

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة البليدة

Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la vie Département de Biologie des
populations et des organismes

Mémoire

De fin d'Etudes en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master en Biologie Option :
Parasitologie

Thème

Technique d'isolement et culture du schizonte de *Theileria annulata*

(Revue bibliographique)

Présenté par :

Mlle Touari Yasmine

Mlle Djenoune Tinhinane

Soutenue publiquement le 14 juillet 2022

Devant le jury composé de :

Mme ZERKAOUI A.	Maître de Conférences A, Univ. Blida 1	Présidente
M.BENDJOURI D.	Professeur Univ. Blida 1	Examineur
M. ZIAM H.	Maître de Conférences A, ISV/Univ. Blida 1	Promoteur
Mme MESSAOUDI Z.	Doctorante Univ. Blida 1	Co-promotrice

-Année universitaire 2021 - 2022 -

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné la force et le courage durant ces longues années d'étude.

Nous tenons à remercier Mme ZERKAOUI A d'avoir accepté d'être présidente du jury de notre mémoire.

Nos sincères remerciements au professeur BENDJOUDI Dj qui nous a fait l'honneur de juger ce modeste travail

Ensuite, nous tenons à remercier sincèrement notre encadreur ZIAM HOCINE pour avoir encadré et dirigé ce travail, pour ses précieux conseils et pour ces contributions.

A notre Co-promotrice Mme MESSAOUDI ZAHRA Je tiens à vous exprimer mes remerciements les plus sincères. Votre aide scientifique inestimable, votre soutien moral durant les moments difficiles, votre compréhension et votre gentillesse m'ont beaucoup marqué.

Nous tenons à remercier tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

Pour finir, nous souhaiterions adresser nos remerciements A tous ceux qui nous ont aidé de loin ou de près.

Merci

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Ma maman qui m'a offert la vie, Tu as toujours été pour moi une source d'inspiration et de bonheur. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont elle ne cesse de me combler, ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Maman je te dois ce que je suis aujourd'hui.

A mon très cher père, pour tous les sacrifices qu'il a fait pour moi, ses conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite, lui qui a illuminé ma vie et m'a inculqué des valeurs qui me rendent fière, papa que Dieu te garde pour nous.

A mon cher frère, NOUFEL qui n'a cessé d'être toujours là pour moi, toujours présent.

A ma très cher sœur Hanine que j'adore tellement.

A ma chère grand-mère AICHA et ma très chère tante HASIBA.

A mes très chères copines MANEL, HIDAYA, SABRINE.

A ma binôme TINHINANE et toute sa famille.

A toute la famille TOUARI et MERADI.

MERCI

YASMINE

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

« Ma mère qui m'a soutenu durant mes années étudiantes et qui m'a donné tout l'amour et la tendresse (Allah yrahmk ya mama ou yj3lk mn ahel jena inchaallah), qui m'a donné toute la confiance, la force et la volonté, merci maman pour avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui ».

« Mon père. Merci beaucoup pour tes encouragements et tes précieux conseils. Papa que Dieu te garde pour nous et te donne la santé ».

A mes très chers frères YOUSSEF, WALID (le soutien de ma vie).

A ma très chère sœur FAIROUZ (ma deuxième mère), son mari ABDELKADER et son neveu MOHAMED que Dieu vous protège.

A ma petite sœur AHLAM que j'adore tellement, mes meilleurs vœux de succès dans votre avenir.

A ma binôme YASMINE et toute sa famille.

A mon amie SARAH, IMY et à tous mes collègues, merci pour vos encouragements, à toute ma famille DJENOUNE.

***M**erci beaucoup*

TINHINANE

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I	Les Symptômes de la theilériose bovine	13
Tableau II	les différentes méthodes de diagnostic direct de la theilériose tropicale chez les bovins	14
Tableau III	les différentes méthodes de diagnostic indirect de la theilériose tropicale chez les bovins	15

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Distribution mondiale de la theilériose tropicale	4
Figure 2	Distribution de la theilériose tropicale en Algérie	5
Figure 3	la morphologie externe de <i>H. scupense</i> mâle et femelle	6
Figure 4	observation des tiques <i>Hyalomma scupense</i> sous loupe grossièrement 20 x	7
Figure 5	Systématique de <i>Theileria annulata</i>	8
Figure 6	les différents stades parasitaires de <i>T. annulata</i> chez le bovin d'Algérie	9
Figure 7	Cycle biologique de <i>Theileria annulata</i>	11

Sommaire

Introduction	1
I- Historique.....	3
II- Répartition géographique.....	4
III- Importance de la Theilériose tropicale.....	5
1. Etude de vecteur <i>Hyalomma scupense</i>	6
a. Cycle de vie de <i>H. scupense</i>	7
2. Etude de parasite <i>T. annulata</i>	8
a. Classification.....	8
b. Sources du parasite.....	8
c. Mode de transmission.....	8
d. Morphologie de <i>Theileria Annulata</i>	8
1- Formes schizogoniques.....	9
2- Formes intra-érythrocytaires ou mérozoïtes.....	9
e. Cycle évolutif de <i>T. annulata</i>	9
1- Cycle de développement de <i>T. annulata</i> chez le vecteur.....	10
2- -Chez le bovin.....	10
3. 3- Pathogénicité de <i>T. annulata</i>	11
4. Les Symptômes.....	12
5. Diagnostic.....	13
a. Diagnostic direct.....	13
b. Diagnostic indirect.....	14
6. Lutte contre la theilériose tropicale.....	15
a- Traitement.....	15
✓ Traitement Spécifique (theiléricide).....	16
✓ Traitement symptomatique.....	16
b- Prophylaxie.....	16
1. Le contrôle de la tique vectrice.....	17
a. Mise en norme des étables.....	17
b. Utilisation des acaricides.....	17
c. chimioprévention ou méthode d'infection traitement.....	17
d. La vaccination.....	17
I- Vaccin atténué par culture.....	19
a- Culture de cellules infectées par le schizonte à partir du sang.....	19
b- Culture de cellules de ganglions lymphatiques.....	19
c- La culture à partir de leucocytes du sang périphérique (PBL).....	19
d- Technique de culture de schizontes selon l'Office International des Epizooties.....	20
II- Conservation du vaccin.....	21
III- Vaccins recombinants.....	22
a- Vaccination avec le SPAG-1.....	22
b- - Vaccination avec le Tams.....	22
Conclusion	23
Références bibliographiques	24

Résumée :

La theilériose tropicale est une parasitose spécifique des bovines due au protozoaire Apicomplexa *Theileria annulata* et transmise par des tiques du genre *Hyalomma*, particulièrement *H. scupense* en Algérie. La maladie se caractérise par un syndrome fébrile, accompagné d'une adénite, d'une leucopénie, d'une anémie hémolytique et des troubles hémorragiques. Elle représente une contrainte majeure au développement de l'élevage bovin dans les pays endémique (Afrique du Nord, du Sud de l'Europe et de l'Asie). Cette pathologie a été mise en exergue par Sergent et collaborateurs durant le début du XXe siècle. Dès l'année 1920, ils ont déclaré que la theilériose tropicale représente une menace réelle pour le développement de la production du lait et de la viande en Algérie. La maladie entraîne des pertes économiques importantes par les morbidités, les mortalités, les avortements et la perte de la valeur bouchère des bovins. Le diagnostic repose sur les signes cliniques associé à l'activité des tiques qui s'étale de mai à aout de chaque année et le contrôle repose l'utilisation des acaricides et des theiléricide. La vaccination des animaux avec un vaccin à base de lignées cellulaires atténuées est la mesure de lutte contre *T. annulata* dans tous les pays endémique. La culture à long terme de schizontes du parasite entraîne une réduction voire une suppression de la pathogénicité de *T. annulata* de sorte qu'elle conserve son ineffectivité et empêche l'apparition de la maladie clinique. La plupart des pays endémique utilisent le vaccin (du Maroc jusqu'en Chine populaire). Malheureusement, le vaccin n'est pas disponible en Algérie. Les pouvoirs publics et les services vétérinaires algériens continuent à ignorer la maladie malgré leur importance médicale et économique.

Mots clés : Bovins, Culture de schizontes, *Theileria annulata*, Vaccin.

ABSTRACT

Tropical theileriosis is a specific disease of cattle caused by the protozoan Apicomplexa *Theileria annulata*, and transmitted by ticks of the genus *Hyalomma*, particularly *H. scupense* in Algeria. The disease is characterised by a febrile syndrome, accompanied by adenitis, leukopenia, haemolytic anaemia and bleeding disorders. It represents a major constraint to the development of cattle breeding in endemic countries (North Africa, Southern Europe and Asia). This pathology was highlighted by Sergent and colleagues at the beginning of the 20th century. As early as 1920, they declared that tropical theileriosis represented a real threat to the development of milk and meat production in Algeria. The disease causes significant economic losses through morbidity, mortality, abortions and loss of beef value. Diagnosis is based on clinical signs associated with tick activity from May to August of each year and control is based on the use of acaricides and theilicides. Vaccination of animals with an attenuated cell line vaccine is the control measure against *T. annulata* in all endemic countries. Long-term culture of schizonts of the parasite results in a reduction or even suppression of the pathogenicity of *T. annulata* so that it retains its ineffectiveness and prevents clinical disease. Most endemic countries use the vaccine (from Morocco to China). Unfortunately, the vaccine is not available in Algeria. The Algerian authorities and veterinary services continue to ignore the disease despite its medical and economic importance.

Key words: Cattle, Schizont culture, *Theileria annulata*, Vaccine.

ملخص

التاييليريا الاستوائية هي طفيلي خاص بالماشية يسببه البروتوزواير ثيليريا انيالتا وينتقل عن طريق القراد الناقل من جنس هيالوما سكيبانس ويتميز المرض بمتلازمة الحمى المصحوبة بالتهاب الغدد، قلة الكريات البيض وفقر الدم الانحلالي واضطرابات النزيف .

تمثل عقبة رئيسية أمام تطوير تربية الماشية المكثفة في البلدان الموبوءة (شمال أفريقيا وجنوب أوروبا وآسيا) وقد أبرز سيرجنت وآخرون هذه المشكلة منذ بداية القرن العشرين ، وأعلن في وقت مبكر من عشرينيات القرن الماضي ان التاييليريا الاستوائية تمثل تهديد حقيقي لتطور إنتاج الحليب واللحوم في الجزائر مما يتسبب في خسائر مالية كبيرة.

