

**UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA**

**Institut des sciences vétérinaires**

**THESE DE DOCTORAT**

en sciences vétérinaires

Spécialité : Épidémiologie animale

ÉTUDE GÉNOMIQUE SUR LES PIROPLASMOSES CHEZ LES RUMINANTS

Par

**Asma-Amina FOUGHALI**

Devant le jury composé de :

|             |                             |              |
|-------------|-----------------------------|--------------|
| N. SAHRAOUI | Professeur, _ ISV, Blida 1  | Président    |
| M. AISSI    | Professeur, _ ENSV, Alger   | Examineur    |
| K. BENFODIL | MCA, _ SNVST, Bouïra        | Examineur    |
| I. LAFRI    | Professeur, _ ISV, Blida 1  | Examineur    |
| I. BITAM    | Professeur, _ ESSAIA, Alger | Directeur    |
| A. BERBAR   | Professeur, _ ISV, Blida 1  | Co-directeur |

Blida, 17 Avril 2024

## RÉSUMÉ

Les piroplasmoses (theilérioses et babésioses) et les anaplasmoses sont des maladies vectorielles non contagieuses responsables d'importantes pertes économiques en élevage des ruminants dans les régions tropicales et subtropicales y compris l'Afrique de Nord. La présente thèse est divisée en quatre parties expérimentales.

Dans la première partie, nous présentons les résultats d'une enquête participative réalisée en 2014 auprès des éleveurs de bovins de la commune de Beni Hamidène, Wilaya de Constantine (est-algérien) visant à étudier leurs connaissances, attitudes et perceptions quant aux piroplasmoses bovines. L'étude a été menée auprès de 73 éleveurs de bovins individuellement ou en *focus group*. La technique d'empilement proportionnel a été utilisée afin de répertorier les différentes maladies bovines et d'estimer leurs pertes économiques. Selon les éleveurs interviewés, les problèmes sanitaires en élevage bovin sont dominés par les piroplasmoses bovines. La theilériose et les babésioses étaient citées respectivement par 67,1 (49/73) et 60,3% (44/73) des éleveurs. L'enquête a révélé que les éleveurs interviewés ne font pas la distinction entre les babésioses et la theilériose.

Dans la deuxième partie de l'étude expérimentale, nous avons réalisé une enquête transversale entre juin et octobre 2014 dans la commune de Beni Hamidène. Cette étude avait pour objectif d'estimer les prévalences d'infections par les piroplasmes et les anaplasmes chez les bovins. Au total, 169 bovins provenant de 25 élevages ont été inclus. Les prévalences d'infections ont été estimées par examen microscopique d'étalements de sang colorés au Giemsa. Parmi les 169 bovins échantillonnés, 77 (46%) étaient infectés par au moins un des trois hémopathogènes. *Theileria annulata* était l'agent pathogène ayant la prévalence la plus élevée (65/169 ; 38,46%), suivi d'*Anaplasma marginale* (22/169 ; 13%) et *Babesia bovis* (5/169 ; 3%).

La troisième partie du travail expérimental est une étude menée dans la commune de Beni Hamidène visant à étudier l'infestation par des tiques ainsi que l'infection par les hémopathogènes des ovins suspects de piroplasmoses et/ou d'anaplasmose pendant la saison des tiques. Un total de 43 ovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose répartis, sur 34 troupeaux ovins ont été inclus. Au total, 185 tiques adultes ont été collectées sur 25 ovins, constituées de 104 mâles et 81 femelles, appartenaient à deux genres : *Rhipicephalus* et *Hyalomma* et quatre espèces : *Rhipicephalus bursa* (164/185 ; 88,6%), *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (16/185 ; 8,6%), *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* (4/185 ; 2,2%) et *Hyalomma scupense* (1/185 ; 0,5 ± 1%). L'étalement de sang coloré au Giemsa a révélé que près de la moitié des ovins (20/43 ; 46 ± 15%) étaient infectés par au moins un hémopathogène. Les taux d'infections ont été estimés à 44% (n=19) ; 14% (n=6) et 2% (n=1) pour respectivement *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. et *Theileria* spp.

La quatrième partie de l'étude expérimentale avait pour but d'étudier les infections et les co-infections chez 66 bovins présentant des symptômes de piroplasmose et/ou d'anaplasmose. L'étude a été menée entre début mai et fin septembre durant quatre années 2017, 2018, 2020 et 2021. La PCR a révélé que *T. annulata* était présent chez tous les animaux testés suivi de *B. bovis* (31,8%), *A. marginale* (22,7%) et *B. bigemina* (4,5%) ( $p < 0,001$ ). L'étalement de sang coloré au Giemsa a révélé que respectivement 66,7, 10,6 et 9,1% des animaux testés étaient infectés par *T. annulata*, *Babesia* spp. et *A. marginale* ( $p < 0,001$ ). La PCR a révélé sept co-infections : *T. annulata/A. marginale* (22,7%), *T. annulata/B. bovis* (31,8%), *T. annulata/B. bigemina* (4,5%), *T. annulata/A. marginale/B. bovis* (10,6%), *T. annulata/B. bovis/B. bigemina* (3%), *T. annulata/A. marginale/B. bigemina* (1,5%) et *T. annulata/A. marginale/B. bigemina/B. bovis* (1,5%). Les analyses phylogénétiques ont montré que les séquences partielles des gènes *Tams1* de *T. annulata* et *gp45* de *B. bigemina* obtenues dans cette étude étaient identiques aux séquences isolées respectivement, en Mauritanie et en Afrique du Sud. Les trois amplicons d'*A. marginale* obtenus dans cette étude partageraient une homologie de 99,63 à 99,88% entre elles.

