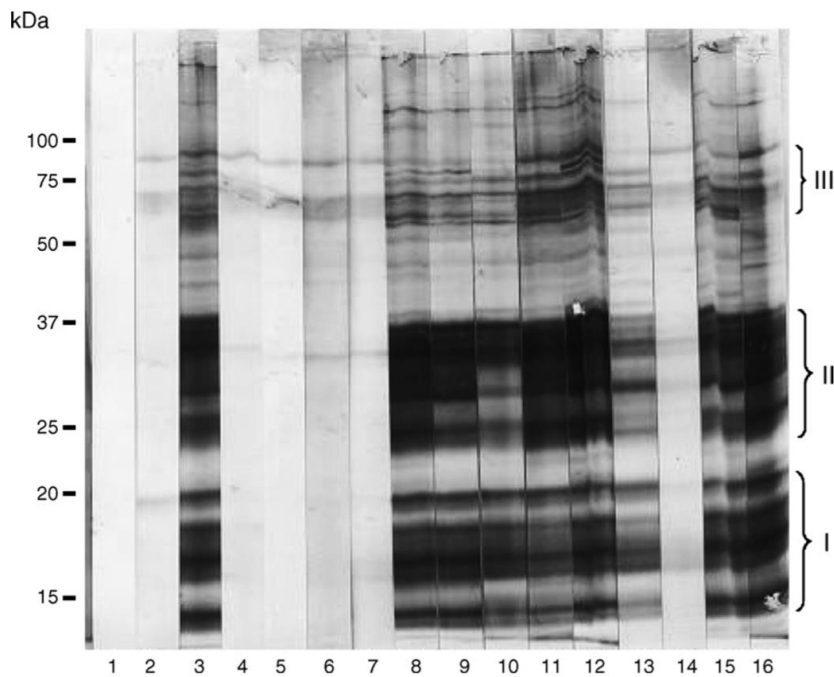
La méthode ELISA est facile à mettre en œuvre et peu coûteuse, elle présente aussi l'avantage d'être bien maîtrisée par les techniciens de laboratoire car elle est utilisée en routine pour la détection d'animaux porteurs d'autres maladies. C'est donc une technique qui est très utilisée pour connaître le statut sérologique de chaque animal au sein d'un cheptel ou dans les zones de forte prévalence.

Un test ELISA sur le lait est disponible depuis 2017, il montre une excellente corrélation individuelle avec les résultats obtenus sur sérum. En tant qu'outil diagnostique individuel il peut s'avérer très utile mais il possède également l'avantage de pouvoir constituer un bon indicateur de la séroprévalence d'un cheptel lorsqu'il est utilisé sur le lait de mélange. De très bons résultats ont été obtenus pour le dépistage de cheptels à forte séroprévalence (> 50%). Ce test est le premier à pouvoir être utilisé sur la matrice lait, il permet de mieux connaître la situation des cheptels laitiers vis-à-vis de la besnoitiose (Alzieu et al., 2019).

## Western Blot (WB)

Le Western Blot est la méthode de référence pour le dépistage sérologique de la besnoitiose bovine (García-Lunar et al., 2013).

Pour la réalisation de ce test, il est nécessaire de cultiver des tachyzoïtes *in vitro* sur cellules. A partir de ces tachyzoïtes, des antigènes sont obtenus et séparés par électrophorèse des protéines selon leur poids moléculaire. On obtient trois domaines principaux : faible (12-20 kDa), moyen (23-38 kDa) et fort poids moléculaire (60-90 kDa). Ces antigènes sont ensuite transférés sur une membrane de nitrocellulose sur laquelle est ajouté le sérum du bovin à tester. La présence d'anticorps est révélée grâce à l'ajout d'anticorps secondaires couplés à une enzyme peroxydase par la présence de bandes colorées spécifiques dans les domaines d'antigènes. Un sérum testé est toujours comparé avec un témoin positif (sérum de bovin contenant des anticorps) et des témoins négatifs.



Légende : 1 : aucun sérum ajouté ; 2 : témoin négatif (sérum de bovin non infecté) ; 3 : témoin positif (sérum de bovin infecté par *B. besnoiti*) ; 4-7 : sérums de bovins non infectés qui avaient eus des résultats douteux par la méthode ELISA ; 8-16 : sérums de bovins infectés asymptomatiques (kystes identifiés par histologie) ; I, II et III : les 3 domaines d'antigènes

Figure 35 : Photographie de résultats de Western Blot (Cortes et al., 2006).

Dans le cas particulier du WB réalisé à l'ENVT, les critères de positivité pour un sérum sont la présence de quatre bandes spécifiques réparties sur au moins deux des trois domaines d'antigènes. Ces critères très stricts confèrent à ce WB une très bonne spécificité (98,5%) ce qui diminue légèrement sa sensibilité (90,9%). De très faibles réactions croisées ont été observées avec d'autres protozoaires génétiquement proches comme *N. caninum* ce qui renforce la fiabilité de ce test (Shkap et al., 2002 ; García-Lunar et al., 2013).

D'autres WB développés en Allemagne et en Espagne utilisent des critères d'inclusion un peu moins strictes ce qui leur confère de très bons résultats avec une sensibilité et une spécificité proche de 100% mais ils obtiennent parfois des résultats faux positifs (García-Lunar et al., 2013).

Le WB permettrait une détection des anticorps plus précoce que la sérologie ELISA : il est possible d'obtenir un résultat positif entre 15 et 20 jours après le début de la phase fébrile (Alzieu et al., 2017). Cependant, c'est une méthode qui est plus coûteuse et plus complexe à réaliser, c'est pour cette raison qu'elle n'est pas appliquée pour le diagnostic à grande échelle. Son utilisation est recommandée en cas de résultat douteux par sérologie ELISA ou pour le diagnostic d'une suspicion clinique dans une zone d'émergence (Cortes et al., 2006 ; Alzieu, Jacquet, 2009 ; García-Lunar et al., 2013). Cette méthode permet également la détection des sérums qui ont eu un résultat faux négatif en IFI car le WB utilise des antigènes totaux de tachyzoïtes alors que l'IFI ne détecte que les anticorps dirigés contre les antigènes de surface des tachyzoïtes.

### *Bilan (figure 36)*

Les méthodes indirectes sont basées sur la détection d'anticorps contre *B. besnoiti* dans le sérum d'un bovin infecté, cependant les anticorps sont les produits de la réaction immunitaire, ils ne sont donc pas présents dès le début de l'infection, lors d'infection expérimentale ils apparaissent entre le 14<sup>ème</sup> et le 20<sup>ème</sup> jour post infection. Parmi ces méthodes, la sérologie ELISA est la plus facile à utiliser pour le diagnostic d'un grand nombre de bovins mais elle donne quelques résultats douteux ou proches du seuil de positivité pour lesquels il est intéressant de réaliser une seconde analyse à l'aide d'un Western Blot pour obtenir un résultat plus fiable. Le Western Blot permet également un diagnostic plus précoce que les autres méthodes sérologiques. Cependant, même s'il est en théorie possible d'obtenir des résultats positifs trois semaines après l'infection par le parasite, le diagnostic sérologique demeure délicat à cette période de l'infection. Afin d'augmenter la sensibilité des tests réalisés, il est recommandé de réaliser deux sérologies ELISA à environ trois semaines d'intervalle lors de suspicion d'un cas aigu de besnoitiose (Jacquiet, Alzieu, 2011).

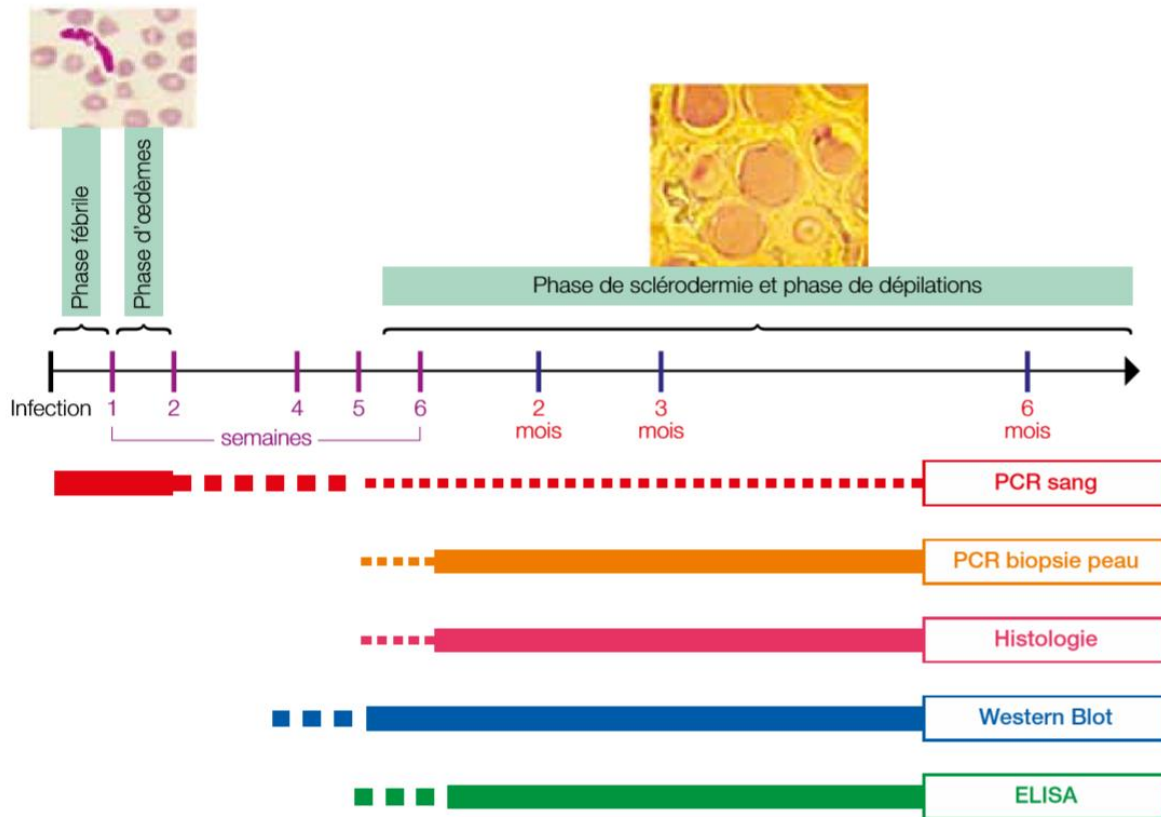
Les analyses sérologiques sont donc utilisées pour confirmer des suspicions cliniques mais elles sont surtout primordiales pour la détection des bovins infectés asymptomatiques dont le rôle épidémiologique ne doit pas être négligé car ils peuvent être une source de parasites importante et donc être à l'origine de la contamination d'autres bovins (Alzieu et al., 2017). Certains bovins infectés chroniques et porteurs de kystes ont un titre en anticorps faible ce qui peut également causer des problèmes de détection (Fernandez-Garcia et al., 2010 ; Schares et al., 2010). En zone endémique, un faible titre d'anticorps peut être en lien avec un faible nombre de kystes parasitaires bien que cela ne soit pas démontré (Gutiérrez-Expósito et al., 2017).

Les tests directs comme la PCR et l'histopathologie permettent de confirmer la présence du parasite ou de son ADN quelle que soit sa forme et on peut les réaliser à partir de plusieurs matrices (biopsies, frottis, sang).

Lors de la phase aiguë, la méthode la plus fiable semble être la PCR sur sang lorsque le bovin est en phase clinique de la maladie mais pour les animaux infectés sub-cliniques ou asymptomatiques, la fiabilité diminue (Dubey et al., 2003 ; Castillo et al., 2013).

Lors de la phase de sclérodémie, l'histologie et la PCR apportent de bons résultats sur les échantillons de peau prélevés dans les zones les plus atteintes, elles peuvent aussi être

utilisées sur des prélèvements réalisés lors d'autopsie. La PCR est également utilisable sur les bovins asymptomatiques, son résultat semble plus fiable lorsque la biopsie est réalisée à la base de la queue.



*Légende : l'épaisseur du trait de couleur est proportionnelle à la sensibilité maximale du test, les pointillés indiquent qu'il est possible d'obtenir un résultat positif de façon inconstante.*

Figure 36 : Schéma représentant les différentes possibilités de diagnostic de laboratoire de la besnoitiose utilisables selon le stade d'infection (Alzieu et al., 2019)

La PCR quantitative (qPCR) apporte également l'avantage de donner un résultat quantitatif, elle permet d'obtenir un ordre de grandeur du nombre de parasites dans la peau des bovins. Elle est donc utile pour la détection des « bons donneurs » parmi les bovins asymptomatiques. Le seuil de Ct pour qualifier un bovin de « bon donneur » a été fixé à 36, entre 36 et 40 le bovin est douteux. Cela peut être intéressant dans une stratégie d'assainissement car l'élimination des bovins en phase clinique de sclérodémie et « bons donneurs » doivent être éliminés le plus rapidement possible.

Tableau 4 : Comparaison des méthodes de diagnostic de la besnoitiose bovine selon leur seuil de positivité, leur sensibilité et spécificité, leurs avantages et leurs limites.

Test	Seuil	Se – Sp (%)	Avantages	Limites
<b>Méthodes directes</b>				
<b>Raclage</b>	Observation de kystes parasitaires ou de parasites libres		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rapidité et facilité de réalisation</li> <li>• Faible coût</li> <li>• Bonne sensibilité sur les bovins en phase de sclérodermie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diagnostic tardif</li> <li>• Peu sensible pour les animaux asymptomatiques (25% de porteurs de kystes scléreaux)</li> </ul>
<b>Histopathologie</b>			<ul style="list-style-type: none"> <li>• Faible coût</li> <li>• Bonne sensibilité sur les bovins en phase de sclérodermie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diagnostic tardif</li> <li>• Peu sensible pour les animaux asymptomatiques</li> </ul>
<b>PCR</b>	Fort contaminateur : Ct ≤ 36	100 – 99,8	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Excellente sensibilité sur prélèvement cutané, scléral ou vaginal</li> <li>• qPCR donne un résultat quantitatif</li> <li>• PCR sur sang permet le diagnostic dès la phase fébrile</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Réactions croisées possibles avec d'autres espèces du genre <i>Besnoitia</i></li> <li>• Résultats inconstants sur sang en phase aigue</li> <li>• Coût : 25 € TTC (ENVV)</li> </ul>
<b>Méthodes indirectes</b>				
<b>MAT</b>	1:160	97,2 – 99,3	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rapidité et faible coût</li> <li>• Facilité de réalisation</li> <li>• Possibilité de réaliser un grand nombre de tests</li> <li>• Intéressant pour la recherche</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Réactions croisées possibles</li> <li>• Non utilisable en phase aigüe</li> </ul>
<b>IFI</b>	1:200	91,8 – 100	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diagnostic précoce (10 à 22 jours post-infection)</li> <li>• Résultat semi-quantitatif</li> <li>• Intéressant pour la recherche</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Réactions croisées possibles aux dilutions &lt; 1:200</li> <li>• Sensibilité diminuée si le nombre de kystes est faible</li> <li>• Réalisation difficile et technique non standardisée</li> <li>• Coût : 15 € TTC (ENVV)</li> </ul>



<b>ELISA</b> Priocheck besnoitia Ab 2.0	15 %	100 – 98,8	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Méthode standardisée et facile à réaliser</li> <li>• Possibilité de réaliser un grand nombre de tests, diagnostic de masse</li> <li>• Détection précoce possible dans quelques cas (dès 7 jours)</li> <li>• Coût : 10 € TTC (ENVT)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Réactions croisées possibles</li> <li>• Certains infectés chroniques non détectés (faible titre en anticorps)</li> <li>• Confirmation d'un résultat douteux par WB</li> <li>• Peu sensible dans les phases précoces, détection possible généralement à partir de 22 jours post-infection</li> </ul>
<b>ELISA</b> ID Screen Besnoitia Indirect IDVET®	70 %	97,2 – 100		
<b>ELISA</b> INGEZIM BES 12 BesK1 INGENASA®	9 %	97,2 – 93		
<b>ELISA</b> ID Screen® Besnoitia Milk Indirect	25 % en individuel  20 % en mélange	94,9 – 100 en individuel ? – 100 en mélange	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Méthode utilisable sur le lait individuel ou du tank</li> <li>• Méthode facile et pratique pour connaître le statut d'un élevage laitier</li> <li>• Facilité de prélèvement lors de la traite (volume nécessaire entre 10 et 30 mL)</li> <li>• Seulement 3 analyses par an permettent en général de tester toutes les vaches en lactation du troupeau</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eviter le lait de colostrum qui peut donner des résultats non spécifiques à cause de sa forte concentration en Ig</li> <li>• Apparition des anticorps dans le lait plus tardive que dans le sérum</li> <li>• Concentration des anticorps 20 à 30 fois plus faible que dans le sérum</li> <li>• Détection difficile sur le lait de grand mélange dans les élevages à faible prévalence</li> </ul>
<b>WB</b> (ENVT)	Présence de 3 ou 4 bandes sur au moins 2 des 3 domaines d'antigènes	98,5 – 90,9	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Détection précoce : entre 15 et 21 jours post-infection</li> <li>• Peu de réactions croisées</li> <li>• Permet une confirmation des autres méthodes sérologiques : gold standard</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Méthode lourde à mettre en œuvre, peu adaptée au diagnostic de masse</li> <li>• Coût : 20 € TTC (ENVT)</li> </ul>
<b>WB</b> Bb-Spain1 (Extraits de tachyzoïtes totaux)		98,1 – 97,7		
<b>WB</b> (Bradyzoïtes)		99 – 97,7		

## 1.6 Moyens de lutte

### 1.6.1 Traitement des cas cliniques

Le traitement des bovins en phase clinique aiguë de besnoitiose doit être réalisé le plus rapidement possible. La précocité d'intervention conditionne en partie la réussite du traitement. Le traitement doit être initié pendant la phase fébrile ou au plus tard au début de la phase des œdèmes (Alzieu et al., 2017). Le traitement ne permet pas d'éliminer la totalité des parasites mais il permet de réduire les conséquences de la maladie ce qui permet généralement de parvenir au terme d'une gestation ou d'engraisser le bovin pour une réforme rapide.

En phase de sclérodémie, le traitement est déconseillé car inefficace, les parasites sont protégés de l'action de l'antibiotique par l'épaisse paroi des kystes à bradyzoïtes comme cela est le cas pour d'autres maladies parasitaires (Jacquiet et al., 2010).

#### *Sulfamidothérapie*

Les molécules utilisées pour le traitement des formes cliniques aiguës sont des antibiotiques qui possèdent également une activité anticoccidienne : les sulfamides. L'efficacité des sulfamides est bonne mais uniquement s'ils sont utilisés à des posologies supérieures à celles préconisées dans les RCP. Il convient donc de respecter des délais d'attente forfaitaires.