لسيطرة على هذا المرض ذات أهمية قصوى بسبب تأثيره الطبي والمالي العالي ، وتستند المكافحة على استخدام

المبيدات الحشرية ومبيد التاييليريك ، وتستند الوقاية على مكافحة النواقل ، وتحصين باستخدام اللقاحات الحية المضعفة ضد ثيليريا انيالتا تُضعف الزراعة طويلة المدى الخلايا المصابة بالششيزونت بحيث يتم تقليل إمرضها ولكن يتم الاحتفاظ بالعدوى ، واللقاح مضاد للأمراض واليمنع العدوى معظم الدول التي يوجد بها المرض تستخدم اللقاح (فلسطين ، إيران ، الهند ، تركيا ، تونس ، المغرب) ، للأسف ، باستثناء الجزائر ، السلطات العامة الجزائرية من جهة والخدمات البيطرية الجزائرية من جهة أخرى استمرت أجزاء أخرى في تجاهل المرض على الرغم من أهميتها الطبية والاقتصادية

كلمات البحث: التاييليريا الاستوائية، ثيليريا انيالتا، الابقار، الشيزونت، اللقاح، زراعة الخلايا

Introduction

La theilériose tropicale (TT) est une parasitose infectieuse inoculable et contagieuse due à la présence et la multiplication dans les leucocytes puis dans les érythrocytes (Ayadi *et al.*, 2016, Gosrani, 1999) d'un l'hémoparasite Apicomplexé *Theileria annulata*, transmise par les tiques du genre *Hyalomma* particulièrement *H. scupense* (syn. *Hyalomma detritum*). La maladie se manifeste cliniquement par un syndrome fébrile, une hypertrophie généralisée des nœuds lymphatiques, des hémorragies étendues, une anémie et un ictère (Gosrani, 1999). La theilériose tropicale est largement répandu sur trois continents : l'Europe du Sud, l'Afrique et l'Asie (Gharbi *et al.*, 2014). Elle est considéré comme une maladie saisonnière estivale liée à l'activité des tique vectrices. En Algérie elle s'étend de mai à août (Ziam *et al.*, 2017). L'impact économique de la maladie est considérable sur la santé et la production bovine : le taux de mortalité chez les bovins sélectionnés notamment de races laitières (Frisonne pie noire, Holstein, Montbéliarde...) est très élevé (Toudert *et al.*, 2003). En effet, les bovins européens (*Bos taurus*) sont particulièrement sensibles avec des taux de mortalité de 40 à 80. En revanche les bovins indigènes (*Bos indicus et Bos taurus*) souffrent généralement moins que les bovins européens avec un taux de mortalité de 10 % (Robinson, 1982 ; Gamal et El- Hussein, 2003). Le diagnostic de la maladie repose sur les signes cliniques, la connaissance de la maladie et la distribution de vecteur, ainsi que sur l'examen de frottis sanguins, de suc ganglionnaire et d'empreintes de nœuds lymphatiques coloré au Giemsa ou May Grünwald Giemsa (Ziam, 2015). La détection des anticorps dirigés contre *T. annulata* à l'aide des tests sérologiques tels que l'IFAT et l'ELISA ont montré une grande sensibilité et spécificité (Gharbi *et al.*, 2012). La connaissance de cette parasitose est importante à cause de l'effectif de bovins à risque soit 250 millions de têtes répartie dans l'aire de distribution de la maldie (Robinson, 1982) et par rapport aux pertes économiques élevées en lait et en viande et le coût élevé du traitement médicale (une dose de buparvaquone coûte environ 30 €)(Gharbi *et al.*, 2015) qui a un impact d'autant plus important qu'elles touchent les élevages dans les pays à ressources financières limitée (Ayadi *et al.*, 2016). Le caractère endémique de La theilériose tropicale en Algérie, représente une menace réelle pour le développement de la production du lait et de la viande dès les années 1920 (Ayadi *et al.*, 2016) à nos jours. Par conséquence, il est nécessaire de mettre un programme de lutte incluant la lutte contre les vecteurs de cette parasitose (Ayadi, 2016). La lutte repose sur le traitement theiléricide à base de la parvaquone et la buparvaquone et traitements anti tiques à base d'acaricides. Actuellement les mesures prophylactiques contre la TT sont basées sur la vaccination avec le vaccin schizontes produits localement comme préconisé par Office international des Epizooties.

Actuellement, il n'existe aucun vaccin contre la theilériose tropicale en Algérie quoique que le premier vaccin vivant atténué à base de schizonte de *T.annulata* a été mis au point à l'Institut Pasteur d'Algérie par Sergent *et al* (1945) par inoculation avec du sang provenant d'animaux donneurs infectés par des souches parasitaires naturellement bénignes « souches Kouba » du nom de la localité de Kouba où la souche a été isolée pour la première fois (Pipano *et al.*, 1977 ; Brown 1981 ; Ziam 2015 ; Ayadi 2016). Ce vaccin a été utilisé pour immuniser des milliers d'animaux au Maroc, en Algérie et en Tunisie (Sergent *et al.*, 1945). Par la suite cette technique a été abandonnée en raison de sa courte durée de conservation (maximum de trois jours) (Pipano *et al.*, 1977), puis les techniques de culture cellulaire ont été cultivées par plusieurs chercheurs tels que Hulliger *et al.*, 1964 ; Hooshmand-Rad et Hashemi-Fesharki 1968 ; Zablotsky 1967 ; Ende et Edlinger 1971a ; Mutuzkina 1975, ils ont effectué une culture prolongée *in vitro* des schizontes qui conduit à une atténuation de leur virulence. Ce phénomène a été rapporté pour la première fois par Tsur *et al* en 1964 et les expériences ont été faites avec la souche virulente "Tova" (Pipano, 1977). Actuellement, le vaccin atténué contre la theilériose tropicale à base de schizontes est utilisé dans tous les pays où la maladie représente un facteur limitant le développement d'élevage de bovins laitiers excepté l'Algérie (OIE, 2012).

Notre travail est dans le cadre de réaliser une étude bibliographique sur la theilériose tropicale précisément la culture des schizontes de *Theileria annulata*. Pour cela, nous avons adopté un plan composé de trois chapitres dont le premier présente une généralité sur la theilériose tropicale (historique, distribution géographique, impact économique). L'étude du parasite *T. Annulata*, sa classification, son cycle évolutif, les symptômes, le diagnostic et le traitement de la maladie sont regroupés dans le deuxième chapitre tandis que la vaccination et la culture cellulaire des schizontes sont exposés en détail dans le troisième chapitre et on termine par une conclusion qui clôture notre travail.

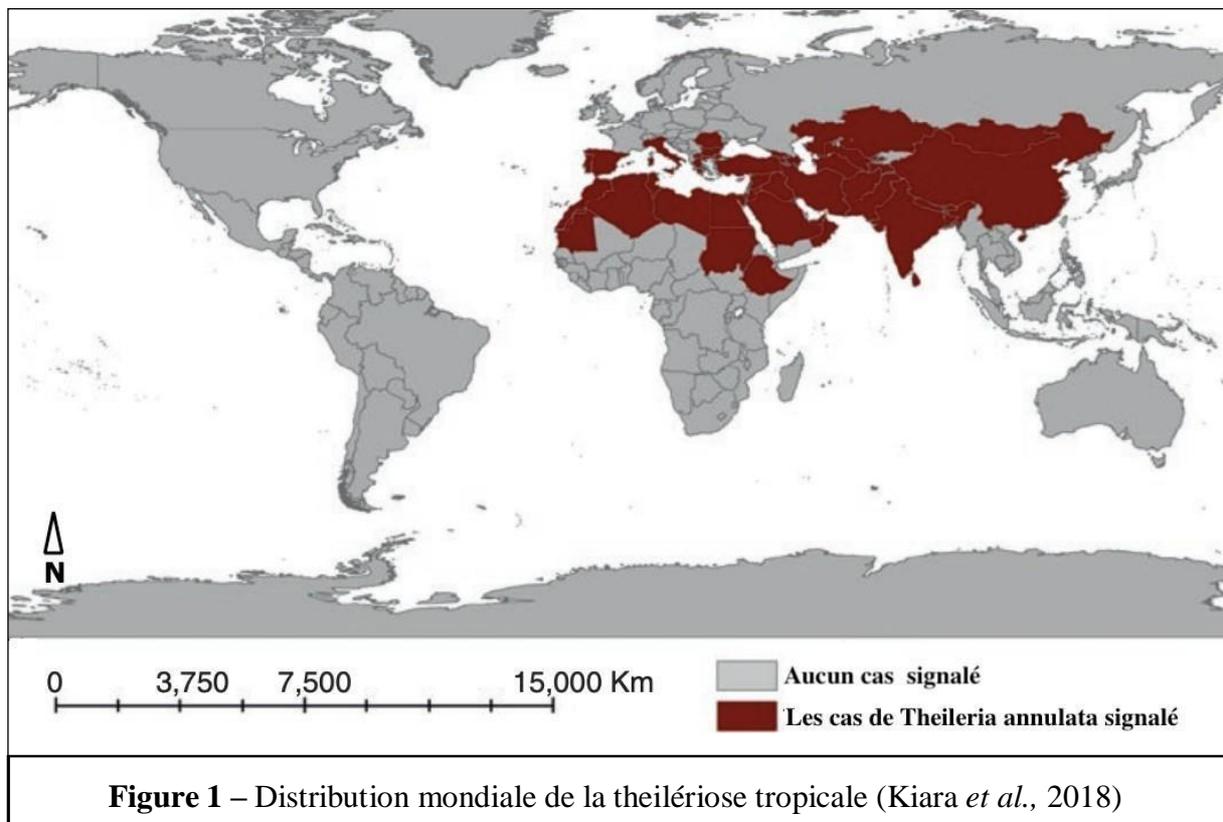
Historique

L'agent causal de la theileriose était appelé Piroplasma et Gonderia par la suite a pris le nom de theileria en l'honneur du docteur Arnold Theiler (Mortelmans et Kageruka, 1986). Il est reconnu que la première description de parasites appartenant au genre theileria a été effectuée en Afrique du Sud par Koch en 1898 (Gharbi, 2006). En 1904, Lounsbury, démontre la transmission d'un parasite du genre theileria, en l'occurrence *T. parva*, par des tiques vectrices. La même année, Dschunkowsky et Luhs ont identifié dans le Caucase un parasite qu'ils nommèrent Piroplasma annulatum (Sharieff *et al.*, 2003). En 1905, Duclaux a isolé en Tunisie pour la première fois le parasite qu'il a décrit comme un piroplasma Bacilliforme (Baccouche *et al.*, 2014). En 1907, Betancourt *et al.*, ont créé le nouveau genre Theileria en se basant sur l'existence de schizogonie leucocytaire et y on intègre les deux espèces *T.annulata* et *T.parva* (Mukolwe, 1987). De 1915 à 1945, l'équipe de l'Institut Pasteur d'Alger dirigée par Edmond Sergent a étudié de nombreux aspects épidémiologiques, pathologiques et immunologiques de la Theilériose à *T. annulata*, démontrant sa transmission par *Hyalomma scupense* (syn. *H. detritum*), avec la présence d'un stade sexué dans le cycle de *T. annulata*. Ils remarquèrent également que si les animaux ne mouraient pas après l'accès Aigu, ces infections leur confèrent une prémunition qui résulte d'un parasitisme toléré. Ces Basant sur ces faits, ces chercheurs mirent au point un premier vaccin atténué par passage sur Des veaux contre cette parasitose (Ayadi, 2016). Entre 1933 et 1939, 20000 bovins en Afrique du Nord furent "prémunis" avec une réduction spectaculaire des cas de mortalité (Ayadi, 2016). En 1962, Tsur-Tchernomorentz met au point la culture in vitro des parasites, ce qui a permis le développement des études immunologique et des essais de vaccination des animaux contre la maladie. Au cours de ces vingt dernières années, beaucoup de travaux ont été menés sur l'étude du diagnostic des theilerioses animales à travers le monde et particulièrement au pourtour du bassin méditerranéen (Jacquiet *et al.*, 1990 ; Kacgani *et al.*., 1996 ; Darghouth *et al.*, 2000 ; Sparagano *et al.*, 2000 ; Aktas *et al.*, 2002 ; El Haj *et al.*, 2002 ; Dumanli *et al.*, 2005 ; Ziam, 2015).