**Mots clés :** *Anaplasma*, *Babesia*, Bovins, Giemsa, PCR, *Theileria*, Tiques, Ovins.

## ملخص

البيروبلازموز (البابيزيا "حمى القراد" والثيليريا "الحمى المدارية") والأنابلازموز "مرض الحوصلة الصفراء" من الأمراض الغير معدية التي تنتقل عن طريق القراد. تتسبب هذه الأمراض في خسائر اقتصادية كبيرة في مزارع الحيوانات المجترة بالمناطق الاستوائية والشبه الاستوائية وشمال إفريقيا. هذه الأطروحة مقسمة إلى أربعة أجزاء تجريبية:

في الجزء الأول، نقدم نتائج حول استقصاء تم إجراؤه في عام 2014 مع مربى الأبقار في بلدية بني حميدان، ولاية قسنطينة، شرق الجزائر، بهدف دراسة معارفهم ومواقفهم وتصوراتهم حول البيروبلازموز عند الأبقار. شملت الدراسة 73 مربى ماشية بشكل فردي أو في مجموعات. تم استخدام تقنية *empilement proportionnel* لسرد مختلف أمراض الأبقار وتقدير الخسائر الاقتصادية الناتجة عنها. وفقاً للمربين، فإن المشاكل الصحية في تربية الماشية يهيمن عليها البيروبلازموز. تم ذكر مرض الحمى المدارية ومرض حمى القراد على التوالي من قبل 67,1 (73/49) و60,3% (73/44) من المربين. كشف الحوار أن المربين لا يميزون بين مرض البابيزيا ومرض الثيليريا.

في الجزء الثاني قمنا بدراسة مقطعية بين جوان وأكتوبر 2014 في بلدية بني حميدان، كان الهدف منها تقدير نسبة انتشار البيروبلازموز والأنابلازموز عند الأبقار. تم اختيار عينة مكونة من 169 رأس ماشية حيث تم تقدير انتشار العدوى عن طريق فحص مسحة الدم تحت المجهر وذلك بعد تلويها بصبغ الجيمسا. من بين 169 رأس ماشية موزعة في 25 إسطل، 77 (46%) أصيبوا بواحد على الأقل من طفيليات الدم. أظهرت نتائج الدراسة أن *Theileria annulata* طفيلي الحمى المدارية (38,46%؛ 169/65) هو الطفيلي الأكثر انتشاراً، يليه *Anaplasma marginale* (13%؛ 169/22) ثم *Babesia bovis* (3%؛ 169/5).

قمنا في الجزء الثالث بدراسة بلدية بني حميدان هدفها معرفة مدى انتشار القراد الصلب والإصابة بطفيليات الدم عند الأغنام المشتبه بإصابتها بداء البيروبلازموز و/أو الأنابلازموز خلال موسم القراد حيث تم اختيار عينة 43 من الأغنام التي ظهرت عليها أعراض الأنابلازموز و/أو البيروبلازموز منتشرة على 34 قطيعاً من الأغنام. تم جمع 185 قراد من 25 رأس غنم مصاب بالقراد، تابعة لجنسين من القراد: (*Hyalomma*) و (*Rhipicephalus*) وأربعة أنواع: (*Rhipicephalus bursa*) (88,6%؛ 185/164)، (*Rhipicephalus sanguineus*) (2,2%؛ 185/4) و (*Hyalomma scupense*) (185/1) (0,5 ± 1%). كشفت مسحات الدم الملونة بصبغ الجيمسا أن ما يقرب من نصف الأغنام (43/20) (46 ± 15%) مصاب على الأقل بواحد من طفيليات الدم. قدرت معدلات الإصابة بـ 44% (عدد 19)؛ 14% (عدد 6) و2% (عدد 1) على التوالي. *Anaplasma spp.*، *Babesia spp.* و *Theileria spp.*

الغرض من الجزء الرابع من هذا العمل هو دراسة العدوى وأنماط العدوى المشتركة عند 66 رأس ماشية مشتبه بإصابتها بداء البيروبلازموز و/أو الأناپلازموز. أجريت الدراسة في فترة ما بين بداية شهر ماي ونهاية شهر سبتمبر وذلك لمدة أربع سنوات 2017 و2018 و2020 و2021. أظهر تحليل تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) وجود *T. annulata* في جميع الحيوانات المختبرة تليها *B. bovis* (31,8%) و *A. marginale* (22,7%) و *B. bigemina* (4,5%). ( $p < 0,001$ ). أظهر تحليل مسحات الدم الملونة بصبغ الجيمسا أن 66,7 و10,6 و9,1% من الحيوانات المختبرة كانت مصابة بـ *T. annulata*، *Babesia spp* و *A. marginale* على التوالي. كشف تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) عن سبعة أنماط للعدوى المشتركة: *T. annulata/A. marginale* (22,7%)، *T. annulata/A. marginale/B. bovis* (10,6%)، *T. annulata/B. bovis* (31,8%)، *T. annulata/B. bovis/B. bigemina* (3%)، *T. annulata/B. bigemina* (4,5%)، *T. annulata/A. marginale/B. bigemina* (1,5%) و *T. annulata/A. marginale/B. bigemina/B. bovis* (1,5%).

أظهرت تحليلات علم تطور السلالات أن التسلسلات الجزئية لجينات *Tams1* من *T. annulata* و *gp45* من *B. bigemina* التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة كانت متطابقة مع التسلسلات المعزولة، على التوالي، في موريتانيا وجنوب إفريقيا. الثلاثة الأمبليكونات لـ *A. marginale* التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة لها نسبة تشابه من 99,63 إلى 99,88% بينهما.

**الكلمات المفتاحية:** القراد، الجيمسا، تفاعل البوليميراز المتسلسل، الإبقار، الأغنام، *Babesia*، *Anaplasma*، *Theileria*.

## ABSTRACT

Piroplasmosis (theilerioses and babesioses) and anaplasmosis are non-contagious vector-borne diseases. They cause significant economic losses in ruminants' industry in tropical and subtropical regions, including North Africa. This thesis is divided into three experimental parts.