Le traitement est long, il est recommandé de le réaliser pendant 7 à 10 jours, la première injection doit être réalisée par voie intraveineuse par le vétérinaire, ensuite l'éleveur peut procéder à une injection par voie intramusculaire puis assurer un relais par voie orale. En pratique, la prescription diffère souvent de ces recommandations et son observance est très mauvaise.

Attention, il faut éviter les spécialités qui associent les sulfamides au triméthoprim, premièrement car il présente un risque élevé de toxicité administré aux posologies recommandées de sulfamides, et secondement car il ne possède pas d'effet anticoccidien.

Tableau 5 : Posologies d'utilisation de la sulfadimidine et de la sulfadiméthoxine injectables selon l'AMM et les recommandations en cas de besnoitiose aigüe (Alzieu, Jacquet, 2011 ; www.ircp.anmv.anses.fr/).

<b>Principe actif</b> Nom déposé (Laboratoire)	<b>AMM</b>	<b>Besnoitiose</b>
<b>Sulfadimidine</b> • SULFADIMERAZINE® (Qalian)	90 mg/kg soit 3 mL pour 10 kg de PV IV ou IM pendant 3j	150-200 mg/kg soit 5 à 7 mL pour 10 kg de PV IV ou IM à J0 et J2
<b>Sulfadiméthoxine</b> • SULFALON® (Virbac) • ACTI-METHOXINE® (Biové)	20 mg/kg soit 1 mL pour 10 kg de PV IV ou IM pendant 3j	80 mg/kg/j soit 4 mL pour 10 kg de PV IV ou IM à J0 et J2

*Légende : IV : voie intra-veineuse ; IM : voie intra-musculaire ; PV : poids vif*

Après les 2 injections, la prise en charge est poursuivie par voie orale avec les mêmes principes actifs : Sulfadimidine (SULFADI®, SULFADIMERAZINE®, SULFALUTYL®) et Sulfadiméthoxine (SUNIX®, ACTI-METHOXINE®, EMERICID®, METOXYL®).

En pratique, les principales causes de réduction d'efficacité voire d'échec du traitement sont un sous dosage, une durée de traitement trop courte et un traitement trop tardif.

#### *Autres possibilités de traitement*

Certains praticiens associent les sulfamides à la spiramycine à 100 000 UI/kg ou au toltrazuril per os mais ce dernier présente des résultats variables et a l'inconvénient d'être assez onéreux (Franc, Cadiergues, 1999). L'halofuginone n'a pas montré de résultats très concluants (Freudiger, 2008).

Les tétracyclines ont montré leur efficacité *in vitro* et chez la gerbille à la dose de 10 mg/kg de PV mais chez les bovins elle ne présente un intérêt qu'à la dose de 200 mg/kg de PV soit environ 10 fois les recommandations usuelles, en une seule injection ponctuelle ce qui n'est pas réalisé en élevage (Alzieu, Jacquet, 2011).

Une étude a montré l'efficacité du nitazoxanide et ses dérivés sur *B. besnoiti in vitro* mais des études supplémentaires *in vivo* sont nécessaires (Jacquet et al., 2010).

La sérothérapie a été envisagée sur les gerbilles avec un anticorps monoclonal dirigé contre la forme tachyzoïte de *B. besnoiti* mais son efficacité s'est révélée décevante *in vivo* (Shkap et al., 1995).

### *Traitements symptomatiques*

La prise en charge médicale est complétée par des traitements symptomatiques. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont fortement recommandés afin de réduire l'inflammation et l'hyperthermie : kétoprofène, acide tolfénamique ou flunixin (Legrand, 2003 ; Rostaher et al., 2010). Des diurétiques peuvent être administrés pour réduire les œdèmes : furosémide et thiazidiques (Alzieu, Jacquiet, 2011), ils peuvent éventuellement être associés à des corticoïdes qui diminuent l'inflammation péri-vasculaire (Thomas, 2007).

#### 1.6.2 Prophylaxie médicale

La vaccination a rapidement été considérée comme un moyen de contrôle pertinent de *B. besnoiti*, mais actuellement, seul deux vaccins vivants atténués ont été développés et aucun ne dispose d'une AMM en Europe (Alzieu et al., 2017 ; Álvarez-García et al., 2013).

Historiquement, Bigalke avait remarqué qu'il existait une protection croisée entre la souche de *B. besnoiti* des gnous et celle des bovins. L'inoculation de la souche des gnous à un bovin n'engendrait pas de signes cliniques et empêchait ensuite l'apparition d'une phase clinique lors d'inoculation de la souche bovine (Bigalke et al., 1974). Le vaccin disponible en Afrique du Sud est basé sur ce principe.

Le second vaccin a été élaboré à partir d'une souche bovine de *B. besnoiti* qui est entretenue sur culture cellulaire, il est disponible en Israël (Pipano, 1997).

Ces vaccins permettent d'éviter l'apparition de formes cliniques de la maladie mais ils n'empêchent pas l'apparition de kystes parasitaires dans la peau des bovins vaccinés (Bigalke

et al., 1974). Toutefois, leur proportion de kystes dans le derme est réduite (0 à 1,8 %) par rapport à celle de la population non vaccinée (4 à 35 %) (Alzieu et al., 2017).

En France, des essais ont été envisagés sur des lapins afin de tester plusieurs candidats vaccins (Liénard et al., 2015) mais aucune commercialisation n'est envisagée actuellement.

### 1.6.3 Prophylaxie sanitaire

La prophylaxie sanitaire semble indispensable compte tenu de l'absence de traitement entièrement stérilisant et de l'indisponibilité des vaccins.

Il est nécessaire de se placer à l'échelle du cheptel et non à celle de l'individu pour optimiser la gestion globale de la maladie. La besnoitiose n'est pas une maladie réglementée, cela implique qu'il n'y a pas de contrôles obligatoires lors d'achat d'animaux ni de dépistage généralisé même si dans certains départements, les GDS locaux proposent l'analyse sérologique besnoitiose pour toute introduction dans un cheptel (Alzieu et al., 2017).

L'extension récente de la besnoitiose est due à des contaminations intercheptels surtout par le transfert par camion d'animaux infectés dans un élevage sain et à des contaminations intracheptels par les insectes hématophages ou l'utilisation multiple des matériaux d'injections. Les mesures de prophylaxie sanitaire ont pour objectif de limiter ces modes de contaminations.

Les stratégies utilisées sont différentes en fonction de la situation sanitaire de l'élevage considéré.

#### *Cheptel indemne*

Un cheptel indemne ou sain est un cheptel où le parasite est totalement absent, c'est-à-dire que c'est un élevage qui ne contient aucun animal en phase clinique de besnoitiose et aucun

animal infecté asymptomatique. Afin de conserver ce statut, il est nécessaire d'appliquer deux mesures :

- 1<sup>ère</sup> mesure : confirmation du statut indemne

Cette confirmation est réalisée par dépistage sérologique individuel de tous les animaux de plus de 6 mois, la méthode ELISA est utilisée en routine. L'élevage est indemne si tous les résultats sont négatifs. Les cas douteux doivent être analysés par Western Blot.

- 2<sup>nd</sup> mesure : contrôle des introductions

Il est ensuite essentiel d'éviter l'introduction du parasite dans l'élevage via un animal infecté asymptomatique. Il est donc nécessaire de réaliser un contrôle sérologique systématique lors de chaque introduction : achats de génisses pour le renouvellement, achats de taureaux pour la reproduction, achats d'animaux pour engraissement, pensions... Ce dépistage fait partie dans certains départements du « pack intro » : sérologies IBR, paratuberculose, néosporose et besnoitiose proposé lors d'achats. Son application a permis d'éviter l'introduction de la maladie dans de nombreux cheptels (Bottari, 2019).

Pour minimiser davantage le risque d'introduction, il est recommandé de réaliser deux sérologies à 6 semaines d'intervalle (Jacquiet, Alzieu, 2011) bien que cela soit très rarement réalisé en pratique. Ce double contrôle est d'autant plus pertinent si l'animal en question provient d'une zone endémique ou d'émergence de la besnoitiose (Álvarez-García et al., 2013).

Pour les troupeaux transhumants, l'estive collective est déconseillée car il est parfois difficile de connaître le statut sanitaire des autres troupeaux. Des tests sérologiques devraient également être réalisés sur tous les animaux au retour de la transhumance.

### *Cheptel non indemne*

Un cheptel non indemne est un cheptel qui contient au moins un bovin en phase clinique de besnoitiose ou au moins un animal infecté asymptomatique. L'objectif est en général de

retrouver un statut indemne, cela peut être très long et complexe en particulier dans les cheptels à fortes séroprévalence. Il faut alors hiérarchiser les réformes selon un ordre de priorité.

- 1<sup>ère</sup> mesure : élimination des bovins en phase clinique et porteurs de kystes oculaires

Cette mesure doit concerner de façon prioritaire les bovins « bons donneurs », pour rappel, ils sont constitués des bovins ayant présenté des signes cliniques, des bovins porteurs de kystes oculaires et d'une partie des infectés asymptomatiques.

Dans un premier temps, il est facile d'identifier les bovins en phase clinique et les porteurs de kystes oculaires. Ces bovins doivent être isolés du reste du troupeau, idéalement ils doivent être séparés par plus de 20 mètres de distance, il faut aussi traiter les éventuels bovins en phase aigüe de la maladie. Ces bovins peuvent être conservés le temps de parvenir au terme d'une gestation ou afin de les engraisser mais dans tous les cas, leur réforme doit être effectuée le plus rapidement possible.

- 2<sup>nd</sup> mesure : estimation de la séroprévalence et stratégies de contrôle

Afin de connaître la séroprévalence du cheptel, il faut réaliser des tests sérologiques individuels sur tous les animaux de plus de 6 mois, la méthode ELISA est utilisée en routine et les cas douteux doivent être testés par Western Blot.

En fonction du taux de séroprévalence qui est ainsi déterminé, deux stratégies sont possibles.

Si la séroprévalence est faible (inférieure à 10 %), il est conseillé de procéder à la réforme des animaux séropositifs le plus rapidement possible

Si la séroprévalence est élevée (supérieure à 30 %), la réforme rapide et massive de tous les individus séropositifs est trop contraignante pour l'éleveur, il est donc préférable de procéder à des réformes plus étalées dans le temps. L'objectif devient donc de conserver provisoirement ces animaux tout en évitant la contamination des bovins sains. Pour cela, il est possible, selon la motivation et les moyens matériels de l'élevage, d'avoir recours à une conduite du troupeau en lots séparés. Le principe consiste à réaliser un lot avec les animaux séronégatifs et un lot avec les animaux séropositifs et de les séparer idéalement par plus de 100 mètres mais une

distance de 20 mètres est déjà assez pertinente. L'idée est d'éviter la transmission du parasite par les insectes piqueurs, puis de procéder progressivement à la réforme des animaux séropositifs. L'ordre d'élimination des animaux séropositifs reste le même : en priorité les animaux « bons donneurs » qu'il est possible de déterminer parmi les animaux infectés asymptomatiques par qPCR (Ct < 36) puis le reste des animaux séropositifs (Bottari, 2019).

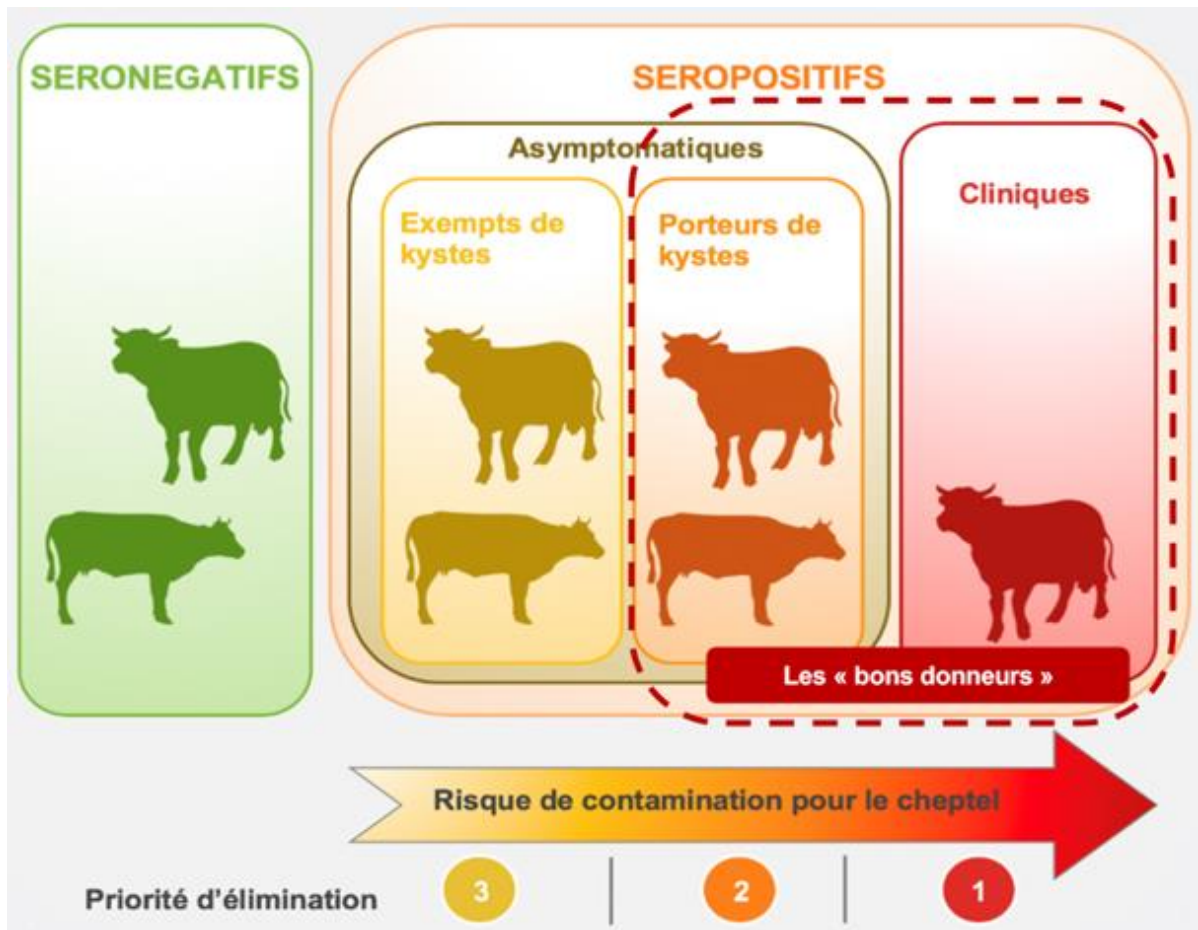


Figure 37 : Schéma représentant les différentes catégories de bovins existant dans un cheptel non indemne de besnoitiose et l'ordre prioritaire de réforme (Bottari, 2019).

Il est également possible en complément de réaliser des traitements antiparasitaires externes pendant les périodes les plus propices aux insectes piqueurs (Alzieu et al., 2017) ou d'autres moyens de lutte contre les vecteurs. En procédant de cette manière, l'éradication du parasite de l'élevage est possible mais elle doit se faire sur plusieurs années. C'est une organisation qui est très contraignante pour l'éleveur en matière de moyens matériels, agricoles et en charge de travail mais avec beaucoup de volonté c'est une méthode efficace. Le GDS et



le vétérinaire traitant jouent un rôle primordial dans l'accompagnement de l'éleveur afin de gérer au mieux cette situation sanitaire.

- 3<sup>ème</sup> mesure : contrôle des introductions

De façon similaire à un cheptel indemne, il est nécessaire de réaliser des tests sérologiques ELISA sur tous les animaux provenant d'un autre élevage et entrant dans le troupeau des animaux sains.

Dans le cas particulier des troupeaux transhumants, les cheptels non indemnes de besnoitiose ne devraient envoyer en estives collectives que les animaux séronégatifs et procéder à des tests sérologiques au retour de la transhumance.

Dans les cheptels non indemnes, une vigilance accrue devrait être accordée à l'utilisation multiple d'aiguilles souillées, en particulier pendant les séances de vaccination et de prophylaxie.

#### *Apparition d'un premier cas dans un élevage*

Lors d'une suspicion clinique de besnoitiose dans un cheptel qui était considéré jusque-là comme indemne, il convient de procéder comme dans le cas d'un cheptel non indemne. La figure 38 permet de résumer la conduite à tenir.

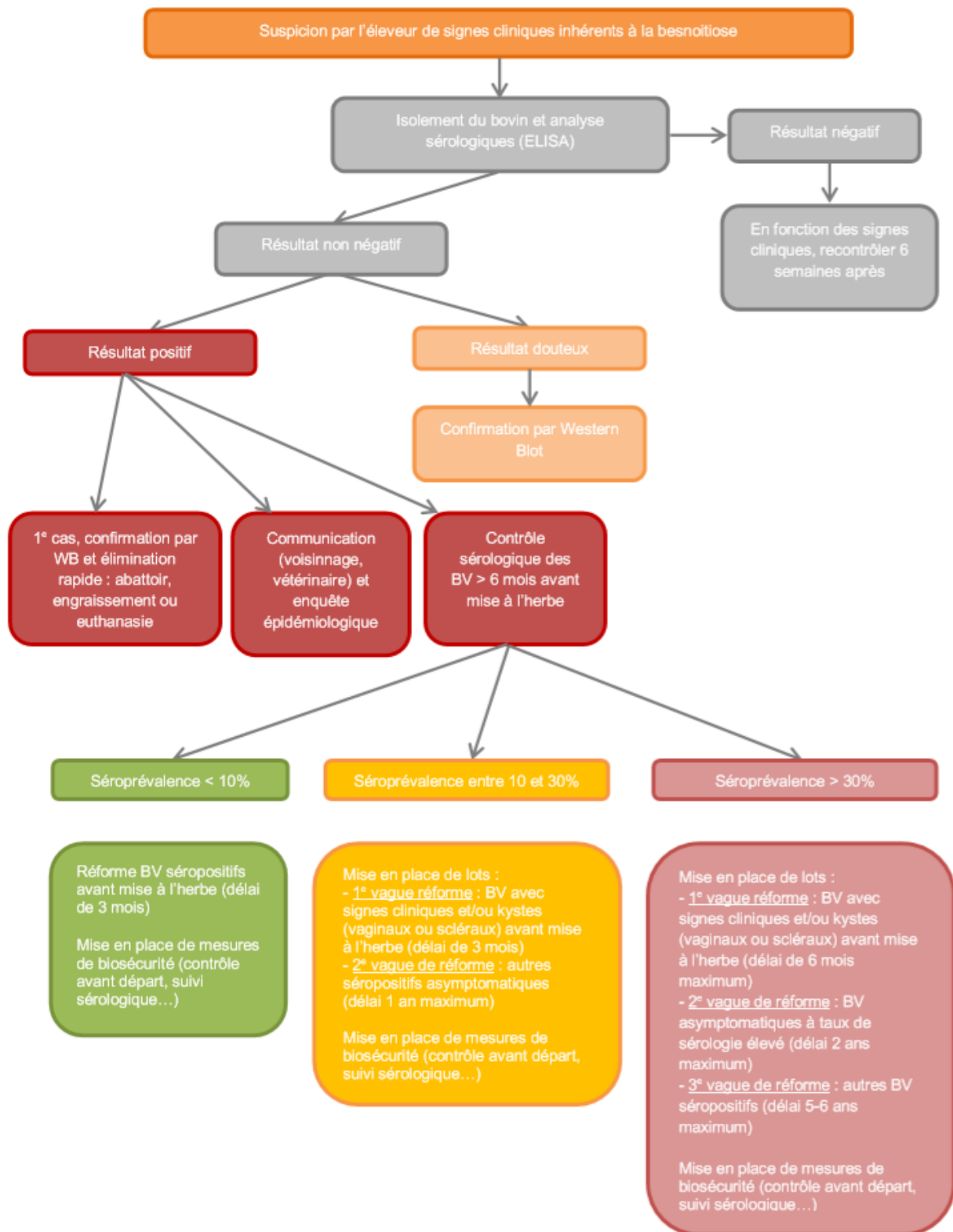


Figure 38 : Logigramme de la gestion à l'échelle de l'élevage d'une première suspicion clinique de besnoitiose (Bottari, 2019).