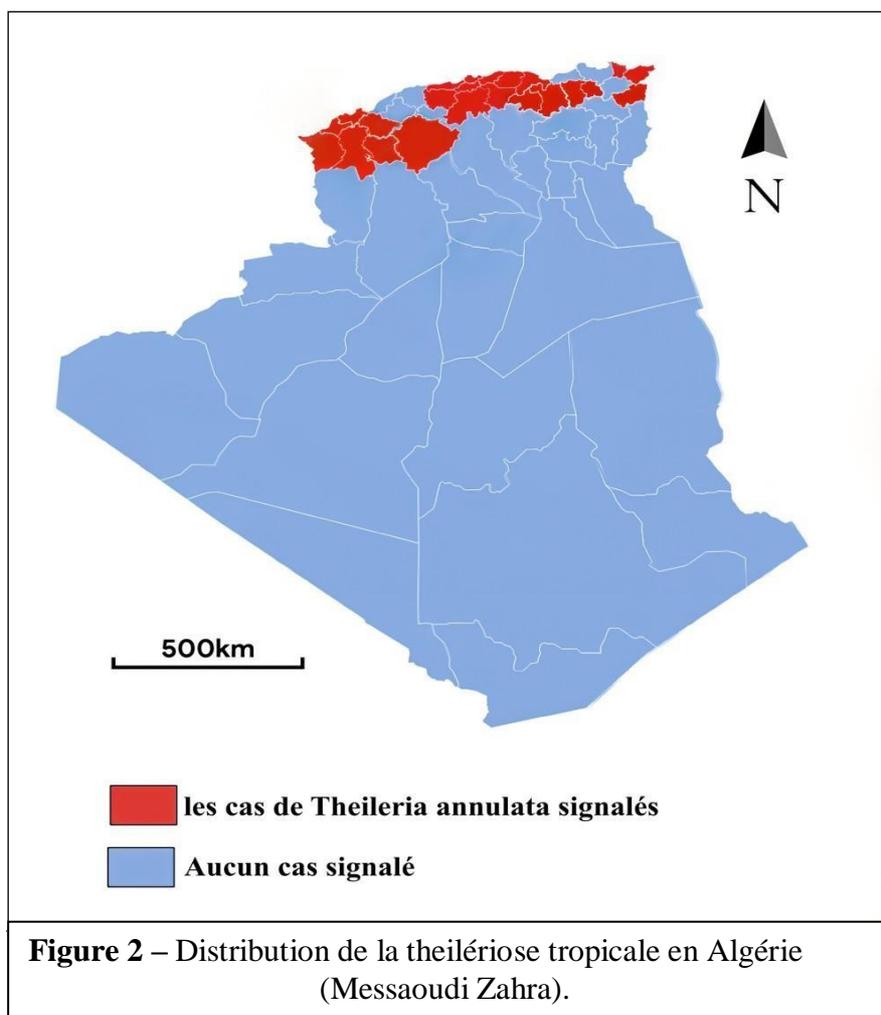
La theilériose tropicale est connue par les éleveurs sous le nom de "Bousfaïr Lakhal" ou "Saouragh" (Ziam, 2015) et admet en français plusieurs synonymes tels que "fièvre méditerranéenne", "theilériose bovine d'Afrique du Nord" et "theilériose bovine maligne" ; Cependant, l'appellation spécifique en usage chez les auteurs anglophones tropical theileriosis, ou theilériose tropicale, serait la plus correcte (Ziam, 2015).

I- Répartition géographique

T. annulata anciennement *T. dispar* (Neitz, 1957), est vastement distribuée dans le monde (Europe du sud, en Asie et en Afrique du Nord)(Figure 1). Elle est présente dans la plupart des régions dans lesquels les espèces vectrices de tiques *Hyalomma scupense* sont présentes et se manifeste par une large distribution dans les zones tropicales et subtropicales (Weir *et al.*, 2011), du Portugal, de l'Espagne et le Maroc à l'ouest, à travers la côte méditerranéenne de l'Europe et l'Afrique du Nord, le sud dans le Soudan et l'Erythrée et vers l'est en Europe du Sud-Est, le Proche-Orient et Moyen Orient, le sud de la Russie et de la Sibérie et à travers le sous-continent indien à travers la Chine et l'Extrême-Orient (Dumanli *et al.*, 2005).



En Algérie, la theilériose tropical est enzootique, et se rencontre dans les étages bioclimatiques humides, subhumides et semi-arides correspondant aux régions favorables à l'évolution biologique de la tique vectrice *Hyalomma suspense* (Sergent *et al.*, 1945). La prévalence clinique de la theilériose tropicale est de 53,7% dans les régions d'Annaba et d'El Taraf (Ziam et Benaouf, 2004) 42,5% dans la région du centre nord (Ziam *et al.*, 2020) et de 63.5% dans la région ouest (Rouina, 1984). Le mode d'élevage intensif représente un facteur influençant l'incidence de *T. annulata* (Ziam, 2015). La theilériose a été rapportée dans les régions suivants Sétif, Bordj Bou Arreridj, Ain Temouchent, Tiaret, Mascara, Oran, Tlemcen, Sidi Belabas et Saida (Ayadi *et al.*, 2016 ; Sergent *et al.*, 1945 ; Rouina *et al.*, 1984).



III-Importance de la theilériose tropicale

La theilériose tropicale est l'une des graves maladies qui touche les bovins avec un pic estival. Elle entraîne de forte morbidités et mortalités. Les létalités varié entre 50 à 100% en absence du traitement (Gharbi *et al.*, 2012). Roberson (1982) Stipule que 250 millions de bovins sont susceptibles de contracter la theilériose tropicale dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Asie et d'Europe (Uilenberg 1981; Norval *et al.*, 1992; Gharbi *et al.*, 2006; Ziam *et al.*, 2016). D'un point de vue économique, la TT provoque des pertes financières inhérentes aux mortalités enregistrées aussi bien chez les adultes que les jeunes, aux avortements, ainsi qu'au coût du traitement médical, ce dernier était un des plus coûteux en pathologie bovine. Les pertes économiques sont provoquées par les diminutions de productions de lait et de viande qui sont d'autant plus importantes qu'elles touchent aussi bien les animaux infectés qui présentent des signes cliniques que ceux présentant des infections sub-cliniques voire asymptomatiques (Gharbi *et al.*, 2012).

En Algérie, la maladie est un facteur limitant le développement de l'élevage de bovin. Le nouveau bétail intégré pour la production meurt endéans les 4 années suivant son introduction

(Ziam *et al.*, 2017). L'impact économique de la theilériose tropicale, pendant la saison estivale, dans des fermes laitières s'élevaient à 4 138 000 DZD pour Annaba (Toudert *et al.*, 2003) et 4 000 0000 DZD pour Bejaia (Ziam *et al.*, 2008) et une perte de 110,5 DZD/jour/vache avec un baisse de rendement laitier estimée de 2,76 L/jour/vache ce qui correspondent à 31,92% du rendement laitier total à Skikda (Ayadi *et al.*, 2016).

En Tunisie, les coûts moyens annuels simulés dus aux cas cliniques de theilériose tropicale et l'état de porteur peuvent varier de 35,94 € à 46,68 € par vache. Les pertes les plus importantes sont causées par la baisse de la production laitière chez les vaches porteuses, ce qui représente entre 22% et 38% des pertes globale (Gharbi *et al.*, 2011).

Au Maroc, les pertes dues à la theilériose ont été estimées de 26,57 à 57,57 euros, sans tenir compte du coût résultant de l'utilisation des acaricides (Ayadi, 2016).

I. Etude de vecteur *Hyalomma scupense*

Hyalomma scupense Schulze, 1919 (Acari, Ixodidae) anciennement *H. detritum* Schulze, 1919 est une tique diphasique endophile, fréquente chez les bovins en premier lieu et chez d'autres ongules, elle est commune dans les régions subhumides et semi-arides de plusieurs régions du monde (Gharbi et Darghouth, 2014). Ce sont des acariens de grande taille (2- 30 mm) de la classe des arachnides, exclusivement hématothrophes à tous leurs stades biologiques. *Hyalomma scupense* à un corps non segmenté, formé de deux parties, à l'avant capitulum, sur la face dorsale se trouve une plaque, le scutum, dont la taille est variable selon le sexe et les espèces (Figure 3 et 4). Les pattes sont formées de 6 segments terminé par une ventouse et 2 griffes (Rabat *et al.*, 2014).

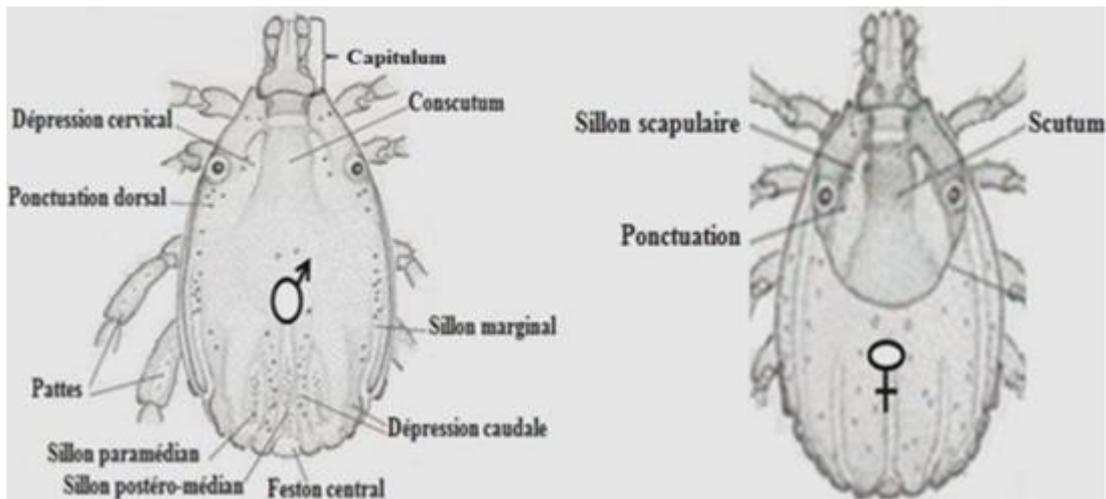


Figure 3. Morphologie externe de *H. scupense* (Estrada Pena *et al.*, 2004)

Hyalomma scupense



-A-



-B-



-C-



-D-

-A- : Male face ventrale

-B- : Male face dorsale

-C- : Femelle face ventrale

-D- : Femelle face dorsale

Figure 4- observation des tiques *Hyalomma Scupense* sous loupe grossissement 3 x (Messaoudi z)

a. Cycle de vie de *H. scupense*

Hyalomma scupense à un cycle de vie a deux hôtes qui prend une année pour s'achever (Estrada-Peña *et al.*, 2004) . Les tiques adultes apparaissent sur les bovins dès la fin du printemps avec un pic en juillet et disparaissent au début de septembre alors que pour les larves et les nymphes se nourrissent sur le bétail en automne (septembre à novembre). Le bétail est généralement infesté lorsqu'il est hébergé dans des étables, des hangars à cause du caractère domestique de la tique (Estrada-Peña *et al.*, 2004) Les nymphes gorgées détachées, muent dans divers endroits dans les bâtiments d'élevage, comme les crevasses et les fissures dans murs, sous les rochers et fumier de bétail séché. Les nymphes entrent dans une la diapause hivernale et la muent en adultes l'été suivant (Estrada-Peña *et al.*, 2004).