In the first part, we present the results of a participatory study carried out on cattle owners living during 2014 in Beni Hamidene locality, district of Constantine, Northeast Algeria. The aim of this survey was to investigate cattle owners' knowledge, attitude and perception on cattle piroplasmoses. The study was conducted individually or in focus groups with 73 cattle owners. Proportional piling technique was used to determine the most common cattle diseases, and to evaluate economic impact of these diseases. According to cattle owners, health problems are dominated by piroplasmoses. Theileriosis (49/73; 67.1%) and babesiosis (44/73; 60.3%) were considered the most important bovine diseases. This study revealed that cattle owners do not make distinction between babesiosis and theileriosis

In the second part, a cross-sectional study was realised between June and October 2014 in Beni Hamidene locality. We aimed estimating the prevalence of piroplasmoses and anaplasmosis in cattle. A total of 169 bovines from 25 farms were included in this survey. Infection prevalences were estimated by microscopic examination of Giemsa-stained blood smears. Among the 169 studied cattle, 46% (77/169) were infected by at least one of the three haemopathogens. *Theileria annulata* (38%; 65/169) was the most frequent pathogen followed by *Anaplasma marginale* (13%; 22/169) and *Babesia bovis* (3%; 5/169).

The third part of this work was a study carried out in Beni Hamidene locality that aimed to study the tick infestation during the tick season in sheep with clinical episodes or haemopathogen infections. A total number of 43 sheep that showed

clinical symptoms of anaplasmosis and/or piroplasmosis from 34 sheep flocks were included. A total of 185 adult ticks were collected from 25 sheep, consisting of 100 males and 85 females, belonging to two genera: *Rhipicephalus* and *Hyalomma* and four species: *Rhipicephalus bursa* (164/185; 88.6 ± 4.6%), *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (16/185; 8.6 ± 4 %), *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* (4/185; 2.2 ± 2.1%) and *Hyalomma scupense* (1/185; 0.5 ± 1%). Giemsa-stained blood smears examination showed that, almost half of the 43 sheep with symptoms (20/43; 46 ± 15%) were infected by at least one haemopathogen. The infection rates were 44; 14 and 2% for *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. and *Theileria* spp., respectively.

In the fourth part of this work, we studied infections and co-infection patterns in 66 cattle with clinical signs of piroplasmosis and/or anaplasmosis. This study was conducted between early May and late September during four years 2017, 2018, 2020, and 2021. PCR showed that *T. annulata* was present in all animals tested, followed by *B. bovis* (31.8%), *A. marginale* (22.7%) and *B. bigemina* (4.5%) ( $p < 0.001$ ). Giemsa-stained blood smears examination revealed that 66.7; 10.6 and 9.1% of tested animals were infected by *T. annulata*, *Babesia* spp. and *A. marginale* respectively ( $p < 0.001$ ). PCR revealed seven co-infection patterns: *T. annulata/A. marginale* (22.7%), *T. annulata/B. bovis* (31.8%), *T. annulata/B. bigemina* (4.5%), *T. annulata/A. marginale/B. bovis* (10.6%), *T. annulata/B. bovis/B. bigemina* (3%), *T. annulata/A. marginale/B. bigemina* (1.5%), and *T. annulata/A. marginale/B. bigemina/B. bovis* (1.5%). Phylogenetic analyses showed that *T. annulata Tams1* and *B. bigemina gp45* sequences were identical to isolates from Mauritania and South Africa, respectively. The three *A. marginale* amplicons obtained herein had 99.63 to 99.88% similarity between them.

**Keywords:** *Anaplasma*, *Babesia*, Cattle, Giemsa, PCR, *Theileria*, Ticks, Sheep.

## REMERCIEMENTS

Louage à Dieu qui m'a inspiré et guidé sur le droit chemin

À Madame Naima SAHRAOUI

Professeure à l'Institut des Sciences Vétérinaires de Blida qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider notre jury, hommage respectueux.

À Monsieur Idir BITAM

Professeur à l'École Supérieure des Sciences de l'Aliment et Industries Agroalimentaires, pour avoir accepté de m'encadrer et me prodiguer son aide si précieuse et me guider tout au long de ce travail.

À Monsieur Ali BERBER

Professeur à l'Institut des Sciences Vétérinaires de Blida, pour avoir co-encadré ce travail. Sincères remerciements.

À Madame Miriem AISSI

Professeure, à l'École Nationale Vétérinaire Supérieure d'Alger, qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse. Mes vifs remerciements.

À Madame Karima BENFODIL

Maître de conférences classe A à l'Université de Bouïra, qui a accepté d'être membre du jury. Hommage respectueux.

Un grand merci à monsieur Mohamed GHARBI

Professeur à l'École de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet, Tunisie pour m'avoir donné l'occasion de finaliser mon travail de recherche et pour m'avoir ouvert les portes de la recherche. Sa disponibilité, son aide si précieuse et ses conseils ont permis de mener à bien cette thèse. Qu'il trouve ici l'expression de ma plus profonde gratitude.

Mes remerciements s'adressent au Docteur Moez MHADHBI  
Assistant hospitalo-Universitaire à l'École Nationale de Médecine Vétérinaire de  
Sidi Thabet, Tunisie. Ses connaissances, ses conseils pertinents, sa générosité et  
son écoute m'ont guidé tout au long de mon stage. Veuillez trouver ici l'expression  
de ma profonde reconnaissance.

À monsieur Mokhtar DHIBI

Technicien supérieur au Laboratoire de Parasitologie de l'École Nationale de  
Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet. Pour sa précieuse aide. Sincères  
remerciements.

À tous les membres du service de parasitologie de l'École de Médecine Vétérinaire  
de Sidi Thabet, Tunisie qui ont su m'accueillir avec une immense gentillesse et un  
grand professionnalisme. Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma sincère gratitude.

Un hommage très particulier à Dr Faten BOUAICHA, Dr Safa AMAIRIA, Dr Rihab  
ROMDHANE, Dr Mohamed Ridha RJEIBI, Pr. Ag. Mediha KHBOU KHAMASSI, Dr  
Yosra AMDOUNI. Merci pour vos précieux conseils.

Au Docteur vétérinaire Halima BOULKROUT. Sans elle ce travail n'aurait pas vu le  
jour. Honorée d'avoir pu profiter de sa longue expérience, merci pour les conseils  
et pour l'ambiance de travail agréable.

Je voudrais également adresser mes remerciements et ma reconnaissance aux  
Docteurs Nadjat REDJEM et Khadija OUCHNANE pour leur aide précieuse.

Toute ma reconnaissance à tous les éleveurs et propriétaires de ruminants des  
deux communes Beni Hamidène et Grarem qui m'ont permis de réaliser ce travail.