#### 1.6.4 Lutte antivectorielle

La lutte contre les insectes hématophages a pour objectif de diminuer le risque de transmission de *B. besnoiti* d'un bovin infecté porteur de kystes à des bovins sains. Cette lutte peut reposer sur l'application d'insecticides sur les animaux ou par des actions environnementales.

##### *Sur les animaux*

Il existe différentes formes galéniques d'administration d'antiparasitaires externes aux bovins. Les boucles auriculaires ne permettent pas une diffusion du principe actif jusqu'à l'extrémité des membres des bovins, or ce sont ces zones où les piqûres de stomoxes sont les plus fréquentes. Il est préférable d'utiliser des formulations en pour-on, pulvérisation ou aérosols qui permettent d'atteindre les pâturons bien que la concentration du principe actif dans cette zone ne soit pas bien connue. Les formulations en pour-on bénéficient d'une meilleure rémanence (Alzieu, Jacquet, 2009).

La lutte contre les stomoxes est complexe car ceux-ci ont une période d'activité très étendue dans certaines régions : avril à novembre dans le Sud-Ouest de la France (Jacquet et al., 2014) et ils peuvent être présents toute l'année car on les retrouve également à l'intérieur des bâtiments en hiver (Liénard et al., 2011). Il faudrait donc traiter les bovins avec des insecticides toute l'année et de façon plus régulière du printemps à l'automne. Les molécules les plus utilisées pour traiter les bovins au pâturage sont les pyréthroïdes de synthèse cependant leur efficacité sur les stomoxes est variable car certaines populations présentent des résistances à ces molécules (Salem et al., 2012 ; Tainchum et al., 2018 ; Reissert-Oppermann et al., 2019) notamment dans le sud-ouest de la France.

Pour les Tabanidés, la période d'activité est plus réduite dans l'année (de juin à septembre) et leur résistance aux insecticides a été peu étudiée. Cependant, il semblerait que les pyréthroïdes n'empêchent pas les taons de piquer les bovins car leur action insecticide ne pourrait s'exercer qu'une fois que l'insecte se soit gorgé de sang (Presley, Wright, 1986).

De plus, l'efficacité ne semble pas totale : si deux jours après l'application d'un insecticide en pour-on à des bovins, on les met en contact avec des taons, on observe un jour plus tard une mortalité de seulement 75 %. En outre, l'effet insecticide sur les taons ne dure que 15 jours (Presley, Wright, 1986).

Finalement, il n'existe pas de traitement insecticide totalement efficace ni contre les stomoxes ni contre les taons. Cependant, en pratique certains éleveurs utilisent des insecticides lors des pics d'activité des vecteurs afin de réduire le risque de nouvelles contaminations.

### *Dans l'environnement*

La lutte contre les stomoxes peut également être dirigée contre les stades larvaires. L'utilisation de régulateurs de croissance, comme la cyromazine, appliquée au printemps autour des nourrisseurs situés au pâturage permettrait de réduire de 97 % la population de stomoxes au cours des 2 mois suivants (Taylor et al., 2012).

Les larves de stomoxes se développent principalement dans le fumier. Avoir recours au bâchage du fumier pourrait ainsi permettre de diminuer le nombre de stomoxes.

Il est également possible de lutter contre les adultes en utilisant des pièges à insectes. Le piège Vavoua est le plus répandu, il a initialement été créé pour la capture des mouches tsé-tsé mais il s'avère également efficace contre les stomoxes (Taylor, Berkebile, 2006 ; Gilles et al., 2007). Pour les taons, le piège N'zi semble avoir été efficace sur un foyer de besnoitiose apparu en Loire Atlantique et les pièges H-trap utilisés habituellement pour la protection des chevaux sont en cours d'évaluation (Alzieu et al., 2017). Il est également possible de disposer des écrans attractifs (souvent de couleur bleue) et imprégnés d'insecticides mais leur efficacité est variable (Jacquet et al., 2014). A l'intérieur des bâtiments, il est possible d'utiliser des pièges lumineux composés de néons et émettant une lumière violacée. Ces dispositifs ont été testés à l'ENVT, leur efficacité semble peu pertinente (Jacquet, données non publiées).



Figure 39 : Photographies d'un piège Vavoua (à gauche) et d'un piège N'zi (à droite) utilisés pour le piégeage respectif des stomoxes et des taons (photographies Ph. Jacquet)

Les moyens zootechniques et agronomiques doivent être privilégiés à l'utilisation massive d'insecticides, en particulier dans l'environnement, car leur effet néfaste sur la biodiversité est indéniable.

## 1.7 Conséquences

### 1.7.1 Conséquences zootechniques

Les conséquences zootechniques de la besnoitiose sont nombreuses et demandent un surcroît de travail non négligeable pour l'éleveur.

Dans un élevage non indemne, la conduite en deux troupeaux séparés demande énormément d'investissement matériel et complique la gestion des pâtures l'été. De plus, cette conduite est généralement très complexe l'hiver car la plupart du temps les deux troupeaux passent l'hiver dans la même stabulation par manque de bâtiments d'élevage. En outre, dans les élevages laitiers, si la conduite en deux troupeaux est très complexe pour les élevages pratiquant la traite manuelle du fait de la proximité obligatoire des troupeaux avec la salle de traite, elle est quasiment impossible pour les élevages utilisant des robots de traite.

L'impact le plus important est celui de la gestion des taureaux et de la reproduction. Les taureaux expriment les phases cliniques de la maladie plus souvent que les vaches, ce qui affecte très souvent leur fertilité. Le rachat d'un nouveau taureau n'est généralement pas un bon investissement car s'il s'agit d'un taureau séronégatif vis-à-vis de la besnoitiose, il risque fortement d'être contaminé et d'exprimer des signes cliniques de la maladie à son tour, une fois arrivé dans cet élevage. Les taureaux séropositifs et ayant conservé une bonne fertilité sont rares mais leur mise en commun entre plusieurs élevages infectés pourrait être une alternative intéressante. Ainsi, le travail des éleveurs sur la génétique de leur troupeau est fortement perturbé et la besnoitiose peut parfois anéantir les investissements réalisés depuis de nombreuses années. De nombreux élevages infectés ont alors recours à l'insémination artificielle pour compenser les moins bonnes performances des taureaux.

Dans un élevage infecté, l'éleveur doit également consacrer beaucoup de temps à la surveillance du troupeau pour détecter et traiter de façon précoce les phases fébriles. La mise en place des mesures de prophylaxie sanitaire est également très chronophage et contraignante.

Face à la complexité de gestion globale de cette maladie et en particulier dans les élevages à forte séoprévalence, certains éleveurs font le choix de « vivre avec la besnoitiose ». Cette stratégie repose sur une conservation maximale du pré-troupeau afin d'éviter

l'introduction de jeunes animaux et de taureaux naïfs qui pourraient déclarer des signes cliniques de la maladie.

#### 1.7.2 Conséquences économiques

Les conséquences économiques de la besnoitiose sont pour la plupart directement liées aux conséquences zootechniques.

Une étude rétrospective dans le département de l'Ardèche a permis d'estimer le coût de la besnoitiose selon la stratégie de contrôle et de gestion choisie par l'éleveur. Cette étude a montré que le coût global de la besnoitiose est significativement plus élevé dans les élevages qui ont choisi de « vivre avec la besnoitiose » : coût moyen de 40 € par bovin de l'exploitation contre 9 € pour les élevages sains ou en voie d'assainissement (prophylaxie sanitaire et dépistage sérologique). Ce coût élevé est principalement dû aux traitements des phases cliniques qui s'élève en moyenne à 128 € [min 70 € ; max 257 €] par bovin (Duboisset, 2013). Ces éléments prouvent qu'il est préférable de choisir la stratégie de l'assainissement mais cela n'est possible que si l'éleveur est très motivé.

Les conséquences économiques sont également liées à une moins bonne productivité des bovins de l'élevage. Les bovins infectés chroniques sont plus difficiles à engraisser avant réforme, certains deviennent même des non-valeurs économiques. La production laitière des vaches atteintes est fortement réduite. La besnoitiose provoque également des pertes directes car la mortalité peut s'élever dans certains cas jusqu'à 10 % (Alzieu, Jacquet, 2012). Ces conséquences sont difficiles à chiffrer mais le manque à gagner pour l'éleveur est très important, il a été estimé comme représentant environ 85 % du coût de la besnoitiose (Lorenza, Boulon, 2015).

Les éleveurs peuvent cependant bénéficier d'un soutien financier de la part de plusieurs organismes.

L'analyse sérologique qui est fortement recommandée lors de l'achat d'un animal peut être pris en charge à 50 % par le Conseil Départemental sur demande de l'acheteur via le billet de garantie conventionnelle (document signé par les deux parties permettant à l'acheteur de rendre le bovin au vendeur si les analyses du « kit intro » réalisées ne sont pas favorables).

GDS France a mis en place un plan d'assainissement dans le but d'éliminer les individus infectés depuis 2017. Ce protocole national permet aux éleveurs éligibles de bénéficier d'aides financières du fond de mutualisation des GDS. Les conditions d'éligibilité sont tout d'abord d'être adhérent au GDS départemental et de détenir ou d'avoir détenu un bovin infecté confirmé positif par WB ou un cas clinique confirmé par ELISA. Ensuite, les éleveurs doivent s'engager dans une stratégie d'assainissement de la maladie basée sur :

- la réalisation de sérologies sur tous les bovins de plus de 6 mois
- l'élimination des bovins dont la sérologie est positive selon un plan d'assainissement et un calendrier prévisionnel défini par le GDS départemental
- le dépistage sérologique dans les 30 jours avant la sortie de l'élevage des animaux vendus à destination d'un autre élevage

Lorsque ces conditions sont réunies, les éleveurs peuvent bénéficier d'une aide de 100 € pour l'élimination d'un animal infecté et de 6 € par analyse effectuée lors de la vente d'un bovin.

Ce protocole et ces aides sont complémentaires aux mesures qui sont prises indépendamment par les GDS départementaux.



## 2. La race Gasconne des Pyrénées

La race Gasconne est une race historique des Pyrénées, décrite dès le 16<sup>ème</sup> siècle, les vaches du centre des Pyrénées sont qualifiées de Gasconnes. L'uniformisation de la race est la conséquence des renforcements des moyens d'échanges et de communication en particulier entre les éleveurs de montagne et ceux des plaines et des coteaux qui étaient à la recherche de bovins plus grands pour la traction et le travail du sol.

### 2.1 Caractéristiques morphologiques et aptitudes

#### 2.1.1 Rusticité

Elevée depuis des générations sur le piémont pyrénéen et conduite lors de la transhumance dans les estives, la rudesse des Pyrénées a forgé la rusticité de la race.

Ses muqueuses foncées et sa robe claire lui permettent de résister aux fortes chaleurs. Son poil dense et plus foncé en hiver lui confère une bonne résistance aux grands froids. Elle possède donc une bonne capacité d'adaptation à toutes les conditions climatiques. Son veau possède une robe fauve caractéristique à la naissance.



Figure 40 : Photographie d'une vache Gasconne avec trois veaux en estive (Groupe Gascon).

La qualité de ses aplombs et la dureté de la corne de ses sabots lui permettent de se déplacer sur de grandes distances et sur des terrains difficiles en estive. A l'engraissement sur aire bétonnée ou caillebotis, les pathologies locomotrices sont également rares.

Ce sont des vaches de gabarit moyen : poids des femelles adultes autour de 600 kg. Elles ont un bon instinct maternel ce qui contribue au faible taux de mortalité des veaux.

Leur docilité est très appréciée par les éleveurs et elle permet de manipuler des troupeaux très conséquents (plus de 1000 têtes) dans les estives collectives.

La pratique de l'estive est très répandue dans les élevages gascons, cette pratique permet de valoriser l'espace inadapté à d'autres races à cause du terrain et des conditions météorologiques difficiles. Des colliers GPS ont permis d'évaluer leurs déplacements dans ces prairies de montagne : elles parcourent en moyenne 10 km par jour et plus de 400 m de dénivelé (estive de Quioules), ce qui est considérable. Chaque année, plus de 45 % des vaches de race Gasconne montent en estives.



Figure 41 : Photographie d'un troupeau Gascon en estive (Groupe Gascon).





Figure 42 : Photographie d'une vache Gasconne en estive (Groupe Gascon).



Figure 43 : Photographie d'un taureau Gascon (Groupe Gascon).

## 2.1.2 Productivité

Cette race est caractérisée par une très bonne facilité de vêlage : seulement 2 % de vêlages difficiles pour les primipares et 1 % tous vêlages confondus. Le poids moyen des veaux à la naissance est de 40 kg. Dans certaines régions, les croisements terminaux avec des taureaux Charolais ou Blond d'Aquitaine sont très utilisés afin de gagner en conformation et en poids sans pour autant rendre les vêlages plus difficiles. De plus, elle bénéficie d'une excellente productivité numérique comme le montre l'adage « un veau par vache par an ». Le taux de gémellité est de 1,8 %.

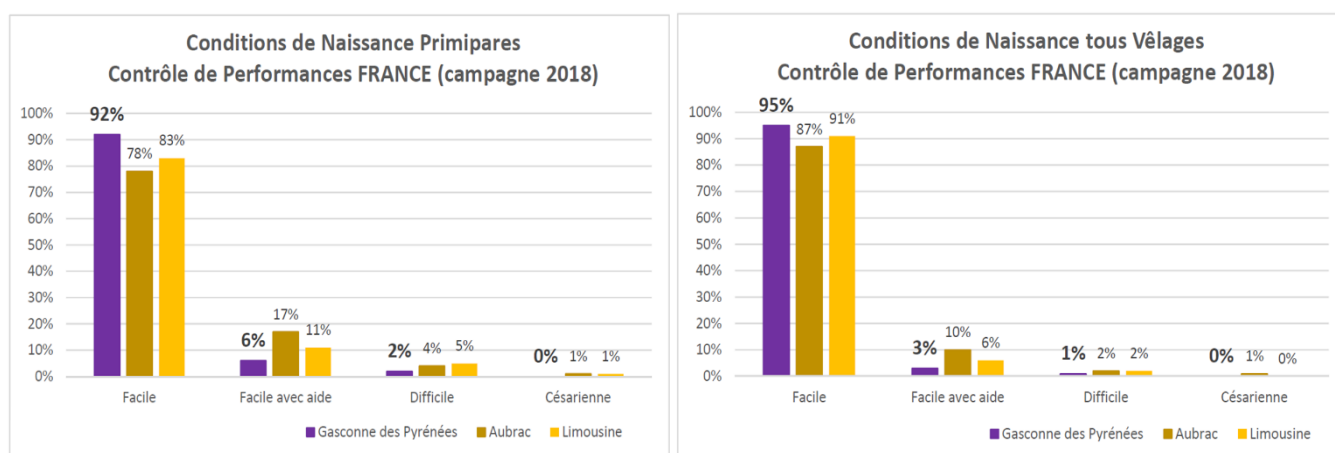


Figure 44 : Graphiques des conditions de vêlage de plusieurs races à facilité de vêlage selon les primipares et tous vêlages confondus (Groupe Gascon, d'après les résultats du contrôle des performances bovines nationales 2018).

Les troupeaux de race Gasconne peuvent obtenir des résultats très compétitifs en système extensif comme en système intensif. La conduite des troupeaux gascons est assez aisée, de manière générale, les éleveurs gagnent du temps de travail, de suivi et d'entretien ce qui leur permet de libérer du temps pour d'autres activités. Les troupeaux gascons apparaissent également comme économes en charges sur les plans alimentaire et sanitaire (peu de frais vétérinaires).

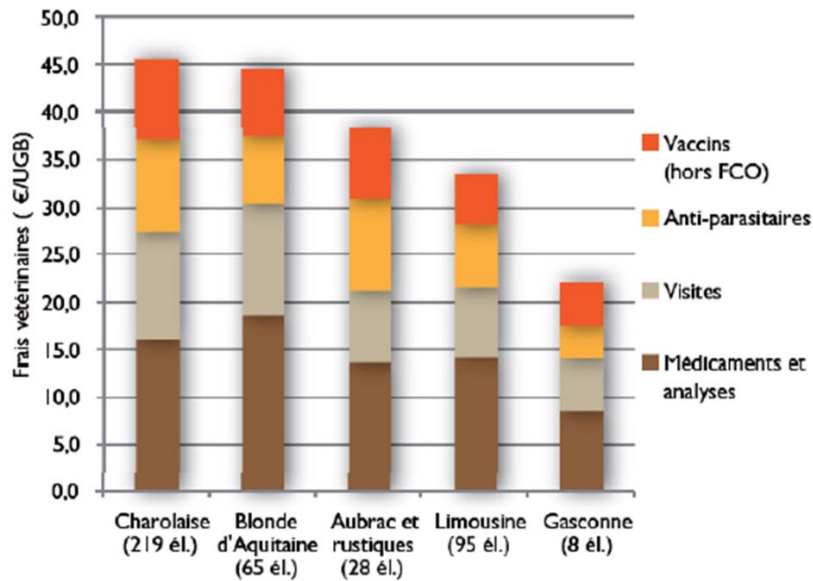


Figure 45 : Histogramme représentant la part de différents frais vétérinaires selon la race bovine considérée (Institut de l'élevage, 2010).

### 2.1.3 Engraissement et qualités bouchères

La race gasconne possède un fort potentiel de croissance qui peut également être exprimé dans les zones difficiles. Pour cela, elle s'appuie sur une bonne valorisation des fourrages grossiers.