II. Etude de parasite *T. annulata*

1. Classification

L'agent étiologique de la theilériose tropicale admet la position taxonomique suivante

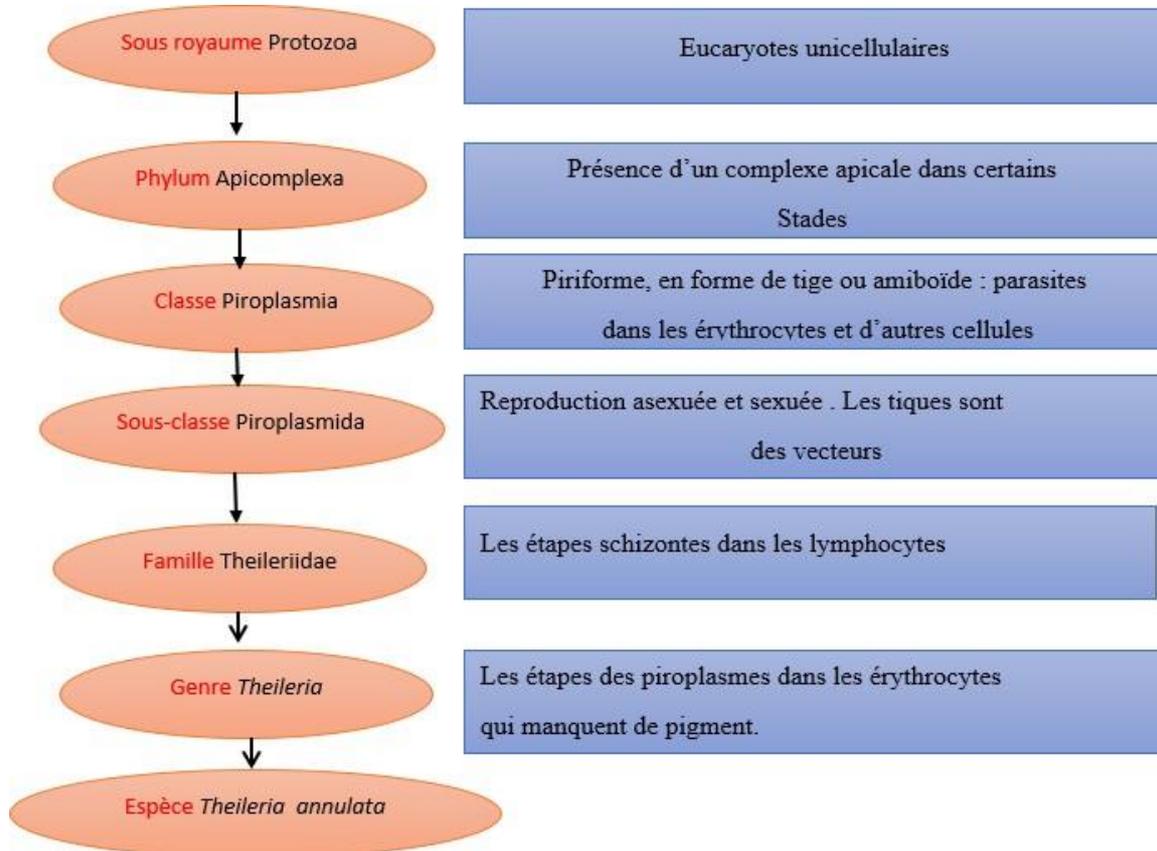


Figure 5 - Systématique de *Theileria annulata* (Levine et al., 1980)

2. Sources du parasite

Il y a la source directe due aux tiques adultes du genre *Hyalomma* qui vont transmettre le parasite à l'occasion d'un repas sanguin et la source indirecte due aux bovins infectés par *T. annulata* et notamment par les animaux porteurs asymptomatiques qui infectent les larves et les nymphes des tiques à l'occasion du repas sanguin (Sergent et al., 1936, Gharbi *et al.*, 2014)

3. Mode de transmission

La transmission est assurée par la salive de la tique adulte, le parasite est injecté au stade sporozoïte dès le troisième jour du repas sanguin. La transmission à travers des seringues contaminées est possible mais elle joue un rôle auxiliaire dans l'épidémiologie de la theilériose tropicale (Sergent et al., 1936, Gharbi *et al.*, 2014).

4. Morphologie de *Theileria Annulata*

Selon la localisation du parasite chez le bovin, il se présente sous deux formes ; schizogonique intra-leucocytaires et des mérozoïtes intra-érythrocytaire.

a- Formes schizogoniques

Ces formes sont visualisées sous microscope optique en forme d'un corps bleu ou en grenade, prélevé au niveau des nœuds lymphatiques ou de la pulpe splénique par ponction. Ces derniers, ont l'aspect d'un corps composé de plusieurs punctuations. Deux types de schizontes sont décrits en fonction de ces punctuations (Sergent et al., 1936, Ayadi, 2016) . Les macroschizontes ont 15 à 30 x 8 à 10 µm renfermant 10 à 20 grains chromatiques anguleux mesurant chacun 0,4 à 1,5 µm (Sergent et al., 1936, Ayadi, 2016). Les microschantes renferment plusieurs centaines de noyaux de chromatine rouge très intense, arrondis de petites tailles mesurant 0,3 à 0,8 µm, qui sont associés à une petite partie du cytoplasme (Sergent et al., 1936, Ayadi, 2016).

b- Formes intra-érythrocytaires ou merozoïtes

Elles se trouvent dans les hématies ou elles prennent plusieurs formes, ovoïde, annulaire, bâtonnet et virgule (Sergent *et al.*, 1936 et 1945).

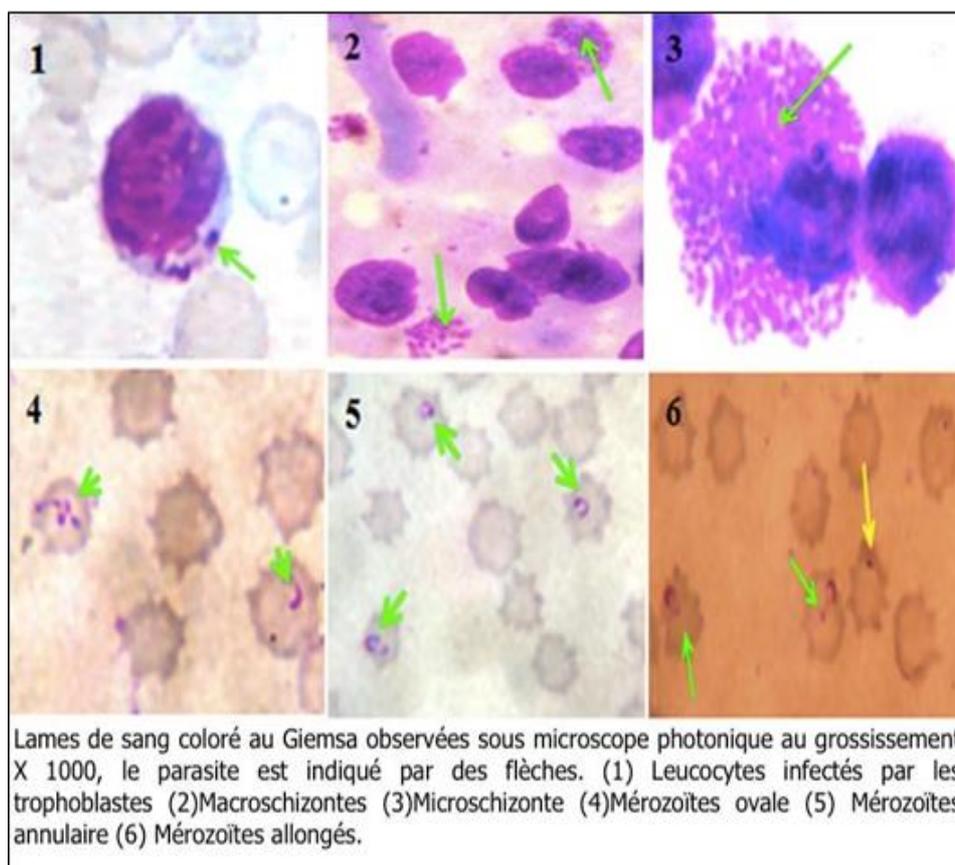


Figure 6- Les différents stades parasitaires de *T. annulata* chez le bovin d'Algérie (Ziam, 2015)

5. Cycle évolutif de *T. annulata*

Le cycle biologique de *T. annulata* est de type hétéroxène (Sergent *et al.*, 1945) il comporte une première phase au niveau de la tique vectrice *Hyalomma scupense*, et une deuxième phase qui se déroule chez l'hôte bovin. L'infection est transmise au bovin, au cours du repas sanguin,

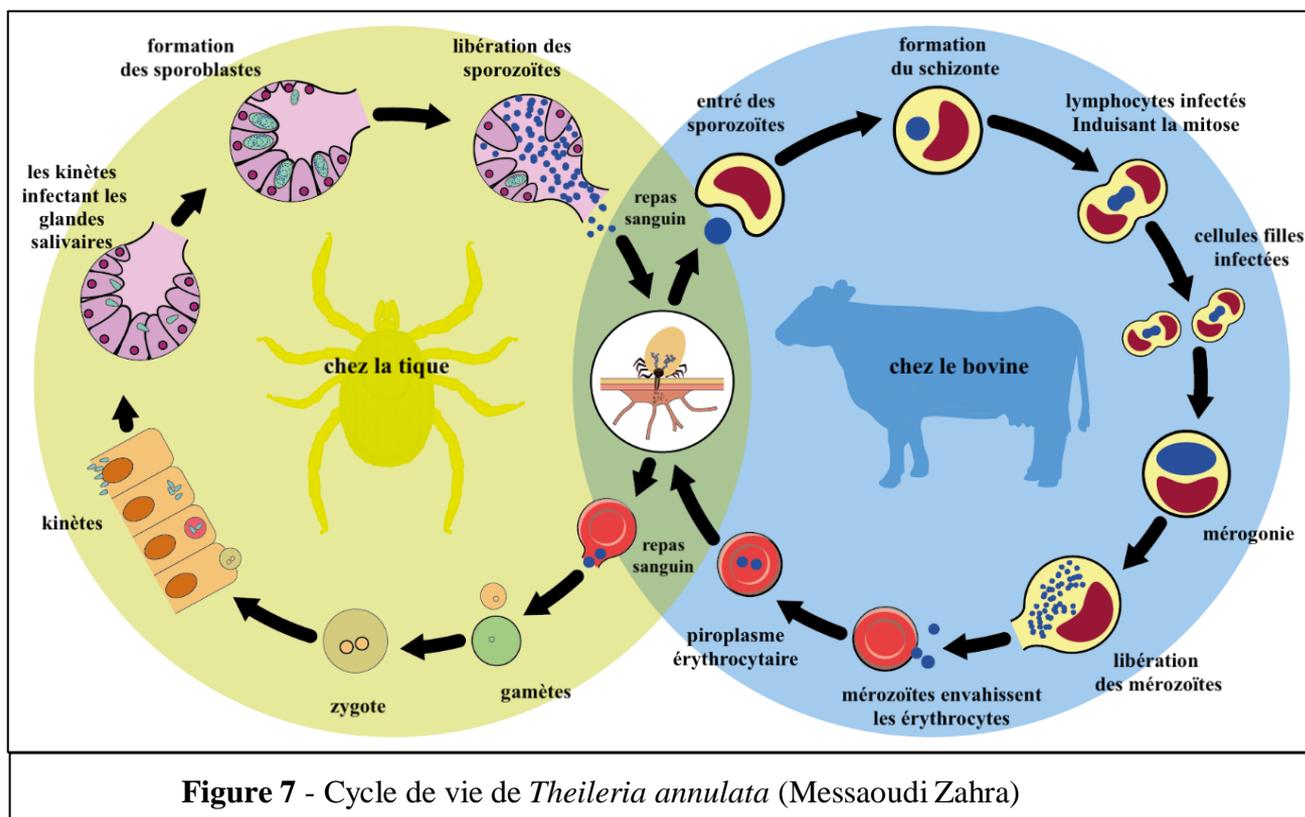
sous forme de sporozoïtes inoculés avec la salive d'une tique adulte (Ziam, 2015).

a-Cycle de développement de *T. annulata* chez le vecteur

La première phase implique une tique du genre *Hyalomma*. Les nymphes s'infectent lors d'un repas sanguin sur un bovin infecté par *T. annulata*. Le parasite se développe au niveau de l'intestin de la nymphe où il produit des gamètes lors d'une phase de gamétogonie. Les gamètes fusionnent ensuite pour former un zygote qui va envahir les cellules intestinales. La nymphe effectue ensuite une diapause pendant la saison hivernale. Lors de la mue de la nymphe, le zygote se transforme en ookinète puis gagne les glandes salivaires où il va se diviser (division nucléaire sans cytotélerèse complète) pour former un sporoblaste. Lors d'un repas sanguin, il se forme dans les glandes salivaires de la tique un nombre très élevé de sporozoïtes à partir du sporoblaste (Marsolier et Weitzman, 2014)

b-Chez le bovin

Le bovin s'infecte par une tique adulte porteuse du parasite. Les sporozoïtes de *T. annulata* sont inoculés avec la salive lors du son repas sanguin. Très rapidement, ces sporozoïtes infectent activement les leucocytes mononucléés (macrophages, monocytes et secondairement des lymphocytes B) (Spoonner *et al.*, 1989) où ils évoluent en trophozoïtes. Les cellules infectées sont alors transformées et présentent des analogies avec les cellules tumorales. En effet, les trophozoïtes se transforment rapidement en macroschizontes multinucléés qui se multiplient en entraînant une division synchrone des leucocytes grâce à un effet leucomitogène (Preston *et al.*, 1999). Il s'ensuit alors une prolifération de clones parasites qui envahissent d'abord les nœuds lymphatiques drainant le lieu de morsure de la tique, puis se disséminent dans plusieurs organes. Après un certain nombre de multiplications, une proportion des macroschizontes se transforme en microschizontes puis en mérozoïtes qui à leur tour passent dans le milieu extracellulaire en provoquant la destruction de la cellule hôte. Ces mérozoïtes libres vont infecter des érythrocytes pour donner les piroplasmes intra érythrocytaires (Sergent *et al.*, 1928 et 1936 ; Gharbi, 2006).