J'adresse également tous mes remerciements aux vétérinaires praticiens et  
étatiques qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

Je remercie également l'ensemble du personnel de l'Institut des sciences  
vétérinaires de Blida 1.

À toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

## DEDICACES

Je dédie ce travail à la mémoire de ma très chère mère *Louiza DERRADJI*, son amour, son éducation, ses valeurs morales et son savoir ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

À la mémoire de mon père *Ahmed Kamel* que Dieu l'accueille dans son vaste paradis. Tu resteras toujours vivant dans mon cœur.

À mes deux frères *Hamza Yaboub* et *Abdelmadjid Ayoub* pour leurs soutiens et leurs encouragements permanents. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

À mes belles-sœurs *Amira* et *Assala Hadjer* pour leurs généreux conseils et leurs aides.

À mes adorables neveux *Ahmed Younes* et *Mohamed Adem* et ma chère nièce *Meriem Marwa*. Aucun mot n'est assez fort pour exprimer tout l'amour que j'ai pour vous.

À ma tante *Saida Zohra*, merci de toujours répondre présente.

À toutes mes tantes que j'admire et que j'aime tant.

À la mémoire de mon grand-père *Kadour*, mes deux tantes *Fatiha* et *Naanaa* et mon oncle *Azzedine*.

À tous mes collègues de l'Institut des Sciences Vétérinaires de Blida.

À tous mes enseignants du primaire à la post graduation.

À toutes mes amies, en souvenir des beaux moments passés ensemble.

## TABLE DES MATIERES

|  |    |
|--|----|
| RÉSUMÉ   |    |
| REMERCIEMENTS                                      |    |
| TABLE DES MATIERES                                 |    |
| LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX   |    |
| INTRODUCTION                                       | 21 |
| CHAPITRE 1 : BABÉSIOSES DES RUMINANTS              | 24 |
| 1.1. Définition                                    | 24 |
| 1.2. Historique                                    | 24 |
| 1.3. Importance des babésioses                     | 25 |
| 1.4. Taxonomie                                     | 25 |
| 1.5. Répartition géographique                      | 26 |
| 1.6. Cycle biologique                              | 27 |
| 1.7. Facteurs de réceptivité                       | 28 |
| 1.8. Épidémiologie synthétique                     | 28 |
| 1.8.1. Situation d'endémie stable                  | 28 |
| 1.8.2. Situation d'endémie instable                | 28 |
| 1.8.3. Situation d'endémie critique                | 29 |
| 1.9. Immunité                                      | 29 |
| 1.9.1. Réaction immunitaire à médiation humorale   | 29 |
| 1.9.2. Réaction immunitaire à médiation cellulaire | 30 |
| 1.10. Diagnostic                                   | 30 |
| 1.10.1. Diagnostic épidémio-clinique               | 30 |
| 1.10.2. Diagnostic expérimental                    | 31 |
| 1.10.2.1. Diagnostic direct                        | 32 |
| 1.10.2.2. Diagnostic indirect                      | 36 |
| 1.10.2.3. Examen hématologique et biochimique      | 37 |
| 1.10.2.4. Diagnostic différentiel                  | 37 |
| 1.10.2.5. Diagnostic nécropsique                   | 37 |
| 1.11. Traitement                                   | 38 |
| 1.12. Prophylaxie                                  | 39 |
| 1.12.1. Lutte contre les tiques                    | 39 |
| 1.12.1.1. Détique manuel                           | 39 |
| 1.12.1.2. Utilisation des acaricides               | 39 |
| CHAPITRE 2 : THEILÉRIOSES DES RUMINANTS            | 42 |
| 2.1. Définition                                    | 42 |
| 2.2. Historique                                    | 42 |
| 2.3. Importance des theilérioses                   | 43 |
| 2.4. Taxonomie                                     | 43 |
| 2.5. Répartition géographique                      | 44 |

|   |   |        |
|---|---|--------|
| 2.5.1.  | Theilérioses bovines                                  | 45     |
| 2.5.2.  | Theilérioses ovines                                   | 45     |
| 2.6.  | Étiologie   | 46     |
| 2.6.1.  | Theilérioses bovines                                  | 46     |
| 2.6.2.  | Theilérioses ovines                                   | 46     |
| 2.7.  | Réceptivité   | 47     |
| 2.7.1.  | Age   | 47     |
| 2.7.2.  | Race  | 47     |
| 2.7.3.  | Espèce  | 47     |
| 2.8.  | Facteurs favorisants                                  | 48     |
| 2.8.1.  | Mode d'élevage  | 48     |
| 2.8.2.  | État de l'étable                                      | 48     |
| 2.8.3.  | Conditions climatiques                                | 49     |
| 2.9.  | Source de <i>Theileria</i> et mode de transmission    | 49     |
| 2.10.   | Pathogénie  | 49     |
| 2.11.   | Cycle évolutif de <i>Theileria</i> chez les ruminants | 50     |
| 2.11.1.   | Chez le ruminant                                      | 50     |
| 2.11.2.   | Chez la tique   | 51     |
| 2.12.   | Immunité  | 52     |
| 2.12.1.   | Immunité innée  | 52     |
| 2.12.2.   | Immunité acquise                                      | 52     |
| 2.13.   | Diagnostic  | 53     |
| 2.13.1.   | Diagnostic clinique                                   | 53     |
| 2.13.1.1.   | Theilérioses bovines                                  | 53     |
| 2.13.1.2.   | Theilérioses ovines                                   | 54     |
| 2.13.2.   | Diagnostic différentiel                               | 55     |
| 2.13.3.   | Diagnostic lésionnel                                  | 58     |
| 2.13.4.   | Diagnostic de laboratoire                             | 59     |
| 2.14.   | Traitement  | 64     |
| 2.14.1.   | Traitement Spécifique (theiléricide)                  | 65     |
| 2.14.2.   | Traitements adjuvants                                 | 65     |
| 2.15.   | Prophylaxie   | 66     |
| 2.15.1.   | Vaccination   | 66     |
| <br>CHAPITRE 3 : ENQUÊTE PARTICIPATIVE SUR LES<br>PIROPLASMOSES BOVINES |   | <br>69 |
| 3.1.  | Introduction  | 69     |
| 3.2.  | Matériel et méthodes                                  | 69     |
| 3.2.1.  | Région d'étude  | 69     |
| 3.2.2.  | Étude participative                                   | 70     |
| 3.3.  | Analyses statistiques                                 | 72     |
| 3.4.  | Résultats   | 72     |
| 3.4.1.  | Maladies les plus fréquentes des bovins               | 72     |
| 3.4.2.  | Facteur de risque des piroplasmoses bovines           | 81     |