Le poids moyen des mâles à 210 jours est de 250 kg (résultats obtenus avec 60 % de transhumance), en effet, en estive et sans compléments alimentaires, le GMQ des broutards est de 1000 g/j.

Les taurillons à l'engraissement ont un GMQ de 1370 g/j pour un coût alimentaire inférieure de 23 % par rapport aux autres types raciaux spécialisés viande (Institut de l'élevage, 1988). Cela permet à l'abattage d'obtenir un poids de 620 kg en moyenne pour un rendement de 60 %.

La viande gasconne est reconnue d'une qualité supérieure par un Label Rouge « Bœuf Gascon, pure race, pure goût » dont le Groupe Gascon est l'organisme de défense et de gestion (O.D.G) selon l'INAO (institut national de l'origine et de la qualité). Les bœufs gascons sont abattus à l'âge de 3 ans avec un poids moyen de 850 kg pour un rendement de 58 %.



## 2.2 Effectifs et répartition géographique

Historiquement présente sur la partie orientale des Pyrénées, sa rusticité lui a permis de conquérir rapidement l'ensemble de la chaîne pyrénéenne. Elle est également présente dans d'autres régions montagneuses comme la Corse et les Alpes du sud.

Le cheptel gascon français est d'environ 24 000 têtes. On retrouve actuellement la race gasconne dans de nombreux départements mais elle reste majoritairement cantonnée dans les départements de l'est des Pyrénées : 95 % du cheptel en Midi-Pyrénées et Languedoc-Roussillon.

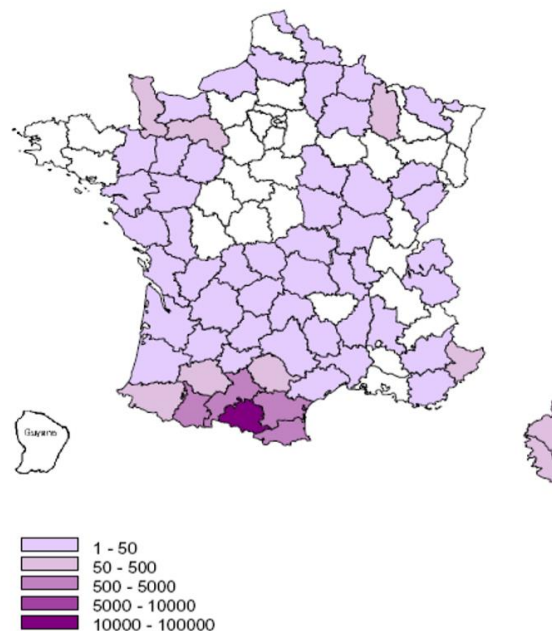
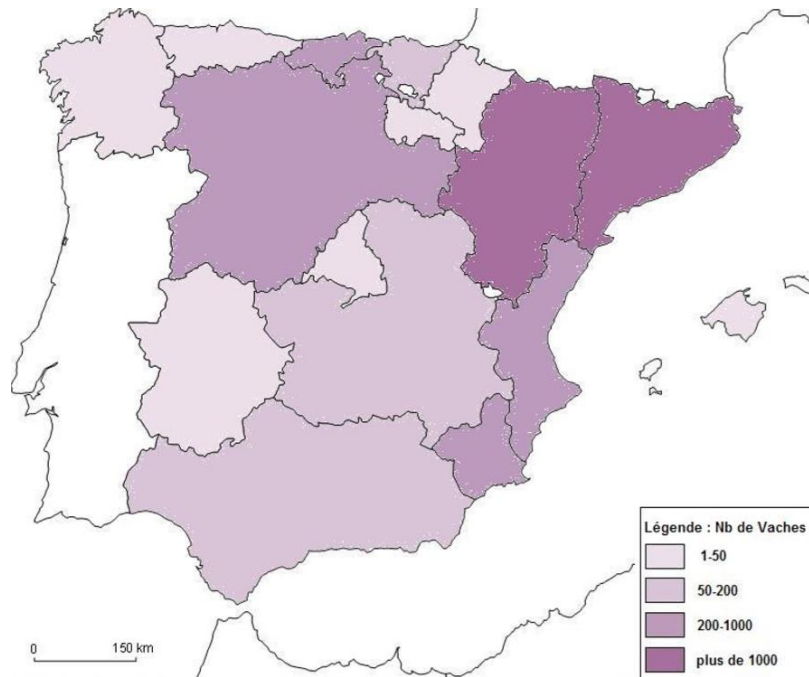


Figure 46 : Carte de France montrant la répartition du cheptel gascon dans les départements en 2006 (Groupe Gascon, d'après IPG, 2006).

La bonne capacité d'adaptation de cette race lui permet aujourd'hui d'être présente dans des environnements très divers : les collines du Royaume-Uni, les polders des Pays-Bas, la Cordillère des Andes du Chili, le climat équatorial du Paraguay et de la Guyane ainsi que le climat continental de la République Tchèque.

On retrouve également un cheptel assez conséquent de vaches de race Gasconne en Espagne, avec presque 6000 femelles de plus de 36 mois (Groupe Gascon, d'après SIMOGAN, 2015). De manière similaire à celle de la France, la race était surtout présente dans l'est de la chaîne pyrénéenne puis elle a peu à peu séduit de nombreux éleveurs dans tout le pays.



## 2.3 Sélection génétique

### 2.3.1 Centre de sélection

Créée en 1976, la station de sélection de la race Gasconne (SAS PEPIRAG) est la première station de sélection bovine fondée en France. Elle se situe à Villeneuve du Paréage, à côté de Pamiers dans l'Ariège. C'est une pépinière de taureaux gascons destinés à la monte naturelle.



Figure 48 : Carte du Sud de Toulouse montrant la localisation du Groupe Gascon à proximité de Pamiers dans le département de l'Ariège (Fond de carte : [www.google.fr/maps](http://www.google.fr/maps)).

La station est spécialisée dans l'évaluation et la sélection génétique des taureaux de race Gasconne. Elle a permis d'évaluer 3008 taureaux depuis sa création. La vente de reproducteurs constitue sa principale source de revenus.





Figure 49 : Photographie des jeunes taureaux gascons dans la station de sélection après distribution de leur ration (Groupe Gascon).

La station est également composée d'un troupeau d'une trentaine de vaches allaitantes de race Gasconne et peut recevoir des génisses en pension.

Depuis 2019, la station accueille également quelques jeunes taureaux de race Bruna d'Andorra. Cette race, d'aptitudes proches de celles de la race gasconne, de faible effectif, ne bénéficie pas d'une station d'évaluation semblable. L'intégration de ces jeunes taureaux dans des conditions similaires à celle des taureaux gascons permet de les comparer à un plus grand nombre d'animaux afin de pouvoir initier une ébauche de sélection.

## 2.3.2 Stratégies de sélection

La sélection génétique de la race gasconne repose surtout sur un panel d'éleveurs adhérents au schéma de sélection, il y en a 210 qui adhèrent à un niveau supérieur leur permettant d'envoyer des animaux en station. La sélection s'effectue ensuite de façon séparée pour les mâles et les femelles. Pour les femelles, le passage en station n'est pas obligatoire, la sélection peut se faire sur ascendance et évaluation en ferme.

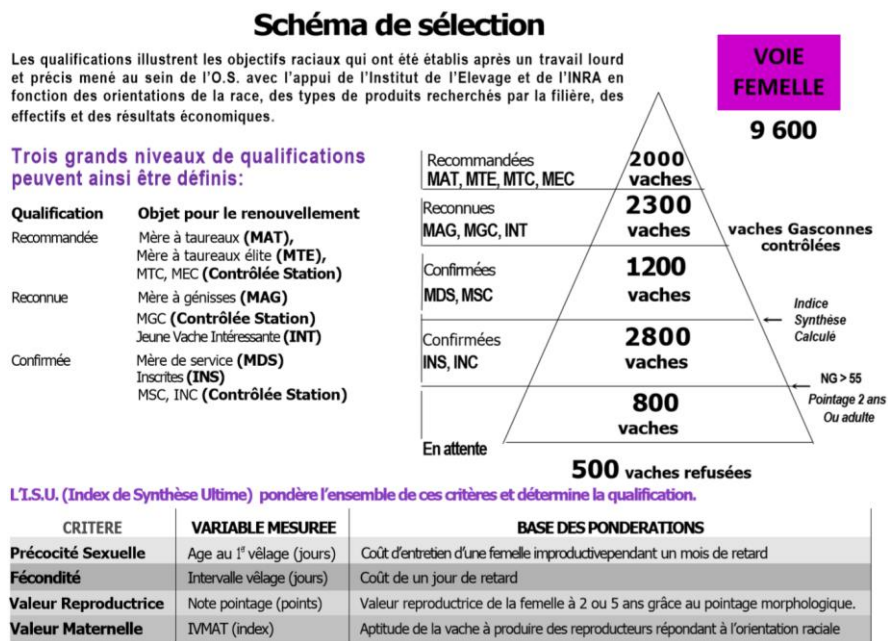


Figure 50 : Schéma global de sélection par la voie femelle de la race Gasconne (Groupe Gascon).

Pour les mâles, la sélection passe obligatoirement par la station raciale.

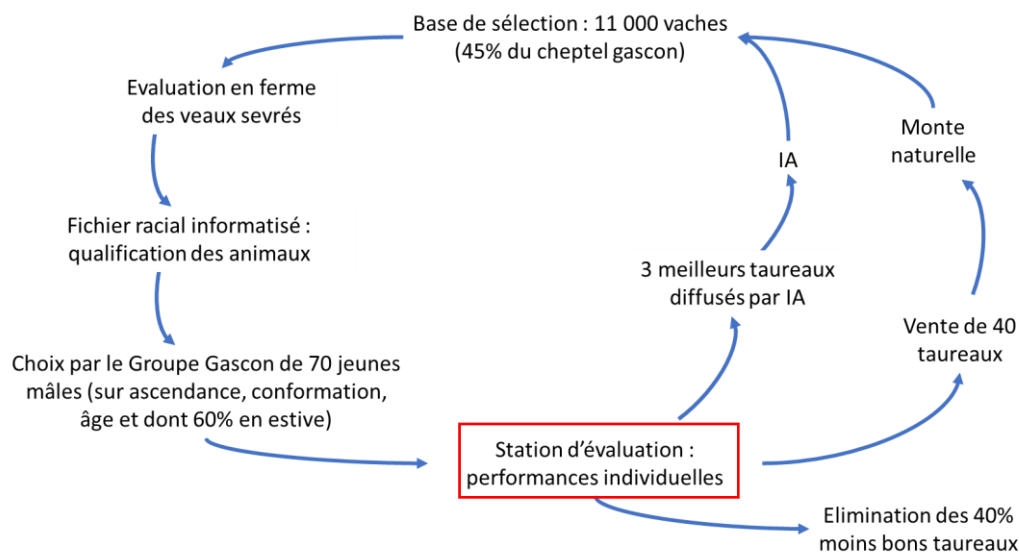


Figure 51 : Schéma global de la sélection par la voie mâle de la race Gasconne (d'après Groupe Gascon).

Les taureaux sont évalués en une bande qui rentre en station au mois d'août ou d'octobre jusqu'au mois d'avril. Pour l'année, 2019-2020, 82 jeunes taureaux ont été admis, 74 % d'entre eux étaient issus de « mères à taureaux ». La diversité des pères était bonne avec 55 pères différents dont 71 % étaient au moins « reconnu contrôlé ».

Les critères de sélection qui sont évalués en station reposent sur des caractéristiques morphologiques :

- l'adaptation et la résistance : couleur de la robe et des muqueuses, rectitude du dos
- la facilité de vêlage : largeur, longueur et inclinaison du bassin ; pelvimétrie chez les mâles
- la capacité d'ingestion : largeur et profondeur de poitrine
- les déplacements : aplombs avant et arrière
- le rendement carcasse : finesse des os et de la peau

Des génotypages sont également effectués en particulier par rapport au gène culard et les taureaux subissent également des mesures d'épaisseur du cuir par cutimètre et des mesures de pelvimétrie. La croissance des taureaux est mesurée grâce à des pesées mensuelles.

La sélection est adaptée afin de conserver les habitudes pastorales et la transhumance des Gasconnes des Pyrénées. Chaque année, 60 % des taureaux admis en station sont issus

d'estives ou de zones sèches et 53 % des adhérents au niveau de la sélection pratiquent l'estive. De plus, un projet d'évaluation des taureaux en terrain pentu est en cours d'élaboration à la station.

La bande 2019-2020 a obtenu de très bons résultats, avec un GMQ moyen de 1412 g/j. A l'issue de l'évaluation, 2 taureaux ont été qualifiés « autorisés IA », 23 « reconnus contrôlés », 24 « confirmés contrôlés » et 30 « refusés contrôlés ».



PARTIE 2 : ELABORATION D'UN  
PROTOCOLE DE DEPISTAGE ET DE GESTION  
DE LA BESNOITIOSE AU SEIN DU CENTRE  
DE SELECTION DE LA RACE GASCONNE

---

# 1. Motivations à l'origine de cette demande

## 1.1 Forte prévalence de la besnoitiose dans le cheptel gascon

Historiquement, les vétérinaires avaient remarqué que les cas de besnoitiose étaient plus fréquents chez les bovins gascons que dans les autres races. Mais depuis, il a été prouvé qu'il n'y avait pas d'effet race et que les cas cliniques ou subcliniques de besnoitiose pouvaient être observés dans toutes les races bovines. Cette constatation résulterait finalement uniquement de la correspondance géographique entre le cheptel Gascon historique et la zone d'endémie de la besnoitiose dans les Pyrénées françaises.

L'observation de nombreux cas de besnoitiose dans la race Gasconne résulte certainement des pratiques d'élevage et en particulier de la transhumance collective qui ont pu favoriser la diffusion et la pérennisation de la besnoitiose au sein du cheptel Gascon.

Actuellement, la prévalence de la besnoitiose dans les cheptels pyrénéens est inconnue car ce n'est pas une maladie à déclaration obligatoire et parce qu'une certaine réticence à aborder le sujet a longtemps prévalu. Cependant, d'après les éléments précédents et les retours de terrain des vétérinaires sanitaires et des laboratoires départementaux, le nombre d'élevages Gascons non indemnes de besnoitiose est probablement élevé.

## 1.2 Evénements de l'année 2019

Jusqu'en 2019, la station de sélection Gasconne n'avait jamais été confrontée à des cas cliniques de besnoitiose lors de la période de testage des jeunes taureaux. D'ailleurs, aucun contrôle sanitaire de la besnoitiose n'était effectué à l'entrée en station et pendant la période d'évaluation des taureaux.

### 1.2.1 Evènements survenus au mois de mars 2019

Une semaine avant la vente des jeunes taureaux, le 18 mars 2019, un jeune taureau (cas index = A) présent dans la station a présenté des signes cliniques évocateurs de besnoitiose (abattement, testicules enflés et scrotum érythémateux, hyperthermie supérieure à 40°C). Le vétérinaire sanitaire de la station a suspecté une phase fébrile de besnoitiose et a sollicité la collaboration de l'ENVT pour l'aider à gérer la situation.

Cette hypothèse clinique a été confirmée par des analyses de laboratoire (PCR sur sang positive et ELISA négatif). L'animal a été traité à l'aide de sulfamides et a montré de bonnes améliorations cliniques.

Il a cependant été écarté de la vente ce qui a constitué une perte importante pour la station et pour la race car ce taureau avait obtenu de très bons résultats lors de l'évaluation et il faisait partie avec un autre taureau des 2 mâles sélectionnés pour la station d'insémination artificielle (Auriva, Soual).

Une décision d'investigation complémentaire sur l'ensemble des bovins du site a été prise (à cette époque de l'année seuls les 40 meilleurs mâles demeuraient encore dans la station ainsi que le troupeau permanent de vaches et les génisses en pension). Ont alors été réalisées des mesures de température rectale, une observation minutieuse de la sclère oculaire, des PCR sur sang EDTA et des sérologies ELISA sur tous les bovins et pour les mâles des mesures des testicules. Peu d'anomalies ont été relevées, seul un jeune mâle (B) présentait des testicules de taille légèrement augmentée et un autre jeune mâle (C) sans signes cliniques avait des résultats positifs en PCR sur sang et ELISA.

Afin d'identifier la source de la contamination, des analyses sérologiques ELISA ont été effectuées *a posteriori* sur des sérums prélevés au mois de janvier sur l'ensemble des mâles présents au début de la saison de testage. Ces analyses ont permis d'identifier qu'il y avait sur l'ensemble des 70 jeunes mâles, 8 animaux séropositifs en besnoitiose.

Les jeunes taureaux A, B et C ont alors été écartés de la vente mais ont été conservés dans la station pour investigations supplémentaires.



### 1.2.2 Mois d'avril 2019

Le 24 avril 2019, l'apparition d'une nouvelle suspicion clinique (hyperthermie à 40°C et bursite) pour le taureau B a motivé la réalisation d'un nouveau contrôle sérologique de tous les animaux par ELISA. Deux animaux séropositifs ont été identifiés (taureau A présentant une séroconversion depuis mars et le taureau C déjà séropositif en janvier 2019) tandis que le taureau B était toujours séronégatif à cette date.

### 1.2.3 Mois de mai 2019

Le 9 mai 2019, des biopsies cutanées ont été effectuées sur les taureaux A, B et C puis analysées par qPCR.

Les trois taureaux ont montré des résultats positifs en qPCR avec des valeurs de Ct faibles (A : 21, B : 27 et C : 24). On peut donc désormais affirmer que ces trois taureaux étaient infectés par *B. besnoiti* et qu'ils étaient des individus « forts contamineurs » (Ct < 36). Le même jour, du sperme a été prélevé sur ces taureaux à l'aide d'un électro-éjaculateur et la recherche d'ADN de *B. besnoiti* n'y a décelé aucun signal positif (taureau B) ou de faibles signaux positifs (Ct = 39 pour le taureau A et Ct = 36 pour le taureau C).

### 1.2.4 Une explication possible des évènements

L'analyse sérologique *a posteriori*, réalisée sur les sérums de prophylaxie de janvier 2019, a montré que huit taureaux entrés en station à l'automne 2018 étaient séropositifs vis-à-vis de *B. besnoiti*, dont le taureau C « fort contamineur ».

Une augmentation d'activité des vecteurs du parasites peut être expliquée par les températures clémentes du mois de février 2019 : 15 jours consécutifs avec des températures maximales supérieures à 13°C et sans gelées nocturnes entre le 14/02 et le 28/02 (Pamiers - historique-meteo.net). Ces conditions météorologiques ont pu favoriser la contamination du taureau A à partir du taureau C ou d'un autre taureau séropositif. Malgré une prise en charge rapide et un traitement adapté, un mois et demi après la phase fébrile, le nombre de parasites

dans le derme du taureau A était très élevé, il est devenu à son tour un individu « fort contaminateur ».