6- Pathogénicité de *T. annulata*

Les actions pathogènes de la theilériose tropicale sont dues aux effets des stades parasitaires schizontes et mérozoïtes (Sergent et al. 1945 ; Darghouth et al. 2010). Après la pénétration active des sporozoïtes dans les leucocytes, ils se différencient en macroschizonte et induisent une prolifération incontrôlée des cellules hôtes (Dobbelaere et Rottenberg 2003). Ce processus transforme les leucocytes infectés (cellules B et monocytes) en leucoblastes (Dobbelaere et Rottenberg 2003) dont le caractère métastatique est plus agressif que celui du sarcome bovin (Irvin et al. 1975 ; Baldwin et al. 1988 ; Spooner et al. 1989). Les métastases des cellules infectées peuvent être dues à leur expression pour des métalloprotéases matricielles (MMPs) comprenant MMP9, et des molécules d'adhésion CD2, CD11b, l'antigène très tardif- 4 (VLA-4) et CD9 (Preston *et al.*, 1999).

Les mécanismes par lesquels *T. annulata* retransforme les leucocytes en leucoblastes avec une division cellulaire incontrôlée restent inconnus (Shiels et al. 2006). Toutes les voies biochimiques de signalisation cellulaire ont été détournées par *T. annulata* à son profit pour assurer son développement dans la cellule hôte (Dobbelaere et Rottenberg 2003). A ce stade, les cellules transformées par *T. annulata* se comportent comme des cellules cancéreuses et consomment beaucoup de glucose (Haidar et al. 2015a, b). Ainsi, les bovins incubant la theilériose tropicale présentent une glotonnerie pendant 24 heures suivie d'une anorexie

complète (Ziam et al. 2016, 2020). Ce dernier signe clinique peut être compliqué par une acidose, lorsque les animaux ont été nourris avec des concentrés ou par une indigestion de surcharge lorsqu'ils ont été nourris avec du foin et/ou de la paille (Ziam et al. 2020). À ce stade de l'évolution de la maladie, le tableau clinique de la TT tropicale est frustré et simule une indigestion ou une acidose. L'animal porte sa tête sur son cou, les yeux fermés et gémit avec une légère hyperthermie (39° à 39,5°) et une forte baisse de la production laitière (Ziam et al. 2020). La multiplication des schizontes se poursuit avec la division simultanée des schizontes infectés et des leucoblastes. Au cours du processus métastatique, l'animal présente une réaction inflammatoire généralisée qui se manifeste par une hyperthermie, signe d'une augmentation du métabolisme de base en raison de l'utilisation d'énergie par le système immunitaire et la schizogonie (Haidar et al. 2015a, b). Cette dernière, localisée dans les ganglions lymphatiques, entraîne une adénite généralisée, une dépression et une congestion (Dobbelaere et Rottenberg 2003).

La modulation de l'hôte par le parasite entraîne une augmentation des cytokines pro-inflammatoires TNF- α , IL-1 α , IL-6, IL-12, IL-1 β et TNF α , par les cellules infectées, les macrophages activés, les cellules NK et les cellules CD4+ proliférantes non spécifiques. Ces substances pro-inflammatoires renforcent l'action pathogène de *T. annulata* (Glass et al. 2005). La production excessive de TNF par les animaux malades explique une part importante des signes cliniques de la theilériose tropicale, tels que la dépression, la fièvre, l'hypoxie, la cachexie et la leucopénie. Les mérozoïtes provoquent une fragilisation des membranes cellulaires, en particulier des globules rouges et des thrombocytes, ce qui explique en partie les hémorragies.

II- Les Symptômes

La période d'incubation après la fixation d'une tique infectée et de l'ordre de 10 à 15 jours, La durée d'incubation varie en fonction de la dose infectante et de la virulence de la souche infectante, de la race et de l'état immunitaire de l'animal (Sergent et al., 1936, 1945, Gharbi *et al.*, 2012). La theilériose tropicale des bovins évolue sous trois formes : suraiguë, aiguë et chronique (Tableau I)

Tableau I - Les Symptômes de la theilériose bovine (Gharbi *et al.*, 2012; Gharbi,2006)

Forme suraiguë	<ul style="list-style-type: none"> - Hyperthermie jusqu'à 42°C. - Hypertrophie des nœuds lymphatique surtout au niveau rétro-mammaires et précuraux. - Ictère. - Troubles nerveux. - En l'absence du traitement, la mort survient en deux à trois jours.
Forme aiguë	<ul style="list-style-type: none"> - Hypertrophie des nœuds lymphatiques (plus chauds et douloureux). - Hyperthermie jusqu'à 42°C. - Hyporexie, l'anorexie et l'agalaxie - Syndrome hémolytique (anémie) - Ictère - Hémoglobinurie Symptôme non spécifique : - Chute brutale de la lactation - Des avortements chez les femelles en fin de gestation. - Des signes nerveux - Des troubles digestifs et respiratoires - Non traitée, cette forme évolue vers l'aggravation du tableau clinique et lamort survient en 7 à 15 jours.
Forme atténuée	<ul style="list-style-type: none"> - Altération modérée de l'état général. - Fébricule. -Hypertrophie modérée des nœuds lymphatiques. - Anémie discrète. - Fréquente chez les animaux la population autochtone. - L'évolution des signes clinique se fait vers la guérison, survient après une période de convalescence plus ou moins longue. - L'infection est habituellement non diagnostiquée, passe inaperçue mais peut dégénérer en forme chronique accompagné d'anémie intense et de cachexie et sont souvent mortelles.

III- Diagnostic

Le diagnostic repose d'abord sur les données épizootiologies et les signes cliniques de la maladie. Dans les régions d'enzooties, la combinaison de ces données permet de poser un diagnostic de certitude de la TT chez le bovin (Ziam, 2015). Le diagnostic de confirmation est apporté par le laboratoire en recourant à des examens direct et indirect.

a. Diagnostic direct

Le diagnostic direct de laboratoire de la theilériose tropicale chez les bovins est le moyen le plus rapide et le moins coûteux pour établir le diagnostic de la TT chez le bovin(Ziam, 2015) Le diagnostic est généralement basé sur la détection de schizontes dans les leucocytes infectés sur des frottis de biopsie à partir des nœuds lymphatiques ou des piroplasmes sur des étalements de sang périphérique colorés au Giemsa (Tableau II).

Tableau II - les différentes méthodes de diagnostic direct de la theilériose tropicale chez les bovins (Gharbi <i>et al.</i> , 2012 ; Ayadi, 2016 ; Ziam, 2015).	
Frottis de sang	<ul style="list-style-type: none"> - Plus pratiquée (facile à réaliser). - Mise en évidence les formes érythrocytaires du parasite (tétrade, virgule et en bâtonnet) - Les formes érythrocytaires sont dans le sang à partir du 9ème jour après l'infection.
Frottis de suc des nœuds lymphatiques	<ul style="list-style-type: none"> - Réaliser durant le pic d'hyperthermie. - Difficile à réaliser sur terrain les étalements doivent être réalisés et fixés immédiatement après la ponction. - Les nœuds lymphatiques les plus hypertrophiés et les plus riches en schizontes sont peu ou prou accessibles.
Frottis d'une ponction hépatique	<ul style="list-style-type: none"> - Permis d'établir un diagnostic clinique précoce. - Mise en évidence des parasites dans les cellules hépatiques à partir du 5ème jour après l'infection. - Difficile à réaliser car les éleveurs s'opposent à cette pratique (incision au niveau du 13^e espace intercostale sur une vache atteinte)
Calque d'organes	Empreinte un petit morceau d'organe d'animaux morts, tels que les poumons, les reins, le foie, la rate et les ganglions.

b. Diagnostic indirect

Le diagnostic indirect de laboratoire de la theilériose tropicale se fait par plusieurs méthodes (tableau III).

Tableau III - Les méthodes de diagnostic indirect de la theilériose tropicale chez les bovins (Darghouth <i>et al.</i>, 1996; Renneker <i>et al.</i>, 2009 ; Gharbi <i>et al.</i>, 2012 ; Al-Hosary <i>et al.</i>, 2015).	
Immunofluorescence indirecte « IFI »	Permet la mise en évidence d'Anticorps anti- <i>Theileria annulata</i> , Effectuée avec des antigènes de mérozoïtes ou de schizontes.
Essai d'immuno-absorption enzymatique « ELISA »	<ul style="list-style-type: none"> - Mise en évidence des anticorps anti-<i>Theileria annulata</i>. - Développé sur la base d'antigène TaSP (sensibilité 99,1%) - Détecte les porteurs asymptomatiques. - Anticorps ne sont mis en évidence qu'après 3 mois de l'infection.
Réaction de polymérisation en chaîne « PCR »	<ul style="list-style-type: none"> - Technique réservée à la recherche (épidémiologique, vaccinologie, génétique des populations). - Recherche de <i>Theileria sp.</i> Dans des prélèvements de sang ou de biopsie. - Nécessite l'utilisation d'amorces spécifiques du gène codant pour l'antigène tel que le Tams-1
Reverse Line Blot « RBL »	<ul style="list-style-type: none"> - Technique économique, spécifique et sensible. - Amplifier les séquences 16S ribosomales, communes aux deux genres <i>Theileria</i> et <i>Babesia</i>. - Amorces utilisé sont appelées : catch all <i>Theileria Babesia</i>. - Permet la recherche d'acides nucléiques de plusieurs espèces de <i>Theileria</i> (<i>T. annulata</i>, <i>T. parva</i>, <i>T. taurotragi</i>, <i>T. buffeli</i>, <i>T. sergenti</i>, <i>T. equi</i>...)