|  |   |     |
|--|---|-----|
| 3.4.3.   | Différence entre la theilériose et la babésiose                                   | 81  |
| 3.4.4.   | Impact économique   | 86  |
| 3.4.5.   | Risque zoonotique   | 86  |
| 3.4.6.   | Incidence mensuelle des piroplasmoses bovins                                      | 86  |
| 3.4.7.   | Attitude et pratique des éleveurs   | 87  |
|  | 3.4.7.1. Traitement   | 87  |
| 3.4.8.   | Létalité  | 88  |
| 3.4.9.   | Les différents concepts de prévention contre les piroplasmoses selon les éleveurs | 88  |
| 3.5.   | Discussion  | 89  |
| 3.6.   | Conclusion  | 92  |
| CHAPITRE 4   |   | 94  |
| PRÉVALENCE DES HÉMOPATHOGÈNES ( <i>THEILERIA</i> , <i>BABESIA</i> ET <i>ANAPLASMA</i> ) DES BOVINS   |   |     |
| 4.1.   | Introduction  | 94  |
| 4.2.   | Matériel et méthodes  | 95  |
|  | 4.2.1. Zone d'étude   | 95  |
|  | 4.2.2. Élevage et animaux   | 96  |
|  | 4.2.3. Acaricides   | 97  |
|  | 4.2.4. Prélèvements   | 97  |
|  | 4.2.5. Traitement   | 98  |
|  | 4.2.6. Analyses statistiques  | 98  |
| 4.3.   | Résultats   | 99  |
|  | 4.3.1. Infection par <i>Anaplasma marginale</i>                                   | 100 |
|  | 4.3.2. Infection par <i>Theileria annulata</i>                                    | 101 |
|  | 4.3.3. Infection par <i>Babesia bovis</i>   | 105 |
|  | 4.3.4. Létalité   | 106 |
| 4.4.   | Discussion  | 106 |
| 4.5.   | Conclusion  | 109 |
| CHAPITRE 5   |   | 111 |
| INFECTION PAR LES HÉMOPATHOGÈNES ( <i>THEILERIA</i> , <i>BABESIA</i> ET <i>ANAPLASMA</i> ) ET INFESTATION PAR LES TIQUES CHEZ LES OVINS PENDANT LA SAISON ESTIVALE |   |     |
| 5.1.   | Introduction  | 111 |
| 5.2.   | Matériel et méthodes  | 112 |
|  | 5.2.1. Région d'étude   | 112 |
|  | 5.2.2. Élevages et animaux  | 112 |
|  | 5.2.3. Prélèvements sanguins  | 114 |
|  | 5.2.4. Collecte et identification des tiques                                      | 114 |
|  | 5.2.5. Indicateurs épidémiologiques et analyses statistiques                      | 115 |
|  | 5.2.6. Traitements  | 116 |

|   |  |     |
|---|--|-----|
| 5.3.  | Résultats  | 116 |
| 5.3.1.  | Indicateurs parasitologiques   | 116 |
| 5.3.2.  | Sites de prédilection anatomique des tiques  | 119 |
| 5.3.3.  | Hémopathogènes   | 120 |
| 5.3.4.  | Létalité   | 126 |
| 5.4.  | Discussion   | 126 |
| CHAPITRE 6  |  | 130 |
| CO-INFECTIONS DES BOVINS PAR LES HÉMOPATHOGÈNES<br>( <i>THEILERIA</i> , <i>BABESIA</i> ET <i>ANAPLASMA</i> ) ET LEURS ANALYSE<br>PHYLOGÉNÉTIQUE DURANT LA PÉRIODE D'ACTIVITÉ DES TIQUES |  |     |
| 6.1.  | Introduction   | 130 |
| 6.2.  | Matériel et méthodes   | 132 |
| 6.2.1.  | Région d'étude   | 132 |
| 6.2.2.  | Élevage et animaux   | 133 |
| 6.2.3.  | Collecte et identification des tiques  | 134 |
| 6.2.4.  | Prélèvements sanguins  | 134 |
| 6.2.5.  | Diagnostic moléculaire des hémopathogènes  | 135 |
| 6.2.5.1.  | Extraction d'ADN à partir du sang  | 135 |
| 6.2.5.2.  | PCRs spécifiques aux hémopathogènes  | 137 |
| 6.2.5.3.  | Électrophorèse sur gel d'agarose   | 138 |
| 6.2.5.4.  | Séquençage et analyses phylogénétiques   | 141 |
| 6.2.5.5.  | Analyse bio-informatique   | 141 |
| 6.2.6.  | Indicateurs épidémiologiques et analyses statistiques  | 142 |
| 6.2.7.  | Traitements  | 142 |
| 6.3.  | Résultats  | 143 |
| 6.3.1.  | Indicateurs parasitologiques   | 143 |
| 6.3.1.1.  | Infestation par les tiques   | 143 |
| 6.3.2.  | Sites de prédilection anatomique des tiques  | 147 |
| 6.3.3.  | Infection par les hémopathogènes   | 148 |
| 6.3.4.  | Analyse phylogénétique   | 153 |
| 6.4.  | Discussion   | 156 |
| 6.5.  | Conclusion   | 161 |
| CONCLUSION GÉNÉRALE   |  | 163 |
| APPENDICES  |  |     |
| A.  | FICHE D'IDENTIFICATION DES BOVINS  | 168 |
| B.  | FICHE D'IDENTIFICATION DES OVINS   | 170 |
| C.  | LISTE DES SYMBOLES   | 172 |
| D.  | KNOWLEDGE, ATTITUDE AND PERCEPTION OF BOVINE<br>PIROPLASMOSIS BY CATTLE OWNERS IN CONSTANTINE, | 174 |