Au mois d'avril, avec les premières chaleurs, les conditions ont de nouveau été favorables à de nouvelles contaminations par les insectes hématophages. On a alors observé une nouvelle contamination (taureau B).

Tableau 6 : Tableau de synthèse des différents résultats d'analyses effectuées sur les taureaux au cours de l'année 2019.

Taureaux		Janvier 2019		Mars 2019			Avril 2019		Mai 2019	
		Clinique	ELISA	ELISA	Clinique	PCR	Clinique	ELISA	Clinique	qPCR sur peau
Taureaux déclassés	7 séropositifs	-	+							
	23 autres	-	-							
40 meilleurs taureaux	A	-	-	-	+	+ sang	-	+	-	+ 21
	B	-	-	-	+?	-	+	-	-	+ 27
	C	-	+	+	-	+ sang	-	+	-	+ 24
	37 autres	-	-	-	-	-				

*Légende : fond blanc : animal absent de la station ; fond vert : animal séronégatif ; fond orange : animal séropositif ou suspect de besnoitiose ; fond rouge : animal fort contaminateur et exclu de la station.*

### 1.3 Des objectifs difficiles à concilier pour la station de sélection

La gestion de la besnoitiose dans le centre de sélection de la race Gasconne est particulièrement complexe en raison du fonctionnement de la station et des objectifs de sélection.

### 1.3.1 Plusieurs troupeaux sur un même site

La station est constituée en permanence d'un troupeau d'environ 30 vaches Gasconnes dont le statut sanitaire est connu et surveillé par rapport à la besnoitiose. Ce troupeau permet à la station d'obtenir des revenus financiers étalés sur l'année et participe également à la sélection génétique de la race par la voie femelle.

Elle accueille également des génisses en pension, ce sont des génisses de bonne ascendance mais qui ne sont pas conservées dans leur troupeau naisseur souvent par faute de capacité d'effectif. La station propose d'accueillir ces génisses afin de valoriser leurs qualités intéressantes pour la race en les revendant dans l'objectif de devenir de futures mères.

L'activité principale de la station demeure cependant l'évaluation de 70 à 80 jeunes mâles Gascons du mois d'octobre au mois d'avril chaque année.

En 2019-2020, la station a également accueilli 7 jeunes mâles de race Bruna d'Andorra en provenance d'Andorre afin d'établir un début de sélection pour cette race.



*Légende : les bâtiments encadrés correspondent aux zones d'élevage des différents troupeaux, en rouge : les jeunes taureaux gascons, en orange : les jeunes taureaux Bruna d'Andorra, en bleu : les génisses en pension et en vert : le troupeau de vaches permanent (Fond de carte : [www.google.fr/maps](http://www.google.fr/maps))*

Figure 52 : Vue aérienne de la station Gasconne.

Tous ces troupeaux sont indépendants les uns des autres : les animaux de chaque troupeau ne sont jamais mélangés, chacun dispose des cases et des parcs qui leur sont propres cependant ils ne bénéficient pas d'un éloignement suffisant entre eux pour écarter tout risque de transmission vectorielle de la besnoitiose. La surveillance sanitaire, en particulier vis-à-vis de la besnoitiose, doit nécessairement être effectuée sur l'ensemble de ces troupeaux et lors de chaque introduction.

### 1.3.2 Des jeunes taureaux d'origines diverses mélangés pour les besoins de la sélection

L'entrée des jeunes mâles en station demeure le point le plus délicat. Chaque année, la station accueille entre 70 et 80 jeunes mâles Gascons provenant de plus de 50 élevages situés dans des départements français différents et de statuts sanitaires divers. Afin d'éviter la transmission de maladies contagieuses entre ces animaux, il faudrait idéalement respecter une période de quarantaine individuelle de 2 à 3 semaines qui est habituellement recommandée afin d'éviter la transmission de maladies infectieuses. Cela demanderait des moyens matériels colossaux et représenterait une surcharge de travail considérable. Cela serait également incompatible avec l'objectif d'un organisme de sélection qui est de comparer les performances individuelles des individus qui doivent être mis dans les mêmes conditions strictes (constitution de lots homogènes selon l'âge).

La prévalence de la besnoitiose dans le cheptel gascon étant élevée, le risque de faire rentrer en station un animal porteur du parasite existe malgré le jeune âge des animaux concernés. De plus ce parasite engendre chez les taureaux des formes cliniques plus sévères et il est souvent à l'origine d'une stérilité transitoire et même parfois définitive ce qui est compromettant pour des taureaux de bonne valeur génétique destinés à la reproduction.

### 1.3.3 Volonté d'élargir le panel de fournisseurs

La gestion de la besnoitiose pourrait être simplifiée si seuls des taureaux séronégatifs étaient admis à rentrer dans la station cependant afin d'élargir le patrimoine génétique et d'améliorer les performances globales de la race, l'organisme de sélection souhaite également permettre à des taureaux séropositifs de prendre part au schéma de sélection.

Le souhait de conserver les traditions pastorales (transhumance) de la race est également inscrit dans le schéma de sélection et constitue un facteur supplémentaire de risque par rapport à la besnoitiose.

Pour ces raisons, la station souhaite pouvoir accueillir des animaux de tout statut sanitaire vis-à-vis de la besnoitiose.

Cependant, il est important d'éviter les nouvelles contaminations lors de la phase de sélection car la besnoitiose est une maladie qui peut être à l'origine d'infertilité pour les taureaux.

En conclusion, l'objectif est d'accueillir un panel de taureaux large et de tout statut sanitaire tout en réduisant au maximum le risque de nouvelle contamination en station.

#### 1.3.4 Volonté de fournir des élevages de statut sanitaire varié

En outre, il est intéressant de pouvoir fournir à la fin de la sélection des taureaux pouvant aller dans des élevages de tout statut sanitaire.

Beaucoup d'élevages de race gasconne sont non indemnes de besnoitiose, c'est-à-dire qu'ils contiennent des animaux porteurs du parasite et donc susceptibles de contaminer d'autres animaux. Pour ces élevages, l'achat d'un taureau séronégatif de haute valeur génétique présente un risque car ce taureau peut se contaminer en élevage et présenter ensuite une forme clinique grave de la maladie à l'origine d'une infertilité. On peut se demander s'il ne serait pas plus recommandé pour ces élevages d'acheter un taureau séropositif vis-à-vis de la besnoitiose c'est à dire un animal déjà infecté de façon asymptomatique, fertile et non contaminant. Cette question fait l'objet actuellement de débat.

En conclusion, vendre des taureaux séropositifs asymptomatiques en fin de sélection constitue une opportunité intéressante pour les élevages à forte prévalence de besnoitiose et dont l'assainissement n'est pas envisagé à court terme.

La conciliation de tous ces objectifs rend les mesures de gestions classiques de la besnoitiose inapplicables à ce cas présent.

#### 1.4 Implication des autorités dans la maîtrise de la besnoitiose

Ce travail s'inscrit dans un programme européen (POCTEFA) de coopération transfrontalière entre l'Espagne, l'Andorre et la France qui vise à promouvoir le développement durable des territoires frontaliers. L'axe 2 de ce programme a pour objectif de « promouvoir l'adaptation au changement climatique ainsi que la prévention et la gestion des risques », c'est dans cette optique que le projet DIETAPYR2 s'inscrit. Ce projet doit apporter des innovations à la filière bovine pyrénéenne afin de valoriser une viande identifiable par le consommateur. Le groupe Gascon et l'ENVT sont deux des acteurs principaux de ce projet.

Lors de cette étude, la collaboration du LVD09 a également été sollicitée pour la réalisation des tests ELISA et pour l'expertise en matière de besnoitiose de son ancien directeur : le docteur Jean Pierre Alzieu.

## 2. Protocole proposé

Le protocole de dépistage et de contrôle de la besnoitiose pour la station de sélection Gasconne a été appliqué à la bande 2019-2020 de jeunes taureaux rentrés dans la station pour évaluation et sélection.

### 2.1 Screening sérologique initial

#### 2.1.1 Deux périodes d'entrée en station

Selon leur âge, les jeunes taureaux ne rentrent pas en station au même moment, les veaux nés de vêlages précoces (dits primeurs) rentrent en station au début du mois d'août (08/08/2019) mais ne représentent qu'une faible partie de la totalité des taureaux (11 taureaux pour l'année 2019). La majorité des taureaux rentrent en station au mois d'octobre (10 et 11/10/2019).

#### 2.1.2 Première sérologie dans l'élevage d'origine

Afin de savoir si les jeunes taureaux devant rentrer en station ont été exposés à la besnoitiose, il a été décidé de réaliser une première analyse sérologique ELISA dans l'élevage d'origine dans les deux semaines précédant leur départ. La prise de sang pour réaliser cette analyse est effectuée par le vétérinaire sanitaire de l'élevage en même temps que la prise de sang pour analyse IBR réglementaire.

Les animaux ayant eu un résultat négatif en sérologie ELISA ont alors été considérés comme non exposés au parasite *B. besnoiti* et donc ne présentant pas de risque de transmission de la besnoitiose, ils sont donc inclus directement dans le troupeau d'évaluation.

### 2.1.3 Seconde sérologie dans la station

Cependant, il est possible qu'un animal récemment infecté par le parasite ait un résultat négatif en sérologie ELISA car le système immunitaire n'a pas encore eu le temps de produire les anticorps recherchés. Afin d'écartier cette possibilité, une seconde prise de sang pour analyse sérologique ELISA besnoitiose a été réalisée 1 mois après l'entrée en station sur tous les animaux.

Tous les prélèvements pour sérologie, effectués en station, sont analysés au LVD09 grâce au kit IDVET® IDScreen Besnoitia ® bicupule.

## 2.2 Quantification de l'infection des animaux séropositifs

Si un taureau a un résultat positif en sérologie ELISA, cela signifie qu'il a déjà été exposé au parasite et qu'on ne peut pas écartier qu'il soit porteur de kystes à bradyzoïtes. Il est alors intéressant de savoir s'il s'agit d'un animal « fort contaminateur » c'est à dire s'il y a un risque élevé qu'il transmette le parasite à d'autres bovins. Il faut donc quantifier l'ADN de parasites présents dans sa peau.

Lors de leur arrivée dans la station, les animaux séropositifs doivent être placés en quarantaine à une distance de plus de 20 mètres des autres troupeaux (il est possible de constituer un seul lot de quarantaine).

Ensuite, il est nécessaire de prélever le plus rapidement possible un fragment de peau à la base de la queue de chaque taureau. Ce prélèvement est ensuite analysé par qPCR à l'ENVT pour quantification.

Si la valeur de Ct est inférieure à 36, l'animal est alors considéré comme un « fort contaminateur » et il est immédiatement exclu de la station gasconne car il constitue un risque élevé de contamination. Si le résultat est négatif (No Ct) ou supérieur à 36, on considère que ce taureau présente un faible risque de contamination pour les autres taureaux et il peut être inclus dans le troupeau de jeunes taureaux pour sélection.



## 2.3 Suivi sanitaire pendant l'évaluation des taureaux

La conservation de certains animaux séropositifs dans le troupeau en testage rend le risque de nouvelle contamination par *B. besnoiti* non nul même s'il est largement diminué par l'élimination des animaux « forts contamineurs ». Il est donc nécessaire de réaliser un suivi pendant toute la période d'évaluation des jeunes taureaux.

### 2.3.1 Surveillance clinique

La première étape de ce suivi est basée sur la surveillance clinique des animaux. Les animaliers qui s'occupent des jeunes taureaux doivent être sensibilisés aux signes cliniques précoces de la phase fébrile de la besnoitiose et doivent consacrer du temps à l'observation des animaux afin d'identifier rapidement d'éventuelles nouvelles contaminations (abattement, jetage, épiphora).

En cas de suspicion clinique d'une phase fébrile de besnoitiose, il est recommandé de réaliser une mesure de température rectale du taureau et d'appeler un vétérinaire afin de préciser le diagnostic et de réaliser des prélèvements pour analyse (sang EDTA pour PCR besnoitiose) si le cas le justifie.

### 2.3.2 Sérologies bimestrielles et qPCR sur séroconversion

La surveillance clinique n'est cependant pas suffisante car elle ne permet pas de détecter les animaux qui s'infectent de manière asymptomatique.

Afin de détecter ces individus, la PCR sur sang ne donnerait un résultat positif que si le prélèvement est effectué au moment de la phase aiguë d'infection. La stratégie choisie repose donc sur la réalisation de sérologies ELISA régulières sur tous les animaux séronégatifs.

Afin de réduire le nombre de manipulations des animaux et pour rendre les prélèvements individuels plus pratiques, il a été choisi de les faire concorder avec les séances mensuelles de

pesée des animaux. Pour des raisons de coût, le choix a donc été fait d'effectuer les analyses tous les 2 mois. Les sérologies ELISA sont effectuées au LVD09 à Foix.

## 2.4 Bilan

### 2.4.1 Planning

On peut alors établir un planning des contrôles à effectuer sur toute la durée d'évaluation des taureaux. Pour la prise de sang dans l'élevage d'origine et la première prise de sang en station, il a été choisi de les faire concorder avec la réglementation concernant les achats et l'IBR afin de limiter les manipulations sur les animaux (seconde prise de sang entre 15 et 30 jours post entrée en station).

De manière générale, on peut résumer les étapes du protocole par la figure suivante.

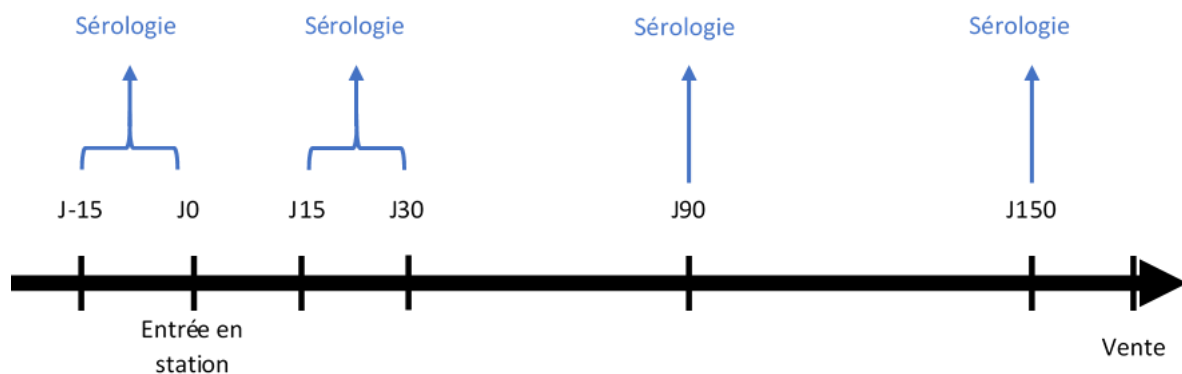


Figure 53 : Planning général des contrôles sérologiques systématiques.

Appliqué en particulier à la saison 2019-2020, de façon à concorder avec les pesées des taureaux, le planning des contrôles sérologiques a été résumé dans la figure suivante.

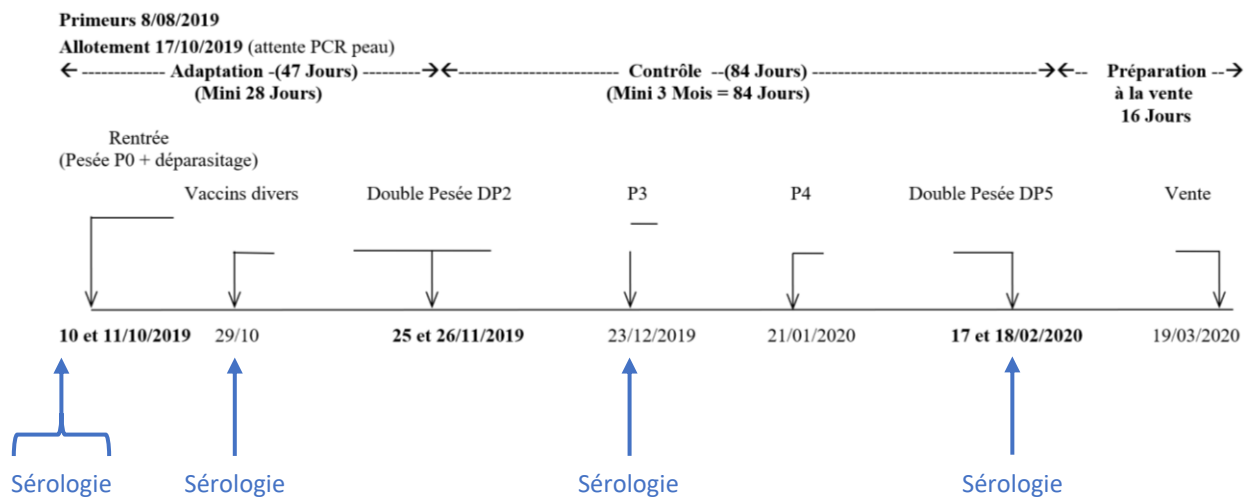


Figure 54 : Planning des contrôles sérologiques systématiques pour la saison 2019-2020.

### 2.4.2 Arbre décisionnel

On peut également résumer le protocole en un arbre décisionnel qui est fonction des résultats des analyses de laboratoire effectuées.

En cas de résultat douteux en sérologie ELISA, il est habituellement conseillé de réaliser une analyse par WB cependant, dans ce cas précis et afin de gagner du temps dans l'identification d'un potentiel fort contaminateur, il est conseillé de réaliser directement une biopsie cutanée pour analyse qPCR dans les cas douteux.

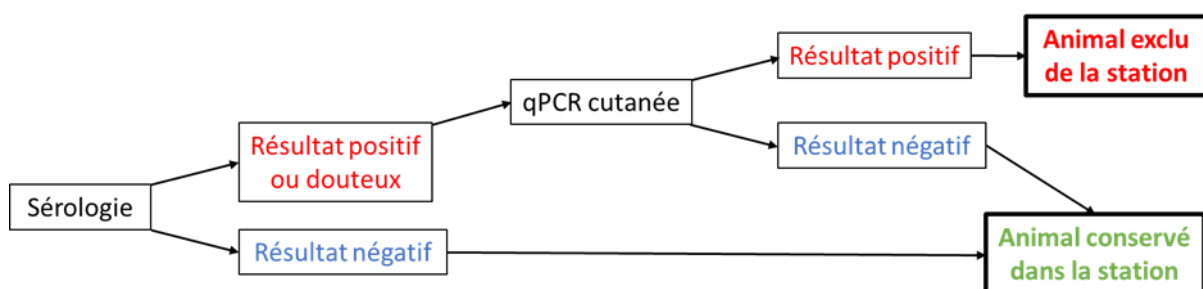


Figure 55 : Arbre décisionnel de l'avenir des taureaux en fonction des résultats d'analyses.