IV- Lutte contre la theilériose tropicale

Du fait de l'importance médicale et économique de la TT, la lutte contre cette maladie a été l'une des préoccupations des praticiens et autorités sanitaires depuis le début du 20^e siècle. La lutte contre la TT bovine repose sur le traitement et la mise en place de mesures prophylactiques (Ziam, 2015)

V- Traitement

Le traitement des animaux malades associe un traitement spécifique et un traitement symptomatique complet, c'est pourquoi un examen clinique approfondi est demandé afin de

détecter toute anomalie. En raison de l'absence de symptômes spécifiques, du risque élevé de décès et du coût élevé des molécules thérapeutiques, le traitement doit être effectué après confirmation en laboratoire de l'infection. De plus, les co-infections hémopathogènes sont fréquentes dans les régions enzootiques, par exemple, les co-infections entre *Babesia sp* et *T. annulata* et *Anaplasma marginale* sont possibles (Gharbi et Darghouth, 2015).

a- Traitement Spécifique (theiléricide)

A ce jour, les meilleurs médicaments theiléricides appartiennent à la famille des hydroxynaphthoquinones : la parvaquone et la buparvaquone

La parvaquone (Parvexon ND, Bimeda) est principalement un médicament actif contre les schizontes, il doit être injecté par voie intramusculaire à la dose de 20 mg/kg (Gharbi et Darghouth, 2015). La buparvaquone est une hydroxynaphthoquinone de seconde génération qui possède des propriétés particulières qui lui confèrent une place de choix dans le traitement et la prophylaxie des theilérioses bovines, il est 20 fois plus actif que la parvaquone et élimine les différents stades de développement du parasite (piroplasmes et schizontes), il est injecté par voie intramusculaire à la dose de 2,5 mg/kg, une injection unique est généralement suffisante pour le traitement de cas sévères. Une injection supplémentaire à la même dose peut être donnée 48 à 72 heures après l'injection initiale. Ce médicament entraîne une réinstallation des cas aigus mais est peu efficace contre les formes suraiguës et tardives traitées (Gharbi et Darghouth, 2015) son coût est d'environ 9000 DA/bovin (Ziam, 2015). On a aussi l'halofuginone est un coccidiostatique, qui a prouvé son efficacité sur *T. annulata*, il agit comme un schizonticide, son inconvénient est sa marge de sécurité réduite, qui l'exclut de l'application sur terrain (Ayadi, 2016).

b- Traitement symptomatique

C'est d'une importance primordiale, cela dépend du statut de l'animal déterminé après un examen clinique. Les antibiotiques à longue durée d'action sont recommandés afin de prévenir les infections secondaires fréquentes (principalement des voies respiratoires). L'oxytétracycline a une certaine activité contre *Theileria*. La présence d'un état inflammatoire généralisé et de fortes concentrations de cytokines pro-inflammatoires justifient l'injection d'anti-inflammatoires non stéroïdiens. En effet, la concentration de cytokine est proportionnelle à la virulence du *T. annulata* (Gharbi et Darghouth, 2015).

VI- Prophylaxie

En raison des coûts élevés des médicaments theiléricides par conséquent le traitement et de la forte prévalence de l'infection à l'état de porteur, la prévention est le meilleur moyen de contrôler l'infection à *T. annulata* elle consiste en deux types d'action : le contrôle de la tique

vectrice par une ou plusieurs options de contrôle et la vaccination contre *T. annulata* (Gharbi *et al.*, 2014; Gharbi et Darghouth, 2015).

1. Le contrôle de la tique vectrice

Le contrôle du vecteur permet d'éliminer la TT dans les étables et les fermes, par la mise en norme de ces derniers et l'utilisation des acaricides

a. Mise en norme des étables

Réhabilitation des bâtiments d'exploitation par crépis et lissage des surfaces extérieures et intérieures des enclos et des murs. Il est recommandé de combiner cette option de contrôle avec un nettoyage en profondeur de la ferme et de ses environs. Le principe de cette action est de détruire les abris de plusieurs stades hors hôtes : femelles pondueuses, larves fraîchement écloses, nymphes hibernantes et adultes fraîchement mués (Gharbi et Darghouth, 2014).

b. Utilisation des acaricides

Plusieurs molécules, sont disponibles dans le commerce, appartenant à différentes familles d'acaricides sont utilisées: les Organophosphorés (diazinon, trichlorfon, phoxim, coumaphos), les pyréthriinoïdes de synthèse (deltaméthrine, cyperméthrine, fluméthrine) et les formamidines (amitraz) (Ziam, 2015). Ces acaricides sont appliqués pendant la période d'automne pour le contrôle des nymphes et pendant la saison estivale pour les adultes. De nombreux vétérinaires de terrain ont suggéré l'application des acaricides sur les parois, cette technique n'est que partiellement efficace car les nymphes pénètrent profondément dans les fissures et crevasses. elle doit être utilisée s'il y a une charge de tiques très élevée ou s'il y a un risque élevé de maladies transmises par les tiques (Gharbi & Aziz Darghouth, 2014).

C. Chimio-prévention ou méthode d'infection traitement

Elle consiste à inoculer les bovins avec des broyats de tiques infectées sous le couvert d'un traitement préventif par de l'oxytétracycline longue action administrée par la voie intramusculaire à la posologie de 20 mg/kg de poids vif. Dans ces conditions, l'évolution de l'infection se fait sous forme inapparente (Gharbi, 2006).

2. La vaccination

Les vaccins vivants atténués contre la *T. annulata* à base de culture des schizontes, constituent le meilleur moyen de protection ; son développement nécessite l'identification de facteurs épidémiologiques critiques qui influencent à la fois l'efficacité et l'innocuité du vaccin dans les conditions de terrain (Darghouth, 2008). Le vaccin sur culture cellulaire protège la plupart des races de bovins contre la provocation homologue et généralement aussi contre la provocation hétérologue. Une seule vaccination est généralement suffisante, mais les races exotiques

peuvent nécessiter une seconde dose avec un vaccin hétérologue pour assurer une protection complète (Boulter et Hall, 1999). La vaccination est une mesure importante contre la theilériose tropicale dans une zone endémique (Brown 1990 ; Ahmed et Mehlhorn 1999 ; Pipano et Shkap 2000 ; Gharbi *et al.*, 2006).

I- Vaccin atténué par culture

Au début des années 1920, Sergent et ses collaborateurs ont montré que le sang des bovins infectés était également infectieux, et ils ont ensuite utilisé du sang infecté par une souche naturellement bénigne de *T. annulata* « la souche Kouba » pour immuniser le bétail en Algérie (Hashemi-Fesharki, 1988 ; Gharbi, 2006). Une approche similaire a été mise en œuvre en Palestine et en ex-URSS (Hashemi-Fesharki, 1988). En 1967, Lu *et al* ont placé 50 tiques adultes *H. scupense* sur un bovin sain et ont prélevé le foie, la rate et les ganglions lymphatiques lorsque les schizontes ont été détectés dans les frottis de biopsie, ces organes ont été transformés dans une émulsion et irradiés, Cette émulsion a été utilisée comme vaccin et injectée aux bovins (Yin *et al.*, 2008). L'inconvénient de l'utilisation de ces méthodes pour la vaccination est le risque de transmettre d'autres parasites transmissibles par le sang. Pour cela, les techniques fut abandonnée mais ces études ont clairement montré que la vaccination contre *T. annulata* est possible (Hashemi-Fesharki, 1988), ce qui a induit à la mise au point des techniques de culture cellulaire *in vitro* qui permet la multiplication des cellules leucocytaires infectées des schizontes de *T. annulata*. Cette nouvelle méthode a permis le développement de vaccins vivants atténués par culture à long terme des lignées leucocytaires infectées (Ziam, 2015). Le terme atténué est plus précisément utilisé pour décrire le phénomène de perte de virulence tout en conservant l'infectiosité du parasite. Les techniques d'atténuation ont été décrites par de nombreux auteurs (Pipano, 1981 ; Hall, 1988 ; Brown 1990, Tait et Hall 1990 ; Boulter et Hall 1999 ; Brown, 1983). De tous les stades, seuls les schizontes peuvent être cultivés *in vitro* (Shkap *et al.*, 2007). Ces recherches ont montré que toute souche de *T.annulata* peut être atténuée partiellement ou complètement par un nombre suffisant de passages *in vitro* (Pipano *et al.*, 1973), mais le processus d'atténuation peut prendre des mois à des années pour se réaliser et cela dépend de la virulence de la souche parasitaire (Brown, 1983 ; Darghouth, 1996 ; Gharbi, 2012 ; Ziam, 2015). En prend exemple, la souche Algérienne « koubba » qui nécessite 223 passages pour être inactivées mais malheureusement elle a été perdue après onze ans et demi de sa conservation (Rafyi *et al.*, 1967). La perte de virulence du parasite doit être due à une modification et l'altération de l'expression des gènes du parasite (Brown, 1983). Les schizontes cultivés perdent la capacité d'accomplir leur cycle de vie chez les bovins, ils subissent une multiplication limitée ce qui induit à une diminution du nombre des schizontes pour déclencher les signes clinique de la maladie et perdu leur capacité à se transformer en

mérozoïtes (Pipano, 1979 ; Shkap, 2007). Le matériel de culture est techniquement simple et plus sûr que la technique du sang infecté (Pipano, 1977) mais il est confronté à plusieurs problèmes tels que le risque de contamination accidentelle par d'autres agents pathogènes au cours du processus de production et la présence d'un risque de réversion de virulence (Darghouth, 2008). La durée de la protection vaccinale n'est pas bien connue, cependant elle serait probablement supérieure à une année, comme l'indiquent des observations réalisées en Tunisie par Darghouth *et al* (2004) et par Zablotsky *et al* (1991) en ex-URSS (Gharbi, 2006). Pour traiter à la technique d'atténuation différentes souches sont isolées de plusieurs régions dans le but de trouver la meilleure souche à utiliser (Darghouth 2010). Cela ouvre la voie à chaque pays pour produire ses propres vaccins à partir des souches locales (Pipano, 1977). Les cultures de *T. annulata* sont initiées à partir de tissu contenant des cellules infectées par des schizontes, obtenu principalement de trois sources ; (a) Leucocytes du sang périphérique (PBL), (b) les organes internes tels que les ganglions lymphatiques, le foie et la rate de bovins malades de la theilériose, et (c) par infection *in vitro* de PBL bovins avec des sporozoïtes prélevés sur des tiques infectées (Pipano et Shkap, 2000).

a- Culture de cellules infectées par le schizonte à partir du sang

En 1977, Guo et ses collaborateurs ont réalisé la culture des cellules infectées par le schizonte à partir des globules blancs de bovins infection expérimentale par la TT (Yin *et al.*, 2008). C'est un vaccin produit à 200 passages, cultivé dans un milieu de culture composé de sérums de veau, d'hydrolysate de lactalbumine, de milieu d'aigle modifié de Dulbecco (DMEM) et d'anticorps. Le vaccin a pu induire une protection satisfaisante sur le terrain qui peut durer 19 mois. Ce dernier, était sans danger pour le bétail ; aucun signe clinique de la maladie n'a été observé (Yin *et al.*, 2008).

b- Culture de cellules de ganglions lymphatiques

En 1959, une étude *in vitro* sur la culture des schizontes de *T. annulata* à partir des cellules de ganglions lymphatiques a été initiée par Wenshun *et al.* En 1975, une lignée cellulaire a été obtenue après une culture de 15 à 21 passages dans un milieu composée d'acide folique et l'hydrolysate de lactalbumine (Yin *et al.*, 2008). La lignée cellulaire cultivée a induit une immunisation chez les bovins 20 jours après les vaccinations pour une durée maximale de 82 jours. L'essai du vaccin sur 3215 bovins à montrer que le taux de protection peut aller jusqu'à 98,01% (Yin *et al.*, 2008).

c- La culture à partir de leucocytes du sang périphérique (PBL)

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour initier des cultures à partir de leucocytes du sang

périphérique des bovins infectés. En premier lieu, la culture des cellules infectées par *T. annulata* dérivée des reins, du foie et de la rate ont été récolte sur des veaux mort ou abattue pour cause de la maladie (Pipano et Shkap, 2000). Par la suite, la technique de biopsie à l'aiguille été utilisé pour la récolte du matériel provenant d'organes internes (Pipano et Shkap, 2000). Cette technique de culture a été développée pour *T. parva* puit elle a été adoptée pour *T. annulata*. Une autre technique basée sur les sporozoïtes dérivés de tiques pour établir des cultures infectées par des schizontes utilisant le PBL et les tissus hépatiques de veaux infectés (Pipano et Shkap, 2000). En utilisant des préparations colorées au Giemsa à partir de cellules dispersées qui ont été recueillies et fixées sur des lames, ou en utilisant des cellules fixées puis colorées avec de l'acridine orange, il a été démontré que la présence de schizontes dans les cellules mononucléaires bovines stimule leur croissance et leur division (Pipano et Shkap, 2000). Les lignées cellulaires infectées par *T. annulata* ont été cultivées avec succès dans une grande variété de milieux synthétique tel que Le Leibovitz L-15 qui a donné un rendement maximal après 7 jours d'incubation à 37°C et le RPMI-1640 est également très efficace pour favoriser la croissance des lignées cellulaires infectées par le schizonte (Pipano & Shkap, 2000).

d. Technique de culture de schizontes selon l'Office International des Epizooties

Pour détecter la présence de macroschizontes chez les bovins malades, les cellules mononucléaires du sang périphérique (PBM) ont été isolées à partir d'aliqotes de 10 ml de sang périphérique en utilisant le Ficoll-Paque comme décrit par (Brown, 1987). Dix ml de sang dans du lithium-héparine ont été mélangés à 10 ml de solution saline stérile tamponnée au phosphate (PBS) pH 7,3 (BDH). Le mélange sang-PBS a été étalé sur 8 ml de Ficoll-Paque, et centrifugé à 1000 x g pendant 30 minutes à 15°C. Les PBM ont été collectés à l'interface et lavés dans 20 ml de PBS par centrifugation à 300 x g pendant 10 minutes à 15°C. Le surnageant, contenant les plaquettes, a été décanté et le culot a été lavé une fois de plus dans 20 ml de PBS et centrifugé comme ci-dessus mais pendant 5 minutes. Le culot cellulaire a été remis en suspension dans 10 ml de milieu complet froid, RPMI-1640. La suspension a été introduite dans un flacon de culture tissulaire de 25 cm² et placée dans un incubateur humidifié gaze à 5% de CO₂ à 37°C avec le bouchon desserré. Des lames de cytopspine colorées au Giemsa ont été préparées pour vérifier la qualité des cellules isolées et la présence de cellules infectées par le macroschizonte.