NORTH-EAST OF ALGERIA, USING PARTICIPATORY  
EPIDEMIOLOGY

|    |  |     |
|----|--|-----|
| E. | CROSS-SECTIONAL SURVEY OF CATTLE<br>HAEMOPATHOGENS IN CONSTANTINE, NORTHEAST<br>ALGERIA  | 175 |
| F. | INFECTION BY HAEMOPATHOGENS AND TICK INFESTATION<br>OF SHEEP DURING SUMMER SEASON IN CONSTANTINE<br>REGION, NORTHEAST ALGERIA                            | 176 |
| G. | CATTLE CO-INFECTION PATTERNS BY HEMOPATHOGENS<br>AND THEIR PHYLOGENETIC ANALYSIS DURING THE TICK<br>SEASON IN CONSTANTINE AND MILA, NORTHEAST<br>ALGERIA | 177 |
| H. | COMMUNICATIONS ORALES  | 178 |
| I. | COMMUNICATIONS AFFICHÉES   | 179 |
| J. | AUTRES TRAVAUX   | 180 |

## LISTE DES ILLUSTRATIONS ET TABLEAUX

### LISTE DES FIGURES

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Figure 1.1 | Cycle évolutif de <i>Babesia</i> spp.  | 27 |
| Figure 1.2 | Érythrocytes d'un bovin infectés par <i>Babesia motasi</i> (coloration Giemsa, grossissement x 1000)   | 33 |
| Figure 1.3 | Étalement de sang coloré au Giemsa montrant <i>Babesia bovis</i> (objectif x 1000)   | 34 |
| Figure 1.4 | Étalement de sang coloré au Giemsa montrant <i>Babesia divergens</i> (objectif x 1000)   | 35 |
| Figure 2.1 | Cycle évolutif de <i>Theileria</i> spp.  | 51 |
| Figure 2.2 | Schizontes de <i>Theileria lestoquardi</i> sur une ponction de nœud lymphatique d'un ovin atteint de theilériose ovine maligne (Coloration Giemsa, examen au microscope optique à l'huile à immersion, grossissement x 1000) | 60 |
| Figure 2.3 | Érythrocytes d'un bovin infectés par <i>Theileria annulata</i> (coloration Giemsa, grossissement x 1000)   | 61 |
| Figure 2.4 | Érythrocytes de bovin infectés par <i>Theileria buffeli</i> (coloration Giemsa, grossissement x 1000)  | 62 |
| Figure 3.1 | Carte géographique de la région d'étude  | 70 |
| Figure 3.2 | Pourcentage des éleveurs de bovins ayant cité chaque maladie dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine   | 74 |
| Figure 3.3 | Relation entre le score moyen de la fréquence de chaque maladie et le score moyen relatifs aux pertes économiques selon les éleveurs de la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine                                   | 75 |
| Figure 3.4 | Incidence mensuelle des piroplasmoses bovines selon les éleveurs de la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine, Algérie  | 87 |
| Figure 4.1 | Local d'élevage avec des murs crevassés et mal entretenus, abritant plusieurs espèces animales dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine   | 96 |

|            |  |     |
|------------|--|-----|
| Figure 4.2 | Érythrocytes d'un bovin infectés par <i>Anaplasma marginale</i> (coloration Giemsa, grossissement x 1000)  | 101 |
| Figure 4.3 | Érythrocyte d'un bovin infecté par <i>Theileria annulata</i> (coloration Giemsa, grossissement x 1000)   | 102 |
| Figure 4.4 | Fréquence des symptômes observés chez les 25 bovins atteints de theilériose tropicale bovine dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine                               | 103 |
| Figure 4.5 | Pétéchie oculaire chez une vache de race pure exotique atteinte de theilériose tropicale bovine, dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine                           | 104 |
| Figure 4.6 | Hypertrophie du nœud lymphatique pré-crural chez une vache de race pure exotique atteinte de theilériose tropicale bovine, dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine | 105 |
| Figure 4.7 | Érythrocyte d'un bovin infecté par <i>Babesia bovis</i> (coloration Giemsa, grossissement x 1000)  | 106 |
| Figure 5.1 | Bergerie mal entretenue, avec des murs crevassés, commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine  | 113 |
| Figure 5.2 | Identification des tiques collectées sous une loupe binoculaire  | 115 |
| Figure 5.3 | <i>Rhipicephalus bursa</i> mâle, face dorsale, collecté chez un ovin de race locale infecté par <i>Babesia</i> spp.  | 117 |
| Figure 5.4 | <i>Rhipicephalus (Boophilus) annulatus</i> mâle, face dorsale, collecté chez un bovin de race croisée infecté par <i>Babesia bovis</i>   | 118 |
| Figure 5.5 | Espèces de tiques collectées chez les ovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose, dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine                  | 118 |
| Figure 5.6 | Évolution mensuelle du nombre de tiques infestant les ovins dans la commune de Beni Hamidéne (Wilaya de Constantine, Nord-Est algérien)  | 119 |
| Figure 5.7 | Localisation anatomique de <i>Rhipicephalus bursa</i> chez des ovins présents des symptômes dans la commune de Beni Hamidéne (Wilaya de Constantine, Nord-Est algérien)            | 120 |