### 3. Résultats obtenus sur la bande 2019-2020

#### 3.1 Elimination d'un taureau fort contaminateur à l'entrée

##### 3.1.1 Résultats du screening sérologique initial

###### *Première prise de sang dans l'élevage d'origine*

Les premières prises de sang effectuées en élevage pour les taureaux rentrés au mois d'août 2019 n'ont pas mis en évidence d'animaux séropositifs mais elles ont permis d'identifier 2 animaux séropositifs (taureaux D et E) parmi les animaux rentrés en octobre. Ces 2 taureaux ont été isolés avec 4 autres taureaux dont les résultats sérologiques n'étaient pas encore connus et ils ont été traités avec un antiparasitaire externe en pour-on à base de deltaméthrine (Versatrine®) afin de limiter le plus possible les piqûres de mouches sur ces animaux.

###### *Seconde prise de sang dans la station*

Les secondes prises de sang, effectuées entre 15 jours et un mois après l'arrivée des taureaux en station (le 02/09/19 et le 29/10/19) n'ont pas mis en évidence de nouvelles séroconversions.

##### 3.1.2 Résultats de la quantification de l'infestation

Des biopsies cutanées ont été effectuées rapidement après l'entrée en station des 2 taureaux séropositifs (D et E) et analysées par qPCR à l'ENVV. Pour le taureau D, le résultat était positif avec un Ct faible (Ct = 20), c'est donc un taureau fort contaminateur, il a été exclu de la station le lendemain. En revanche, pour le taureau E, la PCR était négative (No Ct), ce

taureau est donc bien moins à risque de transmettre le parasite aux autres taureaux, il a donc été conservé dans la station.

Une fois le screening initial terminé, le 17 octobre, tous les taureaux restants ont été mélangés et allotés par cases de 7 animaux y compris le taureau E.

## 3.2 Suivi sanitaire pendant l'évaluation

### 3.3.1 Suivi sérologique

Un suivi sérologique a été effectué tous les 2 mois environ. Les échantillons prélevés le 29 octobre ont permis de mettre en évidence un nouveau taureau séropositif (taureau F). Ce taureau, rentré en station en août (primeur), avait obtenu un résultat de 15% en IDVET (seuil de positivité à 70%) le 2 septembre.

Ce taureau ne présentait aucun signe clinique et il était dans une case avec 6 autres taureaux depuis le 17 octobre. Une biopsie cutanée a été réalisée sur ce taureau et analysée par qPCR au début du mois de novembre. Le résultat obtenu était en faveur d'un taureau fort contaminateur (Ct = 29,6), ce taureau a donc été exclu de la station.

Aucun autre cas de séroconversion n'a été identifié et le taureau E est resté séropositif pendant toute la période d'évaluation.

### 3.3.2 Surveillance clinique

De manière concomitante (le 11 novembre) aux investigations sur le taureau F, un autre taureau de la même case a présenté des signes cliniques de phase fébrile de besnoitiose (taureau G). Cette suspicion clinique a été confirmée le 12 novembre par une analyse PCR sur sang. Ce taureau a également été exclu de la station.

Un autre taureau a été suspecté de phase fébrile au mois de février (taureau H), mais il ne présentait pas l'ensemble de signes cliniques habituellement observés (uniquement un léger œdème des testicules) et son état s'est rapidement amélioré avec un traitement symptomatique (diurétiques).

### 3.3 Des taureaux disponibles pour des élevages aux statuts sanitaires variés

En fonction des différents résultats d'analyses, il est possible de classer les taureaux dans 3 catégories à partir desquelles on peut déterminer les issues possibles pour ces animaux.

Tableau 7 : Tableau des différentes issues possibles pour les taureaux en fonction des résultats des analyses obtenus.

<b>RESULTATS D'ANALYSE</b>	<b>INTERPRETATION</b>	<b>ISSUES</b>
Sérologie : + PCR sur peau : +	Animal infecté fort contaminateur	- Animal à exclure le plus rapidement possible de la station - Abattage le plus rapidement possible
Sérologie : + PCR sur peau : -	Animal infecté et présentant un faible risque de contamination pour les autres taureaux	- Vente à un élevage non-indemne de Besnoitiose, sans volonté d'assainissement immédiate
Sérologie : - PCR sur peau : non effectuée	Animal non infecté, susceptible de s'infecter et de présenter des signes cliniques de la maladie	- Vente à un élevage non-indemne en cours d'assainissement, dans un lot d'animaux indemnes - Vente à un élevage indemne toutes zones et étranger

### 3.4 Bilan

Finalement, pendant la période d'évaluation 2019-2020, 3 taureaux ont été exclus de la station pour motif besnoitiose. Un d'entre eux a été identifié dès son entrée dans la station (D), un autre correspondait à un animal ayant fait une séroconversion dans la station (F) et le dernier ayant manifesté des signes cliniques de phase fébrile dans la station (G).

77 taureaux ont pu suivre la totalité de l'évaluation et les 40 meilleurs d'entre eux ont été vendus aux enchères. Un taureau porteur mais faiblement parasité (E) a été conservé dans la station, cependant aucune offre n'a été faite pour celui-ci lors de la vente, il avait obtenu des résultats moyens lors de la sélection et ne correspondait pas aux critères de recherche fréquents (porteur hétérozygote du gène culard mh).

Tableau 8 : Tableau de synthèse des différents résultats d'analyses effectuées sur les taureaux au cours de la saison 2019-2020.

Taureaux		8 août		2 septembre			10-16 octobre			29 octobre		11-12 novembre		23 décembre		18 février	
		ELISA	Clinique	ELISA	ELISA	Clinique	PCR	Clinique	ELISA	Clinique	PCR	Clinique	ELISA	Clinique	Clinique	Clinique	ELISA
Entrés en août	F	-	-	- 15%	-	-	-	-	+	-	+	29,6					
	10 autres	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Entrés en juillet	G				-	-	-	-	-	+	+	sang					
	D				+	-	+	20									
	E				+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+
	H				-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	?	-
	65 autres				-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Légende : fond blanc : animal absent de la station ; fond vert : animal séronégatif ; fond orange : animal séropositif ou suspect de besnoitiose ; fond rouge : animal fort contaminateur et exclu de la station.

## 4. Discussion

### 4.1 Retour sur les évènements de novembre 2019

#### 4.1.1 Apparition d'un nouveau cas clinique

Au mois de novembre 2019, un nouveau cas clinique de phase fébrile de besnoitiose a été identifié parmi les jeunes taureaux en évaluation (taureau G). Ce taureau appartenait à la même case que le taureau F qui a été identifié comme séropositif et fort contaminateur de façon concomitante.

#### 4.1.2 Une gestion du temps à améliorer

Les prises de sang effectuées dans le cadre du screening sérologique initial le 29 octobre ont été acheminées au laboratoire le 8 novembre et les résultats n'ont été connus que le 12 novembre. Un envoi plus rapide des échantillons sanguins au laboratoire aurait peut-être permis d'identifier plus rapidement la séroconversion du taureau F. Ce taureau aurait pu être isolé le temps de réaliser une biopsie cutanée et en attente des résultats de qPCR ce qui aurait peut-être permis d'éviter la contamination du taureau G.

En conclusion, il est primordial de mettre en œuvre des analyses de laboratoire aussitôt les prélèvements effectués afin d'éviter de nouvelles contaminations.

Cependant, la cause initiale de ces évènements reste la détection tardive de la séroconversion du taureau F qui pose la question de l'amélioration du screening sérologique initial.



## 4.2 Screening sérologique initial

### 4.2.1 Historique du taureau F

Si on regarde l'antériorité du taureau F, on voit qu'il avait obtenu un résultat négatif en ELISA à la première sérologie et également un résultat négatif à la seconde sérologie mais avec une réaction légère, inférieure au seuil de positivité (15% en IDVET pour un seuil à 70%). Il est donc probable que cet animal était en cours de séroconversion au moment de la seconde prise de sang ce qui correspond environ à une contamination concomitante à son arrivée dans la station. Ce taureau est donc passé au travers des mailles du screening sérologique initial.

### 4.2.2 Améliorations possibles du screening sérologique initial

Afin d'éviter que certains animaux ne soient pas détectés lors de ce screening, on pourrait proposer d'effectuer des prélèvements et des analyses de façon plus fréquente, il a été décidé sur les saisons prochaines d'effectuer un contrôle sérologique 1 mois après le second contrôle du screening sérologique initial. Cela permet de rajouter un contrôle sérologique en début d'évaluation ce qui doit en théorie permettre de détecter toutes les séroconversions.

Il est également possible de décider d'analyser par Western Blot les sérums ayant légèrement réagit par la méthode ELISA (ce qui aurait peut-être permis de détecter la séropositivité du taureau F plus tôt).

### 4.3 Prendre le risque de conserver des animaux séropositifs

#### 4.3.1 Un risque de contamination réduit mais non nul

Le fait de conserver dans le troupeau des jeunes mâles qui sont porteurs de kystes à bradyzoïtes dans leur peau mais en faible quantité (animaux faibles contamineurs) rend nécessairement le risque de contamination encore possible bien que ce risque soit considérablement plus faible qu'avec des taureaux forts contamineurs. Cela a bien été illustré lors de la saison 2019-2020 car la contamination du taureau G est très probablement attribuable au taureau F qui appartenait au même lot alors que le taureau E n'a contaminé aucun autre animal.

#### 4.3.2 Un large panel d'animaux

Cette stratégie permet d'inclure certains animaux de bonne valeur génétique dans le schéma de sélection de la race Gasconne. Les cheptels non indemnes peuvent donc encore fournir la station en jeunes mâles. Parmi la bande 2019-2020, le taureau E a ainsi pu être évalué et comparé aux autres, il a d'ailleurs montré des caractéristiques intéressantes qui lui ont permis d'être sélectionné pour participer à la vente aux enchères des taureaux.

#### 4.3.3 Evaluation de la qualité du sperme des taureaux séropositifs

Afin de compléter cette stratégie, il serait intéressant de procéder à une évaluation de la qualité de la semence des animaux séropositifs conservés en station. Cela permettrait de s'assurer que leur contamination par *B. besnoiti* n'a pas altéré la qualité de leur semence dans le but de les vendre en tant que reproducteurs.

#### 4.4 Surveillance des autres troupeaux de la station de sélection

Pour éviter l'introduction ou l'apparition d'individus forts contaminateurs à proximité du troupeau des jeunes mâles, il est très important d'appliquer un protocole similaire aux autres troupeaux de la station :

- Pour les animaux de passage (taureaux de race Bruna d'Andorra et génisses en pension) : screening sérologique initial et suivi régulier et quantification de positifs
- Pour les animaux permanents (troupeau de vaches) : sérologies lors de la prophylaxie annuelle et contrôle sérologique en retour d'estive pour les vaches qui y sont conduites et quantification sur biopsie cutanée en cas de séroconversion.

Au cours de la saison 2019-2020, des séroconversions ont d'ailleurs eu lieu parmi des vaches du troupeau permanent sans que la cause directe ne soit identifiée.

#### 4.5 Connaissance du statut de chaque élevage fournisseur et acheteur

Afin de maîtriser de façon plus complète le sujet de la besnoitiose dans la race Gasconne, il serait intéressant de connaître le statut sanitaire de chaque élevage fournisseur et acheteur de la station. Cela permettrait de redoubler de vigilance lors du screening sérologique initial pour les taureaux provenant d'élevages non indemnes ou partageant des estives avec des élevages non indemnes.

De la même manière, les éleveurs pourraient connaître de manière précise leur statut ce qui pourra les orienter vers l'achat d'un animal séronégatif s'ils sont indemnes ou d'un animal séropositif s'ils sont non indemnes et sans objectif d'assainissement.

## 4.6 Applications possibles d'un tel protocole

Ce protocole et ces stratégies pourraient être appliqués dans d'autres organismes de sélection qui doivent faire face à la besnoitiose.

Mais son application peut également être envisagée dans un élevage à forte séroprévalence avec une volonté d'assainissement car il permet d'éliminer dans un premier temps tous les animaux qui présentent un fort risque de contamination puis dans un second temps les animaux qui présentent moins de risques. Il est ainsi possible d'étaler sur plusieurs années les réformes tout en diminuant considérablement le risque d'apparition de nouveaux cas (Bottari, 2019).



# Conclusion

---

La besnoitiose est une maladie qui connaît actuellement une recrudescence en France. Elle fait d'ailleurs l'objet de dépistages systématiques avant l'entrée en station des jeunes mâles pour d'autres races bovines avec exclusion systématique des séropositifs. Pour la station gasconne, l'objectif principal demeure l'évaluation et la sélection des meilleurs futurs reproducteurs de la race. En outre, la prévalence élevée de la besnoitiose dans la race Gasconne des Pyrénées et le faible effectif de cette race contraignent l'organisme de sélection à plus de compromis afin de conserver une bonne diversité génétique.

Le protocole établi afin de maîtriser la besnoitiose pendant la période de transit des jeunes mâles en station repose sur un dépistage sérologique préalable de tous les candidats et d'une quantification de l'infection pour les séropositifs afin d'identifier d'éventuels « bons contaminateurs » et de les écarter de la station. Les individus séropositifs mais présentant un faible risque de contamination sont conservés en station et participent à l'évaluation de leurs performances. Pendant la période d'évaluation, des contrôles sérologiques sont effectués régulièrement tous les 2 mois afin d'identifier d'éventuelles séroconversions.

Cette stratégie originale de gestion de la besnoitiose permet de conserver dans le centre de sélection des taureaux séropositifs mais présentant un faible risque de contamination et donc de conserver un panel de taureaux le plus large possible. De plus ce protocole permet en fin de sélection de proposer à la vente des taureaux de tout statut sanitaire vis-à-vis de la besnoitiose et sans atteinte de leur fertilité. Cela permet aux éleveurs dont la prévalence du troupeau est élevée et sans objectif d'assainissement immédiat, de pouvoir acquérir un taureau de bonne valeur génétique sans que celui-ci ne risque de développer une forme clinique grave de la maladie une fois dans l'élevage.

Pour la saison 2019-2020, la mise en œuvre de ce protocole a permis de conserver en station un taureau séropositif sans que celui-ci ne soit à l'origine d'une nouvelle contamination. Cependant, la non-détection d'un animal en cours de séroconversion lors de son entrée en station a été à l'origine de l'apparition d'un cas clinique de besnoitiose. La reconduction de ce protocole sur la saison 2020-2021 avec une surveillance accrue lors du screening sérologique initial devrait donc permettre de minimiser les risques de nouvelle contamination. Il est

néanmoins primordial de procéder à l'analyse rapide des échantillons prélevés sur les animaux afin de ne pas perdre de temps si un animal doit être exclu de la station.

En outre de la gestion de la besnoitiose dans le troupeau de jeunes mâles en évaluation, le contrôle de la situation sanitaire sur les autres troupeaux présents dans la station de sélection est une nécessité afin de s'affranchir du risque de contaminations à partir de ces troupeaux.

A l'échelle du cheptel gascon, la connaissance épidémiologique de la besnoitiose pourrait permettre d'avoir une vision plus globale de la situation sanitaire. Cela permettrait d'identifier les élevages à forte prévalence dans lesquels un protocole similaire pourrait être appliqué dans un objectif d'assainissement au long terme. Cependant, il ne faut pas oublier que d'autres races bovines sont présentes en grand nombre dans les départements pyrénéens, c'est pour cela que d'éventuels plans de gestion sanitaire dans ces départements ne doivent pas se focaliser uniquement sur la race Gasconne des Pyrénées.

**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussigné, Philippe JACQUIET, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **CHOMARAT Théo** intitulée « **Elaboration d'un protocole de dépistage de contrôle de la besnoitiose bovine au sein du centre de sélection de la race Gasconne** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 03/11/2020  
Enseignant-chercheur de l'Ecole Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Philippe JACQUIET



Vu :  
Le Directeur de l'Ecole Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
M. Pierre SANS




Vu :  
Le Président du jury  
Professeur Alexis VALENTIN



Vu et autorisation de l'impression :  
Le Président de l'Université Paul Sabatier  
M. Jean-Marc BROTO



  
Université Paul Sabatier  
Département de l'Enseignement,  
de la Recherche et de la Formation  
de la CFVU  
Christiane ALARY

M. CHOMARAT Théo  
a été admis sur concours en : 2015  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le: 09/07/2019  
a validé son année d'approfondissement le: 04/06/2020  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.



Université  
de Toulouse





# Bibliographie

---

ÁLVAREZ-GARCÍA, G., FERNÁNDEZ-GARCÍA, A., GUTIÉRREZ-EXPÓSITO, D., QUITERIA, J.A., AGUADO-MARTÍNEZ, A. et ORTEGA-MORA, L.M., 2014. Seroprevalence of *Besnoitia besnoiti* infection and associated risk factors in cattle from an endemic region in Europe. In : *The Veterinary Journal*. Vol. 200, n° 2, p. 328-331.

ÁLVAREZ-GARCÍA, G., FREY, C.F., ORTEGA-MORA, L.M. et SCHARES, G., 2013. A century of bovine besnoitiosis : an unknown disease re-emerging in Europe. In : *Trends in Parasitology*. Vol. 29, n° 8, p. 407-415.

ÁLVAREZ-GARCÍA, G., GARCÍA-LUNAR, P., GUTIÉRREZ-EXPÓSITO, D., SHKAP, V. et ORTEGA-MORA, L.M., 2014. Dynamics of *Besnoitia besnoiti* infection in cattle. In : *Parasitology*. Vol. 141, n° 11, p. 1419-1435.

ALZIEU, J.P., JACQUIET, P., BOULON, C., MÉJEAN, F., DESCLAUX, X., PRÉVOT, F., FRANC, M., RAMEIL, M., GRISEZ, C., MALAVIEILLE, R., BOUHSIRA, E. et LIÉNARD, E., 2016. La besnoitiose bovine : actualités physio-pathogéniques, cliniques et épidémiologiques. In : *Bulletin des GTV*. 2016. n° 84, p. 67-78.

ALZIEU, J.P., 1991. La besnoitiose bovine ou anasarque des bovins. In : *Bulletin des GTV*. 1991. n° 6, p. 157-161.

ALZIEU, J.P., CORTES, H., GOTTSTEIN, B., JACQUIET, P., DORCHIES, P., SCHELCHER, F. et L'HOSTIS, M., 2007. La besnoitiose bovine : actualités épidémiologiques et diagnostiques. In : *Bulletin des GTV*. 2007. Vol. Hors-série parasitisme des bovins, p. 41-49.

ALZIEU, J.P., DORCHIES, P., SCHELCHER, F. et GOTTSTEIN, B., 2007. L'extension de la besnoitiose bovine en France. In : *Le point vétérinaire*. 2007. n° 276, p. 37-43.

ALZIEU, J.P. et JACQUIET, P., 2009. Actualités sur la transmission et le diagnostic de la besnoitiose bovine. In : *Le point vétérinaire*. 2009. n° 301, p. 16-19.