Le milieu de culture est changé tous les deux ou trois jours en centrifugeant 8 ml de suspension cellulaire à 300 x g pendant 5 minutes à température ambiante et en retirant le milieu avant de remettre en suspension le culot cellulaire dans 8 ml de milieu frais réchauffé

comme décrit ci-dessus et de le remettre dans le flacon d'origine. Chaque fois, un frottis de cytophane a été préparé pour évaluer si l'infection s'était établie. Lorsque plus de 50% des cellules étaient infectées, les cellules étaient transférées dans un nouveau flacon. Les cultures de cellules PBM ont été conservées pendant au moins trois semaines. Les lignées cellulaires établies ont été maintenues en réduisant le nombre de cellules, qui augmente de Log₁₀ toutes les 48-72 heures, par une dilution appropriée dans un milieu frais (Brown, 1987). La croissance cellulaire a été évaluée à l'aide d'un microscope inversé et de cytophanes. La sous-culture a été effectuée en diluant les cellules au 1:10 afin de démarrer des cultures fraîches à une densité cellulaire de 1-2 x 10⁵ par ml dans un milieu de culture contenant 10% de FCS. Les flacons de culture de cellules PBM ont été conservés pendant au moins trois semaines avant de décider qu'une lignée cellulaire n'avait pas été établie.

Les lignées cellulaires établies seront maintenues par des sous-cultures tous les 2 à 3 jours. Les lignées cellulaires seront repiquées dans un nouveau flacon 2 fois par semaine et le nombre de passages de l'isolat sera augmenté lorsque la culture sera déplacée dans le nouveau flacon. Tous les 10 passages, comme le passage 10, le passage 20, le passage 30, etc., seront cryo-conservés comme décrit ci-dessous.

II- Conservation du vaccin

En 1977, Pipano et ses collaborateurs ont développé une méthode de stockage du vaccin contre *T. annulata*. Le vaccin est stocké dans de l'azote liquide sous forme de petits pellets ces derniers contiennent 5-10 doses de parasites dans un volume d'environ 0,5 ml. Pour l'utilisation, les pellets sont décongelés et dilués dans du PBS et inoculés 30 minutes après la décongélation (Pipano, 1995). Le stockage du vaccin dans de l'azote liquide peut être conservé pendant plusieurs années et le décongeler au besoin. Cette conservation représente 30 % des coûts du vaccin et son efficacité peut être diminuée après décongélation. Un autre système de distribution sans azote liquide a été utilisé par Yin *et al.*, 2008 c'est par l'ajout de 1 à 1,5 % de gélatine au vaccin ce dernier prolonger la durée de vie des cellules jusqu'à 60 jours à 4-6 °C par rapport au milieu normal, car la gélatine rend le vaccin semi-solide, ce qui maintient les cellules en suspension et empêche le dépôt des cellules au fond de la bouteille (Yin *et al.*, 2008).

Actuellement, les vaccins vivants atténués représentent le seul moyen d'immunisation contre la Theileriose tropicale. Ces vaccins sont totalement efficaces pour toutes les races et tous les types de bovins, y compris les vaches laitières en gestation. Ils offrent une protection suffisante pour permettre aux races locales et exotiques de survivre dans les zones enzootiques mais le

degré de protection varie selon l'âge et la race des bovins (Shkap *et al.*, 2007; Hashemi-Fesharki et Shad-Del, 1973; Pipano, 1977; Pipano, 1979; Stepanova *et al.*, 1982). Le vaccin ne constitue pas un réservoir d'infection pour les tiques. Cependant, comme la vaccination n'empêche pas le développement des piroplasmes après la transmission par les tiques, l'immunisation ne permet pas d'éradiquer la maladie (Shkap *et al.*, 2007). La vaccination est adoptée par nombreux pays tels que Palestine, le Maroc, la Tunisie, la Turquie, l'Iran, la Russie, l'Inde et l'Uzbekistan qui l'utilisent régulièrement à large échelle (Pipano et Shkap 2000 ; Gharbi *et al.*, 2006; Shkap *et al.*, 2007; Ziam, 2015).

III- Vaccins recombinants

Des recherches ont été menées afin d'identifier des antigènes protecteurs pouvant être utilisés comme vaccins recombinants. Plusieurs antigènes ont été identifiés comme candidats vaccins. Néanmoins, à ce jour seuls deux antigènes ont montré une protection partielle, à savoir l'antigène sporozoïte AntiGen 1 (SPAG-1) et le mérozoïte T. annulata (Tams) (Gharbi et Darghouth, 2015).

a- Vaccination avec le SPAG-1

L'antigène de surface du sporozoïte (SPAG-1) de *T. annulata* est un polypeptide de 91,9 kDa de 907 acides aminés est localisé à la surface du sporozoïte (Boulter et Hall, 1999). L'utilisation du SPAG-1 comme candidat vaccinal vise à induire une réponse humorale capable de neutraliser une partie des sporozoïtes de *T. annulata* et de limiter la sévérité de l'infection. Les essais de vaccination utilisant le SPAG-1 ont tous montré l'expression d'une immunité relative contre des challenge homologues ou hétérologue (Gharbi, 2006). La meilleure protection a été obtenue en injectant l'antigène SPAG-1 avec un adjuvant (RWL). En effet, 3 animaux sur 6 ont survécu (12 animaux témoins sont morts) (Gharbi et Darghouth, 2015).

b- Vaccination avec le Tams

L'antigène Tams est la protéine de surface polymorphe immunodominante du mérozoïte-piroplasmite de *Theileria annulata* (Gubbels *et al.*, 2001), le Tams présente un niveau élevé de variation antigénique et de diversité d'acides aminés, ce qui a des implications pour l'utilisation de Tams1 dans un vaccin (Gubbels *et al.*, 2001). Tams a été utilisée avec succès dans des essais de vaccination (Gubbels *et al.*, 2001), L'injection de Tams recombinants associés à un adjuvant (complexe immunostimulant) conférait une relative protection contre les souches homologues (Gharbi et Darghouth, 2015). La culture successive de schizontes en culture tissulaire entraîne une atténuation du parasite, mais la culture en suspensions de schizontes atténués ont été utilisées comme vaccin pour immuniser le bétail contre *T. annulata* (Gill *et al.*, 1976).

Conclusion

La theilériose tropicale bovine est une maladie lympho-proliférative qui s'accompagne d'une anémie progressive transmise par les tiques qui fait intervenir trois acteurs, le bovin (hôte intermédiaire), la tique (hôte définitif) et le parasite (*Theileria annulata*), et affectant de nombreux pays d'Europe, d'Afrique et d'Asie. entraînant des pertes économiques considérables dans les élevages bovins sont liés aux pertes de productions (lait, viande et avortements), les coûts de la lutte contre la maladie et les mortalités.

le contrôle de cette maladie est d'une importance essentiel, La lutte contre la TT bovine repose sur le traitement des médicaments theiléricide et d'autres traitements symptomatiques C'est une mesure individuelle facile à appliquer mais n'élimine pas l'infection Plus les risques de résistance et En raison des coûts élevés de ces médicaments la prévention est La meilleure moyen pour contrôler la TT on a le contrôle du vecteur , La chimio-prévention et l'utilisation des vaccins vivants atténués en culture cellulaire, ces dernier sont facile à utiliser Injectés par voie sous-cutanée, confèrent aux animaux une solide immunité contre les souches homologues et hétérologue. Malgré leur efficacité, Ces vaccins sont confrontés à plusieurs problèmes le risque de contamination accidentelle par d'autres pathogènes lors du processus de production, l'utilisation d'une chaîne du froid lors de la distribution du vaccin et la présence d'une réversion de virulence, le vaccin atténué contre la TT est utilisé dans tous les pays où la maladie présente. A ce jour, on a seulement deux antigènes (SPAG-1) et (TAMS), qui peuvent servir de base au développement de vaccins inactivés recombinants.

Recommandations

Un plan de prophylaxie national dans lequel interviennent les trois facteurs pouvoirs publics, vétérinaires et éleveurs :

- ✚ Il faut Mener des campagnes de sensibilisation des éleveurs sur la gravité de la maladie et les procédures à suivre.
- ✚ Il faut améliorer l'état des étables en cimenter les murs et le sol pour fermer les fissures.
- ✚ Un contrôle rigoureux au niveau des frontières et une quarantaine obligatoire.
- ✚ Vu l'importance économique de la theilériose, on incite les pouvoirs publics à mieux ouvrir le champ de recherche scientifique dans ce domaine .

REFERENCE

- Acquiet, P., Dia, M.L., Perié, N.M., Jongejan, F., Uilenberg, G., Morel, P.C. (1990). The presence of *Theileria annulata* in Mauritania. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 43, 21-26.
- Ahmed, J. S., & Mehlhorn, H. (1999). The cellular basis of the immunity to and immunopathogenesis of tropical theileriosis. *Parasitology Research*, 85(7), 539-549.
- Al-Hosary, A. A., Ahmed, J., Nordengrahn, A., & Merza, M. (2015). Assessment of the First Commercial ELISA Kit for the Diagnosis of *Theileria annulata*. *Journal of parasitology research*, 2015.
- Ayadi, O. (2016). Contribution au diagnostic de la theilériose chez les bovins dans l'Est algérien (thèse de doctorat).
- Ayadi O, Gharbi M, Benchikh Elfegoun M.C .(2016). Incidence de la theilériose tropicale sur la production laitière dans la région de Skikda (Nord-est algérien).8ème Séminaire International De Médecine Vétérinaire ISVK. le 26 Novembre 2016 à université de Constantine 1.
- Ayadi, O., Gharbi, M., & Benchikh Elfegoun, M. C. (2016). Milk losses due to bovine tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection) in Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(9), 801–802.
- Baccouche, R., Bediaf, S., Haddad, M., & Jemmali, B. (2014). Histoire évolutive de la population bovine locale en Tunisie. *J. New Sci*, 2, 27-40.
- Boulter, N., & Hall, R. (1999). Immunity and vaccine development in the bovine theilerioses. *Advances in Parasitology*, 44, 41–97.
- Brown, C. (1981). Application of InVitro Techniques to Vaccination Against Theileriosis. *Advances in the Control of Theileriosis*, 104-119.

Brown, C. (1990). Control of tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection) of cattle. *Parassitologia (Roma)*, 32(1), 23-31.

Brown, C. (1983). *Theileria: In Vitro Cultivation of Protozoan Parasites*; Jensen, JB, Ed. Hashemi-Fesharki, R., Shad-Del, F., 1973. Vaccination of calves and milking cows with different strains of *Theileria annulata*. *Am. J. Vet. Res.* 34, 1465–1467.