|             |  |     |
|-------------|--|-----|
| Figure. 5.8 | Étalement de sang coloré au Giemsa montrant <i>Anaplasma ovis</i> (objectif x 1000)  | 121 |
| Figure 5.9  | Hypertrophie du nœud lymphatique pré-scapulaire chez un ovin de race locale croisée co-infecté par <i>Theileria</i> spp. et <i>Anaplasma</i> spp. dans la commune de Beni Hamidène, Wilaya de Constantine  | 125 |
| Figure 5.10 | Ictère visible sur la muqueuse oculaire d'un ovin de race locale co-infecté par <i>Anaplasma</i> spp. et <i>Babesia</i> spp. dans la commune de Beni Hamidène (Wilaya de Constantine, Nord-Est de l'Algérie)   | 126 |
| Figure 6.1  | Carte géographique de la région d'étude  | 133 |
| Figure 6.2  | Kit d'extraction d'ADN Promega (Wizard® Genomic DNA Purification Kit, A1125)   | 136 |
| Figure 6.3  | Espèce de tiques collectées chez les bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose, dans les deux communes de Beni Hamidène et de Grarem Gouga, respectivement des Wilayas de Constantine et de Mila   | 144 |
| Figure 6.4  | <i>Hyalomma rufipes</i> mâle, face dorsale, collecté chez un bovin de race croisée infecté par <i>Theileria annulata</i>   | 145 |
| Figure 6.5  | <i>Hyalomma excavatum</i> mâle, face dorsale, collecté chez un bovin de race croisée infecté par <i>Theileria annulata</i>   | 146 |
| Figure 6.6  | <i>Hyalomma lusitanicum</i> mâle, face dorsale, collecté chez un bovin de race croisée co-infecté par <i>Theileria annulata</i> et <i>Anaplasma marginale</i>  | 147 |
| Figure 6.7  | Étalement de sang coloré au Giemsa montrant <i>Babesia bigemina</i> (objectif x 1000)  | 149 |
| Figure 6.8  | Photographie d'un gel d'agarose à 1% montrant le résultat d'amplification du gène <i>Tams1</i> de <i>Theileria annulata</i> de huit échantillons de bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose<br>M : marqueur de taille ; 1 à 8 : échantillons positifs, P : témoin positif ; N : témoin négatif | 149 |

|             |  |     |
|-------------|--|-----|
| Figure 6.9  | Photographie d'un gel d'agarose à 1,2% montrant le résultat d'amplification du gène <i>rap-1</i> de <i>Babesia bovis</i> de dix échantillons de bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose<br>M : marqueur de taille ; 1, 5 et 7 : échantillons négatifs ; 2, 3, 4, 6, 8 et 9 : échantillons positifs ; P : témoin positif ; N : témoin négatif     | 150 |
| Figure 6.10 | Photographie d'un gel d'agarose à 1,2% montrant le résultat d'amplification du gène <i>mSP4</i> de <i>Anaplasma marginale</i> de cinq échantillons de bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose<br>M : marqueur de taille ; 1,2 et 3 : échantillons négatifs ; 4 et 5 : échantillons positifs ; P : témoin positif ; N : témoin négatif            | 150 |
| Figure 6.11 | Photographie d'un gel d'agarose à 1,2% montrant le résultat d'amplification du gène <i>gp45</i> de <i>Babesia bigemina</i> de quatre échantillons de bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose<br>M : marqueur de taille ; 1 et 3 sont des échantillons positifs ; 2 et 4 sont des échantillons négatifs ; P : témoin positif ; N : témoin négatif | 151 |
| Figure 6.12 | Arbre phylogénétique des séquences partielles du gène <i>Tams1</i> de <i>Theileria annulata</i> (687 pb) généré en utilisant la méthode de Neighbor-Joining  | 153 |
| Figure 6.13 | Arbre phylogénétique des séquences partielles du gène <i>rap-1</i> de <i>Babesia bovis</i> (957 pb) généré en utilisant la méthode de Neighbor-Joining   | 154 |
| Figure 6.14 | Arbre phylogénétique des séquences partielles du gène <i>MSP4</i> de <i>Anaplasma marginale</i> (805 pb) généré en utilisant la méthode de Neighbor-Joining  | 155 |
| Figure 6.15 | Arbre phylogénétique des séquences partielles du gène <i>gp45</i> de <i>Babesia bigemina</i> (812 pb) généré en utilisant la méthode de Neighbor-Joining   | 156 |

## LISTE DES TABLEAUX

|             |  |     |
|-------------|--|-----|
| Tableau 1.1 | Position taxonomique de <i>Babesia</i> spp.  | 25  |
| Tableau 1.2 | Acaricides ayant une autorisation de mise sur le marché pour la lutte contre les tiques chez les ruminants domestiques en Algérie  | 40  |
| Tableau 2.1 | Position taxonomique de <i>Theileria</i> spp.  | 43  |
| Tableau 3.1 | Maladies des bovins les plus courantes, leurs étiologies selon les éleveurs de la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine  | 77  |
| Tableau 3.2 | Symptômes associés aux piroplasmoses et leurs fréquences selon les éleveurs de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine  | 84  |
| Tableau 4.1 | Caractéristiques des élevages et des bovins infectés par les hémopathogènes dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine  | 100 |
| Tableau 5.1 | Caractéristiques des élevages, des ovins infestés par les tiques et la relation entre les symptômes et l'infestation par les tiques dans la commune de Beni Hamidéne (Wilaya de Constantine, Nord-Est algérien)                  | 122 |
| Tableau 6.1 | Amorces oligonucléotidiques de <i>Theileria annulata</i> , <i>Anaplasma marginale</i> , <i>Babesia bigemina</i> et <i>Babesia bovis</i> utilisées dans la présente étude pour la PCR simple et la PCR nichée                     | 140 |
| Tableau 6.2 | Caractéristiques des bovins ayant une mono-infection ou une co-infection diagnostiquée par la technique de PCR, dans les deux communes de Beni Hamidéne et de Grarem Gouga, respectivement des Wilayas de Constantine et de Mila | 152 |

## INTRODUCTION

L'élevage des ruminants représente une importante activité économique en Algérie [1] ; [2]. Il constitue une source de revenus pour les éleveurs, participe à la sécurité alimentaire et couvre une partie des besoins de la population en protéines animales [3]. L'élevage ovin constitue le premier pourvoyeur de viande rouge du pays suivi de l'élevage bovin, caprin et camelin [2]. En Algérie, l'élevage de ruminants est majoritairement de type semi-intensif [4] exposant les ruminants aux tiques et par conséquent aux agents pathogènes qu'elles transmettent.

L'Algérie était surtout connue comme un pays d'élevage ovins et caprins, bien que des cheptels bovins aient toujours été recensés principalement en zones montagneuses et de piémonts notamment dans les zones tempérées. Durant la colonisation, l'introduction de nombres plus ou moins importants de bovins a provoqué le brassage des populations bovines (Brune de l'Atlas) avec les races introduites (pure exotique). Ce qui a abouti à trois catégories de races bovines : la Brune de l'Atlas, la race croisée et la pure exotique. L'élevage bovin est concentré au nord du pays principalement dans la région est. En revanche, l'élevage ovin se pratique dans les différentes zones climatiques de l'Algérie avec une forte concentration dans la steppe et les hautes plaines semi-arides céréalières. Il se compose uniquement de race locale rustique bien adaptées aux conditions climatiques.