ALZIEU, J.P. et JACQUIET, P., 2011. Réémergence de la besnoitiose bovine : démarche diagnostique et possibilités de contrôle. In : *Bulletin des GTV*. 2011. n° 58, p. 71-86.

ALZIEU, J.P. et JACQUIET, P., 2012. La besnoitiose bovine : du constat de son émergence à la nécessité de son contrôle. In : *Le point vétérinaire numéro spécial parasitologie interne des ruminants*. 2012. n° 43, p. 106-112.

ALZIEU, J.P., JACQUIET, P., BOULON, C., MÉJEAN, F., DESCLAUX, X., PRÉVOT, F., RAMEIL, M., GRISEZ, C., MALAVIEILLE, R., BOUHSIRA, E. et LIÉNARD, E., 2017. La besnoitiose bovine : moyens diagnostic et stratégies possibles de contrôle. In : *Bulletin des GTV*. 2017. n° 85.

ALZIEU, J.P., JACQUIET, P., DESCLAUX, X., RAMEIL, M., PEREZ, L., PRÉVOT, F., GRISEZ, C., BOTTARI, L., BOULON, C., MÉJEAN, F., LACZ, C., PAILLAS, J.M. et LOCATELLI, C., 2019. La besnoitiose bovine : du diagnostic au contrôle, intérêts et limites des méthodes diagnostiques pour les matrices sang, lait et peau. In : *Bulletin des GTV*. 2019. n° 95, p. 89-102.

ARNAL, M.C., GUTIÉRREZ-EXPÓSITO, D., MARTÍNEZ-DURÁN, D., REGIDOR-CERRILLO, J., REVILLA, M., FERNÁNDEZ DE LUCO, D., JIMÉNEZ-MELÉNDEZ, A., ORTEGA-MORA, L.M. et ÁLVAREZ-GARCÍA, G., 2017. Systemic Besnoitiosis in a Juvenile Roe Deer (*Capreolus capreolus*). In : *Transboundary and Emerging Diseases*. Vol. 64, n° 5, p. e8-e14.

BARROS, A.T.M. et FOIL, L.D., 2007. The influence of distance on movement of tabanids (Diptera : Tabanidae) between horses. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 144, n° 3-4, p. 380-384.

BASSO, W., SCHARES, G., GOLLNICK, N.S., RÜTTEN, M. et DEPLAZES, P., 2011. Exploring the life cycle of *Besnoitia besnoiti*—Experimental infection of putative definitive and intermediate host species. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 178, n° 3-4, p. 223-234.

BASSO, W., LESSER, M., GRIMM, F., HILBE, M., SYDLER, T., TRÖSCH, L., OCHS, H., BRAUN, U. et DEPLAZES, P., 2013. Bovine besnoitiosis in Switzerland : Imported cases and local transmission. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 198, n° 3-4, p. 265-273.

BASSON, P.A., 1965. Besnoitiosis in South African antelopes : a preliminary note on the occurrence of *Besnoitia* cysts in the cardiovascular system. In : *Journal of the South African Veterinary Association*. Vol. 36, n° 4, p. 578.

BESNOIT, C. et ROBIN, V., 1912. Sarcosporidiose cutanée chez une vache. In : *Revue Vétérinaire*. 1912. Vol. 37, p. 649-663.

BIGALKE, R.D., 1960. Preliminary observations on the mechanical transmission of cyst organisms of *Besnoitia besnoiti* (Marotel, 1912) from a chronically infected bull to rabbits by *Glossina brevipalpis* (Newstead, 1910). In : *Journal of the South African Veterinary Association*. Vol. 31, n° 1, p. 37-44.

BIGALKE, R.D., SCHOEMAN, J.H. et MCCULLY, R.M., 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. In : *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. Vol. 41, n° 1, p. 1-5.

BIGALKE, R.D. et JANSEN, B.C., 1968. New concepts on the epidemiological features of bovine besnoitiosis as determined by laboratory and field investigations. In : *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. Vol. 35, p. 3-138.

BLEROT, M., CHANTRY, T., ALZIEU, J.P. et JACQUIET, P., 2012. Cas clinique de besnoitiose bovine en Saône-et-Loire : avis d'experts. In : *Bulletin des GTV*. 2012. n° 67, p. 12-13.

BOTTARI, L., 2019. *La besnoitiose bovine : utilisation de la biopsie cutanée comme un outil diagnostique des individus forts contaminateurs et stratégie d'assainissement des troupeaux à forte séroprévalence*. Thèse de Doctorat vétérinaire, Toulouse, 133p.

BOUBET, B., 2018. La besnoitiose, un premier cas clinique confirmé en Creuse. In : *La Creuse Agricole et Rurale*. Vol. n°2212 déc. 2018.

CADÉAC, C., 1884. Identité de l'éléphantiasis et de l'anasarque du bœuf. Description de cette maladie. In : *Revue Vétérinaire*. p. 521-540.

CASTILLO, J.A., CASASÚS, I., SANZ, A., GARCÍA-LUNAR, P., ESTEBAN-GIL, A. et ÁLVAREZ-GARCÍA, G., 2013. Chronic bovine besnoitiosis : Intra-organ parasite distribution, parasite loads and parasite-associated lesions in subclinical cases. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 197, n° 1-2, p. 95-103.

CORTES, H.C.E., NUNES, S., REIS, Y., STAUBLI, D., VIDAL, R., SAGER, H., LEITÃO, A. et GOTTSTEIN, B., 2006. Immunodiagnosis of *Besnoitia besnoiti* infection by ELISA and Western blot. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 141, n° 3-4, p. 216-225.

CORTES, H., FERREIRA, M.L., SILVA, J.F., VIDAL, R. et SERRA, P., 2003. Contribuição para o estudo da besnoitiose bovina em Portugal. In : *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. Vol. 98, p. 43-46.

CORTES, H., LEITAO, A., VIDAL, R., VILA-VICOSA, M.J., FERREIRA, M.L., CAEIRO, V. et HJERPE, C.A., 2005. Besnoitiosis in bulls in Portugal. In : *Veterinary Record*. Vol. 157, n° 9, p. 262-264.

CORTES, H., REIS, Y., GOTTSTEIN, B., HEMPHILL, A., LEITÃO, A. et MÜLLER, N., 2007. Application of conventional and real-time fluorescent ITS1 rDNA PCR for detection of *Besnoitia besnoiti* infections in bovine skin biopsies. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 146, n° 3-4, p. 352-356.

DELAFOSSÉ, A., 2011. Enquête sérologique sur l'introduction de la besnoitiose bovine dans l'Orne. In : *Point Vétérinaire – Expert Rural*. 2011. n° 42 (317), p. 52-56.

DIESING, L., HEYDORN, A.O., MATUSCHKA, F.R., BAUER, C., PIPANO, E., DE WAAL, D.T. et POTGIETER, F.T., 1988. *Besnoitia besnoiti* : Studies on the definitive host and experimental infections in cattle. In : *Parasitology Research*. Vol. 75, n° 2, p. 114-117.

DIEZMA-DÍAZ, C., JIMÉNEZ-MELÉNDEZ, A., FERNÁNDEZ, M., GUTIÉRREZ-EXPÓSITO, D., GARCÍA-LUNAR, P., ORTEGA-MORA, L.M., PÉREZ-SALAS, J.A., BLANCO-MURCIA, J.,

FERRE, I. et ÁLVAREZ-GARCÍA, G., 2017. Bovine chronic besnoitiosis in a calf : Characterization of a novel *B. besnoiti* isolate from an unusual case report. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 247, p. 10-18.

DIEZMA-DÍAZ, C., JIMÉNEZ-MELÉNDEZ, A., RE, M.T., FERRE, I., FERRERAS, M.C., GUTIÉRREZ-EXPÓSITO, D., ROJO-MONTEJO, S., ROMÁN-TRUFERO, A., BENAVIDES-SILVÁN, J., GARCÍA-LUNAR, P., CALLEJA-BUENO, L., BLANCO-MURCIA, J., OSORO, K., ORTEGA-MORA, L.M. et ÁLVAREZ-GARCÍA, G., 2018. Effect of parasite dose and host age on the infection with *Besnoitia besnoiti* tachyzoites in cattle. In : *Transboundary and Emerging Diseases*. Vol. 65, n° 6, p. 1979-1990.

DORCHIES, P., DUNCAN, J., LOSSON, B., ALZIEU, J.P., 2012, Parasitologie Clinique des bovins, Med'Com Edition.

DUBEY, J.P., SHKAP, V., PIPANO, E., FISH, L. et FRITZ, D.L., 2003. Ultrastructure of *Besnoitia besnoiti* Tissue Cysts and Bradyzoites. In : *The Journal of Eukaryotic Microbiology*. Vol. 50, n° 4, p. 240-244.

DUBOISSET, C., 2013. *Etude rétrospective d'un foyer de besnoitiose bovine dans le département de l'Ardèche : aspects économiques*, Thèse de Doctorat vétérinaire, Lyon, 88p.

EFSA, 2010. Bovine Besnoitiosis : An emerging disease in Europe. In : *EFSA Journal*. 2010. Vol. 8, n° 2, p. 1499.

ELLIS, J.T., HOLMDAHL, O.J.M., RYCE, C., NJENGA, J.M., HARPER, P.A.W. et MORRISON, D.A., 2000. Molecular Phylogeny of *Besnoitia* and the Genetic Relationships Among *Besnoitia* of Cattle, Wildebeest and Goats. In : *Protist*. Vol. 151, n° 4, p. 329-336.

ESQUERRÉ, E., 2015. *La besnoitiose : synthèse méthodique épidémiologique et étude de l'évolution épidémiologique en région PACA*. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Lyon, 129p.

ESTEBAN-GIL, A., CALVETE, C., CASASÚS, I., SANZ, A., FERRER, J., PERIS, M.P., MARCÉN-SERAL, J.M. et CASTILLO, J.A., 2017. Epidemiological patterns of bovine besnoitiosis in an endemic beef cattle herd reared under extensive conditions. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 236, p. 14-21.

ESTEBAN-GIL, A., GRISEZ, C., PREVOT, F., FLORENTIN, S., DECAUDIN, A., PICARD-HAGEN, N., BERTHELOT, X., RONSIN, P., ALZIEU, J.P., MAROIS, M., CORBOZ, N., PEGLION, M., VILARDELL, C., LIÉNARD, E., BOUHSIRA, E., CASTILLO, J.A., FRANC, M. et JACQUIET, P., 2014. No detection of *Besnoitia besnoiti* DNA in the semen of chronically infected bulls. In : *Parasitology Research*. Vol. 113, n° 6, p. 2355-2362.

ESTEBAN-GIL, A., JACQUIET, P., FLORENTIN, S., DECAUDIN, A., BERTHELOT, X., RONSIN, P., GRISEZ, C., PREVOT, F., ALZIEU, J.P., MAROIS, M., CORBOZ, N., PEGLION, M., VILARDELL, C., LIÉNARD, E., BOUHSIRA, E., CASTILLO, J.A., FRANC, M. et PICARD-

HAGEN, N., 2016. Does bovine besnoitiosis affect the sexual function of chronically infected bulls ? In : *Theriogenology*. Vol. 86, n° 5, p. 1325-1332.

FERNANDEZ-GARCIA, A., ALVAREZ-GARCIA, G., RISCO-CASTILLO, V., AGUADO-MARTINEZ, A., MARCEN, J.M., ROJO-MONTEJO, S., CASTILLO, J.A. et ORTEGA-MORA, L.M., 2010. Development and use of an indirect ELISA in an outbreak of bovine besnoitiosis in Spain. In : *Veterinary Record*. Vol. 166, n° 26, p. 818-822.

FERRIÉ, J., 1984. *La besnoitiose bovine : revue bibliographique-Observations personnelles*. Thèse de Doctorat vétérinaire, Toulouse, 288p.

FLORENTIN, S., 2016. *La semence de taureaux infectés par Besnoitia besnoiti : moindre qualité et source de contamination ?* Thèse de Doctorat vétérinaire, Toulouse, 86p.

FOUQUET, C., 2009. *La besnoitiose bovine : suivi épidémiologique de l'épizootie en région PACA*. Thèse de Doctorat vétérinaire, Lyon, 105p.

FRANC, M. et CADIERGUES, M.C, 1999. La besnoitiose bovine : attitude diagnostique et thérapeutique. In : *Bulletin Groupement Technique Vétérinaire*. n° 2, p. 119-124.

FRANCO, E.E. et BORGES, I., 1916. Sur la sarcosporidiose bovine. In : *Arq. Inst. Bact. Camara Pastana*. Vol. 4, p. 269-289.

FRENKEL, J.K., 1977. *Besnoitia wallacei* of Cats and Rodents : With a Reclassification of Other Cyst-Forming Isosporoid Coccidia. In : *The Journal of Parasitology*. Vol. 63, n° 4, p. 611.

FREUDIGER, I., 2008. *La besnoitiose bovine : étude épidémiologique de l'épizootie des Alpes-de-Haute-Provence et des Hautes-Alpes*. Thèse de Doctorat vétérinaire, Lyon, 84p.

FREY, C.F., GUTIÉRREZ-EXPÓSITO, D., ORTEGA-MORA, L.M., BENAVIDES, J., MARCÉN, J.M., CASTILLO, J.A., CASASÚS, I., SANZ, A., GARCÍA-LUNAR, P., ESTEBAN-GIL, A. et ÁLVAREZ-GARCÍA, G., 2013. Chronic bovine besnoitiosis : Intra-organ parasite distribution, parasite loads and parasite-associated lesions in subclinical cases. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 197, n° 1-2, p. 95-103.

GARCÍA-LUNAR, P., ORTEGA-MORA, L.M., SCHARES, G., GOLLNICK, N.S., JACQUIET, P., GRISEZ, C., PREVOT, F., FREY, C.F., GOTTSTEIN, B. et ÁLVAREZ-GARCÍA, G., 2013. An Inter-Laboratory Comparative Study of Serological Tools Employed in the Diagnosis of *Besnoitia besnoiti* Infection in Bovines : Bovine Besnoitiosis : Comparative Study of Serological Tests. In : *Transboundary and Emerging Diseases*. Vol. 60, n° 1, p. 59-68.

GAZZONIS, A.L., ALVAREZ GARCIA, G., MAGGIONI, A., ZANZANI, S.A., OLIVIERI, E., COMPIANI, R., SIRONI, G., ORTEGA MORA, L.M. et MANFREDI, M.T., 2017. Serological

dynamics and risk factors of *Besnoitia besnoiti* infection in breeding bulls from an endemically infected purebred beef herd. In : *Parasitology Research*. Vol. 116, n° 4, p. 1383-1393.

GENEST, M., 2008. *La besnoitiose bovine à besnoitia besnoiti : enquête sérologique et écologique dans un foyer d'émergence du Maine et Loire*. Thèse de Doctorat vétérinaire, Nantes, 135p.

GENTILE, A., MILITERNO, G., BASSI, P., SCHARES, G., MAJZOUN, M. et GOLLNICK, N.S., 2010. Su di un episodio di besnoitiosi bovina in Italia. In : *Buiatria*. Vol. 5, p. 3-16.

GILLES, J., DAVID, J.F., DUVALLET, G., DE LA ROCQUE, S. et TILLARD, E., 2007. Efficiency of traps for *Stomoxys calcitrans* and *Stomoxys niger niger* on Reunion Island. In : *Medical and Veterinary Entomology*. Vol. 21, n° 1, p. 65-69.

GOLDMAN, M. et PIPANO, E., 1983. Serological studies on bovine besnoitiosis in Israel. In : *Tropical Animal Health and Production*. Vol. 15, n° 1, p. 32-38.

GOLLNICK, N.S., SCHARR, J.C., SCHARES, G. et LANGENMAYER, M.C., 2015. Natural *Besnoitia besnoiti* infections in cattle : chronology of disease progression. In : *BMC Veterinary Research*. Vol. 11, n° 1, p. 35.

GRISEZ, C., BOTTARI, L., PRÉVOT, F., ALZIEU, J.P., LIÉNARD, E., CORBIÈRE, F., RAMEIL, M., DESCLAUX, X., LACZ, C., BOULON, C., PETERMANN, J., LE MÉVEL, J., VILARDELL, C. et JACQUIET, P., 2020. Real-time PCR on skin biopsies for super-spreaders' detection in bovine besnoitiosis. In : *Parasites & Vectors*. Vol. 13, n° 1, p. 529.

GUTIÉRREZ-EXPÓSITO, D., ORTEGA-MORA, L. M., GARCÍA-LUNAR, P., ROJO-MONTEJO, S., ZABALA, J., SERRANO, M. et ALVAREZ-GARCÍA, G., 2017. Clinical and Serological Dynamics of *Besnoitia besnoiti* Infection in Three Endemically Infected Beef Cattle Herds. In : *Transboundary and Emerging Diseases*. Vol. 64, n° 2, p. 538-546.

GUTIÉRREZ-EXPÓSITO, D., ARNAL, M.C., MARTÍNEZ-DURÁN, D., REGIDOR-CERRILLO, J., REVILLA, M., FERNÁNDEZ DE LUCO, D.L., JIMÉNEZ-MELÉNDEZ, A., CALERO-BERNAL, R., HABELA, M.A., GARCÍA-BOCANEGRA, I., ARENAS-MONTES, A., ORTEGA-MORA, L.M. et ÁLVAREZ-GARCÍA, G., 2016. The role of wild ruminants as reservoirs of *Besnoitia besnoiti* infection in cattle. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 223, p. 7-13.

GUTIÉRREZ-EXPÓSITO, D., ESTEBAN-GIL, A., ORTEGA-MORA, L.M., GARCÍA-LUNAR, P., CASTILLO, J.A., MARCÉN, J.M. et ALVAREZ-GARCÍA, G., 2014. Prevalence of *Besnoitia besnoiti* infection in beef cattle from the Spanish Pyrenees. In : *The Veterinary Journal*. Vol. 200, n° 3, p. 468-470.

HOLLANDER, A.L. et WRIGHT, R.E., 1980. Impact of Tabanids on Cattle : Blood Meal Size and Preferred Feeding Sites, In : *Journal of Economic Entomology*. Vol. 73, n° 3, p. 431-433.

HORNOK, S., FEDÁK, A., BASKA, F., HOFMANN-LEHMANN, R. et BASSO, W., 2014. Bovine besnoitiosis emerging in Central-Eastern Europe, Hungary. In : *Parasites & Vectors*. Vol. 7, n° 1, p. 20.

IRIGOIEN, M., DEL CACHO, E., GALLEGRO, M., LÓPEZ-BERNAD, F., QUÍLEZ, J. et SÁNCHEZ-ACEDO, C., 2000. Immunohistochemical study of the cyst of *Besnoitia besnoiti*. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 91, n° 1-2, p. 1-6.

JACQUIET, P. et ALZIEU, J.P., 2009. À quand la besnoitiose au nord de la Loire ? In : *Le point vétérinaire*. 2009. n° 301, p. 11.