Chellia, H. (2018). Observation épidémiologique et parasitologique de la Theileriose bovine et de leur vecteur dans la région de Guelma (mémoire de master, Université 8 Mai 1945 Guelma).

Darghouth, M. A. (2008). Review on the experience with live attenuated vaccines against tropical theileriosis in Tunisia: considerations for the present and implications for the future. *Vaccine*, 26, G4-G10.

Darghouth, M.A. (2000). La theilériose tropicale des bovins (*Theileria annulata*) en Tunisie : Caractérisation des états d'endémie et développement de lignées leucocytaires infectées de schizontes atténués. (Thèse de troisième cycle. Institut Polytechnique de Toulouse).p 242.

Darghouth, M. A., Bouattour, A. B. M. L., Miled, L. B., & Sassi, L. (1996). Diagnosis of *Theileria annulata* infection of cattle in Tunisia: comparison of serology and blood smears. *Veterinary research*, 27(6), 613-621.

Dumanlia, N., Aktasa, M., Cetinkayab, B., Cakmakc, A., Koroglua, E., Sakia, C. E., Erdogmusa, Z., Nalbantoglu, S., Ongorb, H., Simseka, S., Karahanb, M., Altay, K. (2005). Prevalence and distribution of tropical theileriosis in eastern Turkey. *Veterinary parasitology*, 127(1), 9-15.

Estrada-Peña, A., Bouattour, A., Camicas, J. L., & Walker, A. R. (2004). Ticks of domestic animals in the Mediterranean region. University of Zaragoza, Spain, 131.

Gamal A., El Hussein A.M., (2003). Economic impact of Theileriosis on a dairy farm in Northern Sudan. *Sudan J Vet Sci Anim Husb.* 42, 272–278.

Gharbi, M. (2006). Vaccination contre la theilériose tropicale en Tunisie (*Theileria annulata*): analyse économique et essai d'immunisation par ADN (thèse de doctorat).

- Gharbi, M., & Darghouth, M. A. (2015). Control of tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection in cattle) in North Africa. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(7), 505–510.
- Gharbi, M., Darghouth, M. A., Weir, W., Katzer, F., Boulter, N., Adamson, R., Gilbert, S. C., Jongejan, F., Westbroek, I., Hall, R., Tait, A., & Shiels, B. (2011). Prime-boost immunisation against tropical theileriosis with two parasite surface antigens: Evidence for protection and antigen synergy. *Vaccine*, 29(38), 6620–6628.
- Gharbi, M., et Darghouth, M. A. (2014). A review of *Hyalomma scupense* (Acari, Ixodidae) in the Maghreb region: from biology to control. *Parasite*, 21.
- Gharbi, M., et Darghouth, M. A. (2015). Control of tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection in cattle) in North Africa. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(7), 505-510.
- Gharbi, M., Mhadhbi, M., & Darghouth, M. A. (2012). Diagnostic de la theilériose tropicale du bœuf (infection par *Theileria annulata*) en Afrique du Nord. *Rev Med Vet (Toulouse)*, 163(12), 563-71.
- Gharbi M, Latrach R, & Sassi L. (2012). Evaluation of a simple theileria annulata culture protocol from experimentally infected bovine whole blood. *Parasite*, 19, 281–283.
- Gharbi, M., Rjeibi, M. R., et Darghouth, M. A. (2014). Epidémiologie de la theilériose tropicale bovine (infection par *Theileria annulata*) en Tunisie: une synthèse. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 67(4), 241-247.
- Gharbi, M., Touay, A., Khayeche, M., Laarif, J., Jedidi, M., Sassi, L., & Darghouth, M. A. (2011). Ranking control options for tropical theileriosis in at-risk dairy cattle in Tunisia, using benefit-cost analysis. *Unitheque.Com*, 30(3), 763–778.
- Gill, B. S., Bhattacharyulu, Y., Kaur, D., & Singh, A. (1976). Vaccination against bovine tropical theileriasis (*Theileria annulata*). *Nature*, 264(5584), 355-356.
- Gosrani, A. (1999). contribution à l'étude épidémiologique d'un foyer de la theilériose bovine a theileria annulata dans l'oasis de gabes.

- Gubbels, M. J., Katzer, F., Shiels, B. R., & Jongejan, F. (2001). Study of *Theileria annulata* population structure during bovine infection and following transmission to ticks. *Parasitology*, 123(6), 553–561.
- Guo, G., Shang, J., Yu, M., Zhao, J., Ma, S., Ali, N., Tan, L., & Maliyam. (1997). Research on the schizont cell culture vaccine against *Theileria annulata* infection in Xinjiang, China. *Tropical Animal Health and Production*, 29(4 Suppl), 1981–1983.
- Hashemi-Fesharki, R. (1988). Control of *Theileria annulata* in Iran. *Parasitology Today*, 4(2), 36-40.
- Marsolier, J., et Weitzman, J. B. (2014). Comment le parasite Apicomplexe *Theileria* manipule-t-il l'identité cellulaire de son hôte bovin ? *Biologie Aujourd'hui*, 208(4), 311–323.
- Mortelmans, J., et Kageruka, P. (1986). L'histoire de 80 années d'observations et de recherches sur les theilerioses au Zaïre, Rwanda et Burundi. *Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale* 66, 3, 209-210.
- Mukolwe, S. W. (1987). *In vitro* and *in vivo* studies of *Theileria cervi* bettencourt, 1907 (Doctoral dissertation, Oklahoma State University).
- Neitz, W. O. (1957). Theileriosis, gonderioses and cytauxzoonoses: a review. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, V 27, N 3, pp 275-326.
- Norval R, Perry BD, Young AS. (1992). The epidemiology of theileriosis in Africa. Academic, London, pp 379–403.
- Office International des Epizooties (OIE). (2012). Theileriosis. *In: Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres*, Paris. 580-595.

- Pipano, E., 1977. Basic principles of *Theileria annulata* control. In: Henson, J.B., Campbell, M. (Eds.), *Theileriosis: Report of a Workshop, Nairobi, Kenya, 7–9 December 1976*. IDRC, Ottawa, pp. 55–65.
- Pipana, E. (1979). Virulence and immunogenicity of cultured *Theileria annulata* schizonts. *Journal of the South African Veterinary Association*, 50(4), 332-333.
- Pipano, E. (1995). Live vaccines against hemoparasitic diseases in Israel with especial references to quality assurance. *Trop Anim Hlth Prod*, 29, 865-905.
- Pipano, E., et Shkap, V. (2000). Vaccination against tropical theileriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 916, 484–500.
- Pipano, E., Goldman, M., Samish, M., et Friedhoff, K. T. (1977). Immunization of cattle against *Theileria annulata* using killed schizont vaccine. *Veterinary Parasitology*, 3(1), 11-22.
- Pipano, E., Klopfer, U., et Cohen, R. (1973). Inoculation of cattle with bovine lymphoid cell lines infected with *Theileria annulata*. *Research in veterinary science*, 15(3), 388-389.
- Pipano, E., Shkap, V., et Frank, M. (1989). Comparaison de trois méthodes de préparation de cultures in vitro de schizontes de *Theileria annulata*. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 42(4), 529-533.
- Preston, P., Hall, R., Glass, E., Campbell, J., Darghouth, M., Ahmed, J., Shiels, B., Spooner, R., Brown, D., & Jongejan, F. (1999). Innate and adaptive immune responses co-operate to protect cattle against *Theileria annulata*. *Parasitology Today*, 15(7), 268–274.
- Rafyi, A., Maghami, G., et Houshmand, P. (1967). Sur la virulence de *Theileria annulata* (Dschunkowsky et Luhs, 1904) et la prémunition contre la Theilériose bovine en Iran. *Archives of Razi Institute*, 19(1), 5-17.
- Rahali, T.(2014). Éco-épidémiologie des hémoparasitoses vectorielles des ruminants au Maroc (thèse de doctorat).

Renneker, S., Abdo, J., Ahmed, J. S., et Seitzer, U. (2009). Field validation of a competitive ELISA for detection of *Theileria annulata* infection. *Parasitology Research*, 106(1), 47–53.

Robinson, P. M. (1982). *Theileriosis annulata* and its transmission—a review. *Tropical animal health and production*, 14(1), 3-12.

Rouina N.D., (1984). Clinical study of bovine theileriosis based on 327 cases in Algeria (north-west region, Mascara). *Maghreb Vét.* 3, 23-27.

Sergent E., Donatien A., Parrot L., Lestoquard F. (1945). *Etude des piroplasmoses bovines*. Ed. Institut Pasteur d'Algérie. 816 pp.

Sergent, E., Donatien, A., Parrot, L., Lestoquard, F. (1936). Cycle évolutif de *Theileria dispar* du bœuf chez la tique *Hyalomma mauritanicum*. *Arch. Inst. Pasteur Algérie.* 3, 261-294.

Sergent, E., Donatien, A., Parrot, L., Lestoquard, F. (1928). Transmission de la piroplasmose bovine à *Theileria dispar*, de l'Afrique du Nord, par la tique *Hyalomma mauritanicum*. *C. R. Acad. Sci.*, 187, 259-260.

Sharieff, O. E., El Hussein, A. M., Hassan, S. M., Salma, K., Salih, D. A., et Majid, A. A. (2003). Establishment of *Theileria* cell culture system in the Sudan: a mini review. *Sud J Vet Sci Anim Husb*, 42, 147-158.

Shkap, V., de Vos, A. J., Zweygarth, E., & Jongejan, F. (2007). Attenuated vaccines for tropical theileriosis, babesiosis and heartwater: the continuing necessity. *Trends in parasitology*, 23(9), 420-426.

Spooner, R. L., Innes, E. A., Glass, E. J., & Brown, C. G. (1989). *Theileria annulata* and *T. parva* infect and transform different bovine mononuclear cells. *Immunology*, 66(2), 284.

Stepanova, N.I., Zablotskii, V.T., Mutuzkina, M.P., Rasulav, M.I., 1982. Vaccine prophylaxis of bovine theileriosis. *Trudy Vsesoyuznogo Institute Eksperimental' noi Veterinarii* 56, 10–18.

Toudert Y., Khelflaoui A., Ziam H. (2003). Evolution et impact économique de la theilériose tropicale à *Theileria annulata* dans une étable d'élevage laitier moderne. XVII Congrès National Vétérinaire. Alger le 8-9 octobre 2003.

Uilenberg, G. (1981). Theilerial species of domestic livestock. In *Advances in the Control of Theileriosis* Springer, Dordrecht, pp 4-37.

Weir, W., Karagenç, T., Gharbi, M., Simuunza, M., Aypak, S., Aysul, N., Darghouth, M. A., Shiels, B., & Tait, A. (2011). Population diversity and multiplicity of infection in *Theileria annulata*. *International Journal for Parasitology*, 41(2), 193–203.

Yin, H., Luo, J., & Lu, W. (2008). Control of tropical theileriosis with attenuated schizont vaccine in China. *Vaccine*, 26, G11-G13.

Ziam, H., Aissi, M., Harhoura, K., Ababou, A. (2008). Prevalence, economic impact, of tropical theileriosis, on health of the bovine production. Xth European Multicolloquim of Parasitology. Paris August 24-28 2008.

Ziam, H. (2015). Epidémiologie des piroplasmoses bovines dans le nord de l'Algérie. cas des theilérioses chez les bovins (thèse de doctorat, usthb).

Ziam, H., Ababou, A., Kazadi, J., Harhour, K., & Assisi, M. (2016). Prévalences et signes cliniques associés des piroplasmoses bovines dans les Wilayates d'Annaba et El Tarf, Algérie.

Ziam, H., Saidani, K., et Aissi, M. (2017). Prevalence of bovine piroplasmosis and anaplasmosis in north-central Algeria. *Scientia Parasitologica*, 18, 7-15.