JACQUIET, P. et ALZIEU, J.P., 2011. Questions au sujet de la besnoitiose bovine. In : *Point vétérinaire - Expert rural*. 2011. n° 42 (317), p. 58-61.

JACQUIET, P., LIÉNARD, E. et FRANC, M., 2010. Bovine besnoitiosis : Epidemiological and clinical aspects. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 174, n° 1-2, p. 30-36.

JACQUIET, P., ROUET, D., BOUHSIRA, E., SALEM, A., LIENARD, E. et FRANC, M., 2014. Population dynamics of *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera : Muscidae) in southwestern France. In : *Revue de médecine vétérinaire*. Vol. 165, p. 267-271.

JANITSCHKE, K., DE VOS, A.J. et BIGALKE, R.D., 1984. Serodiagnosis of bovine besnoitiosis by ELISA and immunofluorescence tests. In : *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. Vol. 51, n° 4, p. 239-243.

JELLISON, W.L., 1956. On the nomenclature of *Besnoitia besnoiti*, a protozoan parasite. In : *Annals of the New York Academy of Sciences*. Vol. 64, n° 2, p. 268-270.

JUSTE, R., 1990. La besnoitiosis bovina : ¿desconocida en España? In : *Medicina Veterinaria*. Vol. 7, n° 11, p. 613-618.

LANGENMAYER, M.C., SCHARR, J.C., SAUTER-LOUIS, C., SCHARES, G. et GOLLNICK, N.S., 2015. Natural *Besnoitia besnoiti* infections in cattle : hematological alterations and changes in serum chemistry and enzyme activities. In : *BMC Veterinary Research*. Vol. 11, n° 1, p. 32.

LE SOBRE, G. et PIN, D., 2011. Premier cas de besnoitiose bovine dans le Rhône. In : *Point vétérinaire*. n° 317, p. 46-50.

LEE, H.S., BAK, U.B., MOON, M.H. et SHIN, J.U., 1970. Studies on bovine besnoitiosis in Korea II. A survey on incidence in the enzootic region. In : *The Korean Journal of Parasitology*. Vol. 8, n° 3, p. 76.

LEGRAND, P., 2003. *La besnoitiose bovine en Ariège*. Thèse de Doctorat vétérinaire, Toulouse, 87p.



LENFANT, F., 2013. *Mise au point d'une technique de diagnostic sérologique par immunofluorescence indirecte de la Besnoitiose bovine à Besnoitia besnoiti*. Thèse de Doctorat vétérinaire, Toulouse, 127p.

LIÉNARD, E., SALEM, A., GRISEZ, C., PRÉVOT, F., BERGEAUD, J.P., FRANC, M., GOTTSTEIN, B., ALZIEU, J.P., LAGALISSE, Y. et JACQUIET, P., 2011. A longitudinal study of *Besnoitia besnoiti* infections and seasonal abundance of *Stomoxys calcitrans* in a dairy cattle farm of southwest France. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 177, n° 1-2, p. 20-27.

LIÉNARD, E., SALEM, A., JACQUIET, P., GRISEZ, C., PRÉVOT, F., BLANCHARD, B., BOUHSIRA, E. et FRANC, M., 2013. Development of a protocol testing the ability of *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera : Muscidae) to transmit *Besnoitia besnoiti* (Henry, 1913) (Apicomplexa : Sarcocystidae). In : *Parasitology Research*. Vol. 112, n° 2, p. 479-486.

LIÉNARD, E., POP, L., PRÉVOT, F., GRISEZ, C., MALLET, V., RAYMOND-LETRON, I., BOUHSIRA, É., FRANC, M. et JACQUIET, P., 2015. Experimental infections of rabbits with proliferative and latent stages of *Besnoitia besnoiti*. In : *Parasitology Research*. Vol. 114, n° 10, p. 3815-3826.

LORENZA, R. et BOULON, C., 2015. Exemple d'un plan de lutte contre la besnoitiose en Ardèche. In : *La semaine vétérinaire*. n° 1646, p. 35.

LORENZA, R., 2015. La besnoitiose, une maladie qui s'achète et s'exporte. In : *La semaine vétérinaire*. n° 1642, p. 38.

LORENZA, R., 2017. Un premier cas de besnoitiose dans les Vosges. In : *La semaine vétérinaire*. n° 1710, p. 29.

MCCULLY, R.M., BASSON, P.A., VAN NIEKERK, J.W. et BIGALKE, R.D., 1966. Observations on *Besnoitia* cysts in the cardiovascular system of some wild antelopes and domestic cattle. In : *Onderstepoort Journal Veterinary Research*. Vol. 33, p. 245-276.

MILLÁN, J., SOBRINO, R., RODRÍGUEZ, A., OLEAGA, Á., GORTAZAR, C. et SCHARES, G., 2012. Large-scale serosurvey of *Besnoitia besnoiti* in free-living carnivores in Spain. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 190, n° 1-2, p. 241-245.

MUÑOZ CARO, T., HERMOSILLA, C., SILVA, L.M.R., CORTES, H. et TAUBERT, A., 2014 (a). Neutrophil extracellular traps as innate immune reaction against the emerging apicomplexan parasite *Besnoitia besnoiti*. In : *PloS One*. Vol. 9, n° 3, p. e91415.

MUÑOZ CARO, T., SILVA, L.M.R., RITTER, C., TAUBERT, A. et HERMOSILLA, C., 2014 (b). *Besnoitia besnoiti* tachyzoites induce monocyte extracellular trap formation. In : *Parasitology Research*. Vol. 113, n° 11, p. 4189-4197.

NEUMAN, M., 1972. Serological survey of *Besnoitia besnoiti* (Marotel 1912) infection in Israel by immunofluorescence. In : *Zentralblatt Fur Veterinarmedizin. Reihe B. Journal of Veterinary Medicine. Series B.* Vol. 19, n° 5, p. 391-396.

OLIAS, P., SCHADE, B. et MEHLHORN, H., 2011. Molecular pathology, taxonomy and epidemiology of *Besnoitia* species (Protozoa : Sarcocystidae). In : *Infection, Genetics and Evolution.* Vol. 11, n° 7, p. 1564-1576.

PHELPS, R.J. et HOLLOWAY, M.T., 1990. Alighting sites of female Tabanidae (Diptera) at Rekomitjie, Zimbabwe. In : *Medical and Veterinary Entomology.* Vol. 4, n° 3, p. 349-356.

PIPANO, E., 1997. Vaccines against hemoparasitic diseases in Israel with special reference to quality assurance. In : *Tropical Animal Health and Production.* Vol. 29, n° 4 Suppl, p. 86S-90S.

POLS, J.W., 1960. Studies on bovine besnoitiosis with special reference to the aetiology. In : *Onderstepoort Journal of Veterinary Research,* Vol. 28, n°3, p. 265-356.

PRESLEY, S.M. et WRIGHT, R.E., 1986. Field test of pyrethroid ear tags, sprays, and a pour-on formulation for control of horse flies on cattle. In : *Journal of agricultural entomology (USA),* Vol. 3, n° 4, p. 369-373.

ROSTAHER, A., MUELLER, R.S., MAJZOUB, M., SCHARES, G. et GOLLNICK, N.S., 2010. Bovine besnoitiosis in Germany. In : *Veterinary Dermatology,* Vol. 21, n° 4, p. 329-334.

RYAN, E.G., LEE, A., CARTY, C., O'SHAUGHNESSY, J., KELLY, P., CASSIDY, J.P., SHEEHAN, M., JOHNSON, A. et DE WAAL, T., 2016. Bovine besnoitiosis (*Besnoitia besnoiti*) in an Irish dairy herd. In : *Veterinary Record.* Vol. 178, n° 24, p. 608-608.

SALEM, A., BOUHSIRA, E., LIENARD, E., BOUSQUET-MELOU, A., JACQUIET, P. et FRANC, M., 2012. Susceptibility of two European strains of *Stomoxys calcitrans* (L.) to cypermethrin, deltamethrin, fenvalerate,  $\lambda$ -cyhalothrin, permethrin and phoxim. In : *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine.* Vol. 10, p. 249-257.

SANNUSI, A., 1991. A simple field diagnostic smear test for bovine besnoitiosis. In : *Veterinary Parasitology.* Vol. 39, n° 1-2, p. 185-188.

SCHARES, G., BASSO, W., MAJZOUB, M., CORTES, H.C.E., ROSTAHER, A., SELMAIR, J., HERMANN, W., CONRATHS, F.J. et GOLLNICK, N.S., 2009. First in vitro isolation of *Besnoitia besnoiti* from chronically infected cattle in Germany. In : *Veterinary Parasitology.* Vol. 163, n° 4, p. 315-322.

SCHARES, G., BASSO, W., MAJZOUB, M., ROSTAHER, A., SCHARR, J.C., LANGENMAYER, M.C., SELMAIR, J., DUBEY, J.P., CORTES, H.C., CONRATHS, F.J. et GOLLNICK, N.S., 2010.

Comparative evaluation of immunofluorescent antibody and new immunoblot tests for the specific detection of antibodies against *Besnoitia besnoiti* tachyzoites and bradyzoites in bovine sera. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 171, n° 1-2, p. 32-40.

SCHARES, G., BASSO, W., MAJZOUB, M., ROSTAHER, A., SCHARR, J.C., LANGENMAYER, M.C., SELMAIR, J., DUBEY, J.P., CORTES, H.C., CONRATHS, F.J., HAUPT, T., PÜRRO, M., RAEBER, A., BUHOLZER, P. et GOLLNICK, N.S., 2011. Evaluation of a commercial ELISA for the specific detection of antibodies against *Besnoitia besnoiti*. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 175, n° 1-2, p. 52-59.

SCHARES, G., LANGENMAYER, M.C., MAJZOUB-ALTWECK, M., SCHARR, J. C., GENTILE, A., MAKSIMOV, A., SCHARES, S., CONRATHS, F.J. et GOLLNICK, N.S., 2016. Naturally acquired bovine besnoitiosis : Differential distribution of parasites in the skin of chronically infected cattle. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 216, p. 101-107.

SCHARES, G., LANGENMAYER, M.C., SCHARR, J.C., MINKE, L., MAKSIMOV, P., MAKSIMOV, A., SCHARES, S., BÄRWALD, A., BASSO, W., DUBEY, J.P., CONRATHS, F.J. et GOLLNICK, N.S., 2013. Novel tools for the diagnosis and differentiation of acute and chronic bovine besnoitiosis. In : *International Journal for Parasitology*. Vol. 43, n° 2, p. 143-154.

SCHARES, G., MAKSIMOV, A., BASSO, W., MORÉ, G., DUBEY, J.P., ROSENTHAL, B., MAJZOUB, M., ROSTAHER, A., SELMAIR, J., LANGENMAYER, M.C., SCHARR, J.C., CONRATHS, F.J. et GOLLNICK, N.S., 2011. Quantitative real time polymerase chain reaction assays for the sensitive detection of *Besnoitia besnoiti* infection in cattle. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 178, n° 3-4, p. 208-216.

SCHOFIELD, S. et TORR, S.J., 2002. A comparison of the feeding behaviour of tsetse and stable flies. In : *Medical and Veterinary Entomology*. Vol. 16, n° 2, p. 177-185.

SHARIF, S., JACQUIET, P., PREVOT, F., GRISEZ, C., RAYMOND-LETRON, I., SEMIN, M. O., GEFFRÉ, A., TRUMEL, C., FRANC, M., BOUHSIRA, É. et LIÉNARD, E., 2019. *Stomoxys calcitrans*, mechanical vector of virulent *Besnoitia besnoiti* from chronically infected cattle to susceptible rabbit. In : *Medical and Veterinary Entomology*. Vol. 33, n° 2, p. 247-255.

SHARIF, S., JACQUIET, P., PRÉVOT, F., GRISEZ, C., BOUHSIRA, E., FRANC, M. et LIÉNARD, E., 2017. Assessment of persistence of *Besnoitia besnoiti* (Henry, 1913) bradyzoites in *Stomoxys calcitrans* (Diptera : Muscidae). In : *Revue de médecine vétérinaire*. Vol. 168, n° 7-9, p. 197-203.

SHKAP, V., PIPANO, E. et ZWERNEMANN, B., 1995. Activity of a monoclonal antibody against *Besnoitia besnoiti* endozoites. In : *Veterinary Research*. Vol. 26, n° 4, p. 328-334.

SHKAP, V., RESKE, A., PIPANO, E., FISH, L. et BASZLER, T., 2002. Immunological relationship between *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti*. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 106, n° 1, p. 35-43.

- TALAFHA, A.Q., AL-MAJALI, A.M., ABABNEH, M.M. et ABUTARBUSH, S.M., 2015. Epidemiologic study on *Besnoitia besnoiti* infection in dairy herds in Jordan. In : *Parasitology Research*. Vol. 114, n° 7, p. 2491-2497.
- TAYLOR, D.B., FRIESEN, K., ZHU, J.J. et SIEVERT, K., 2012. Efficacy of cyromazine to control immature stable flies (Diptera : Muscidae) developing in winter hay feeding sites. In : *Journal of Economic Entomology*. Vol. 105, n° 2, p. 726-731.
- TAYLOR, D.B. et BERKEBILE, D., 2006. Comparative efficiency of six stable fly (Diptera : Muscidae) traps. In : *Journal of Economic Entomology*. Vol. 99, n° 4, p. 1415-1419.
- TENTER, A.M., BARTA, J.R., BEVERIDGE, I., DUSZYNSKI, D.W., MEHLHORN, H., MORRISON, D.A., THOMPSON, R.C.A et CONRAD, P.A., 2002. The conceptual basis for a new classification of the coccidia. In : *International Journal for Parasitology*. Vol. 32, n° 5, p. 595-616.
- THOMAS, C., 2007. *La besnoitiose bovine, données bibliographiques*. Thèse de Doctorat vétérinaire, Toulouse, 132p.
- TSE, C. et CAPEAU, J., 2003. Quantification des acides nucléiques par PCR quantitative en temps réel. In : *Annales de Biologie Clinique*. Vol. 61, n° 3, p. 279-293.
- VANHOUDT, A., PARDON, B., DE SCHUTTER, P., BOSSELER, L., SARRE, C., VERCRUYSSSE, J. et DEPREZ, P., 2015. First confirmed case of bovine besnoitiosis in an imported bull in Belgium. In : *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. p. 7.
- VOGELSANG, E.G. et GALLO, P., 1941. *Globidium besnoiti* (Marotel, 1912) y habronemosis cutanea en bovinos de Venezuela. In : *Rev. Med. Vet. Parasitol. Caracas*. 3, 153-155. Vol. 3, p. 153-155.
- VOTÝPKA, J., MODRÝ, D., OBORNÍK, M., ŠLAPETA, J. et LUKEŠ, J., 2017. Apicomplexa. In : ARCHIBALD, John M., SIMPSON, Alastair G.B. et SLAMOVITS, Claudio H. (éd.), *Handbook of the Protists*. Cham : Springer International Publishing. p. 567-624.
- WAAP, H., CARDOSO, R., MARCELINO, E., MALTA, J., CORTES, H. et LEITÃO, A., 2011. A modified agglutination test for the diagnosis of *Besnoitia besnoiti* infection. In : *Veterinary Parasitology*. Vol. 178, n° 3-4, p. 217-222.

# Sitographie

---

Index des Médicaments vétérinaires autorisés en France, 2020. ANSES. [En ligne]. 09 octobre 2020. [Consulté le 25 octobre 2020]. Disponible à l'adresse :

<http://www.ircp.anmv.anses.fr/>

Institut de l'élevage, 2010. IDELE. [En ligne]. [Consulté le 5 juillet 2020]. Disponible à l'adresse : <http://idele.fr/>

La Gasconne des Pyrénées, 2020. Groupe Gascon. [En ligne]. [Consulté le 7 juillet 2020]. Disponible à l'adresse : <http://www.gasconne.com/>

Pamiers : Météo en février 2019 Quel temps faisait-il ?, 2020. Historique météo : archives météo pour le monde entier. [En ligne]. [Consulté le 25 octobre 2020]. Disponible à l'adresse :

<https://www.historique-meteo.net/france/midi-pyrenees/pamiers/2019/02/>

NOM : CHOMARAT

PRENOM : Théo

TITRE : ELABORATION D'UN PROTOCOLE DE GESTION DE LA BESNOITIOSE BOVINE AU SEIN DU CENTRE DE SELECTION DE LA RACE GASCONNE DES PYRENEES.

RESUME :

La besnoitiose bovine est une maladie émergente en Europe. La localisation historique de cette maladie correspond à l'Est de la chaîne pyrénéenne, cette zone est également la zone principale d'élevage des bovins de race Gasconne. Les pratiques agropastorales dont la transhumance collective ont favorisé l'enracinement de la besnoitiose dans le cheptel gascon. La besnoitiose est une maladie qui peut entraîner chez les mâles une infertilité. Son contrôle constitue donc un enjeu majeur pour les jeunes mâles en cours d'évaluation dans la station de sélection gasconne. Afin de satisfaire aux objectifs de sélection et de conserver une bonne diversité génétique de la race, il a été choisi de conserver les animaux séropositifs asymptomatiques et présentant un faible risque de contamination au sein de la station. La stratégie choisie repose sur l'identification des individus séropositifs puis d'une quantification de l'infection par qPCR et élimination des individus « forts contaminateurs ». Pendant l'évaluation, les jeunes mâles sont contrôlés de façon régulière par sérologie et quantification par qPCR des séroconversions.

MOTS-CLES : *Besnoitia besnoiti*, besnoitiose, sérologie, biopsie cutanée, PCR temps réel, qPCR, super contaminateur, Gasconne, Gasconne des Pyrénées, station de sélection

TITLE : ELABORATION OF A PROTOCOL FOR THE MANAGEMENT OF BOVINE BESNOITIOSIS WITHIN THE SELECTION CENTER OF THE BREED GASCONNE OF THE PYRENEES.

ABSTRACT :

Bovine besnoitiosis is an emerging disease in Europe. The historical location of this disease corresponds to the east of the pyrenean chain, this area is also the main breeding area for Gascon cattle. Agro-pastoral practices including collective transhumance have fostered the entrenchment of besnoitiose in the Gascon herd. Besnoitiosis is a disease that can cause infertility in males. Therefore, its control is a major issue for young males being evaluated in the gascon's selection station. In order to meet the selection objectives and to maintain good genetic diversity in the breed, it was chosen to keep asymptomatic seropositive animals with a low risk of contamination in the station. The chosen strategy is based on the identification of seropositive individuals followed by quantification of the infection by qPCR and elimination of "super-spreader" individuals. During the evaluation, young bulls are checked regularly by serology and quantification (qPCR) in case of seroconversion.

KEYWORDS : *Besnoitia besnoiti*, besnoitiosis, serology, skin biopsy, real-time PCR, qPCR, super spreader, Gasconne, Gasconne des Pyrénées, evaluation station