Malheureusement, le développement de l'élevage est menacé par les tiques et les maladies qu'elles transmettent. La distribution des maladies transmises par les tiques est liée directement à leurs tiques vectrices. Les tiques sont des acariens hématophages très répandues dans le monde, en particulier dans les régions tropicales et subtropicales [5]. En Afrique, les tiques constituent une contrainte majeure au développement de l'élevage de ruminants [6]. Elles sont responsables d'effets directs sur les ruminants (spoliation sanguine, paralysie à tiques, toxicose, réactions allergiques, lésions cutanées, diminution de la production laitière...) et

indirects par la transmission d'agents pathogènes comme les virus (encéphalite à tique), les bactéries (*Anaplasma*) et les parasites (*Theileria*, *Babesia*...) [7] ; [8] ; [9] ; [10] ; [11] ; [12].

Parmi les principaux parasites transmis par les tiques chez les ruminants, nous citons les piroplasmoses (theilérioses et babésioses).

En Algérie, les piroplasmoses ont été identifiées pour la première fois par l'équipe de Sergent [13] qui avait travaillé à l'Institut Pasteur d'Alger.

Différents auteurs ont rapporté la présence de co-infection par *Babesia* et/ou *Theileria* avec *Anaplasma* chez les ruminants [14] ; [15] ; [16] ; [17], le même constat a été rapporté par plusieurs vétérinaires libres-praticiens du nord-est algérien. Cela, nous a incité à inclure l'anaplasmose dans la partie expérimentale de notre travail.

Il est important de caractériser l'épidémiologie des piroplasmoses afin d'élaborer une stratégie de lutte efficace contre les theilérioses et les babésioses. L'utilisation d'acaricides reste la méthode la plus répandue pour lutter contre les tiques. Cependant, dans la majeure partie des cas, cette utilisation n'est pas faite correctement, que ce soit la concentration de l'acaricide ou la périodicité de son application.

Dans la première partie, nous allons présenter une synthèse bibliographie sur les theilérioses et les babésioses des ruminants.

La partie expérimentale de la présente thèse a été divisée en quatre parties. La première partie concerne l'enquête participative et vise à connaître les connaissances, les attitudes et les perceptions des piroplasmoses par les éleveurs. La seconde partie expérimentale se rapporte à l'estimation de la prévalence des piroplasmoses et de l'anaplasmose chez les bovins et à la description des grandes caractéristiques cliniques de la theilériose tropicale bovine. La troisième partie est relative à l'infection des ovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmoses par les hémopathogènes (*Theileria*, *Babesia* et *Anaplasma*) et

l'infestation de ces ovins par les tiques durant la saison des tiques. Dans la quatrième partie de notre travail expérimental et dans le but d'étudier les co-infections des bovins par des hémopathogènes chez des animaux présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmoses, nous allons utiliser deux techniques de diagnostic : l'étalement de sang coloré au Giemsa et la réaction de polymérisation en chaîne (PCR). Des arbres phylogéniques ont été construits à partir des échantillons et enfin, nous avons étudié l'infestation de ces bovins par les tiques durant la saison des tiques.

# CHAPITRE 1

## BABÉSIOSSES DES RUMINANTS

### 1.1. Définition

Les babésioses sont des maladies vectorielles transmises par des tiques ixodidae à l'occasion du repas sanguin [18] ; [19] ; [20]. Elles sont dues à un protozoaire intra-érythrocytaire obligatoire du genre *Babesia* [21] ; [22] ; [23,24] ; [25] ; [26] ; [27] ; [28] ; [29]. Le parasite peut infecter un grand nombre de mammifères y compris l'Homme [30] ; [31] ; [32] ; [33] ; [34] ; [35].

Les babésioses sont également connues sous le nom de fièvre du Texas, eaux rouges [36] ; [37] ; [38], fièvre à tiques et en arabe vernaculaire algérien le *safayer lasfar*.

### 1.2. Historique

À la fin du XIX siècle en Roumanie, des micro-organismes intra-érythrocytaires ont été découverts chez des bovins présentant une hémoglobinurie, provoquant une maladie qui se déclarait chaque été dans certaines régions du pays. BABES en 1888 décrivit alors pour la première fois la babésiose, croyant qu'il s'agissait d'une bactérie [39]. Quelques années plus tard BABES observa des formes similaires sur des étalements de sang d'ovins [40].

En 1867, la théorie des tiques fut émise pour expliquer la transmission de la babésiose, suite à l'observation d'une association entre l'infestation des bovins par les tiques et l'apparition de la maladie (Lefevre et al., 2003).

En 1902, en Roumanie, MOTAS mis en évidence pour la première fois une *Babesia* chez les petits ruminants qui fut nommée ensuite *B. motasi*.

M'FADYEAN et STOCKMAN décrivent une nouvelle espèce de *Babesia* chez les bovins et la nommèrent *Babesia divergens* [41]. Cette espèce a été identifiée pour la première fois en Tunisie en 1995 [42].

### 1.3. Importance des babésioses

Les babésioses des ruminants sont responsables d'importantes pertes économiques. Il s'agit d'une diminution de la production de lait et de viande, des avortements [21] ; [43] ; [33] ; [36] ; [20] ; [44] ; [45] ; [46], certaines espèces peuvent être mortelles en absence de traitement précoce, il s'agit de *Babesia ovis*, *Babesia motasi* et de *Babesia bovis* [47] ; [48] ; [49]. Cette gravité est accentuée lors de co-infections (babésiose-theilériose). À cela s'ajoute les frais vétérinaires et les mesures de lutte anti-vectorielle [21] ; [33] ; [50].

### 1.4. Taxonomie

Les *Babesia* admettent la position taxonomique consignée dans le Tableau 1.1.

**Tableau 1.1** : Position taxonomique de *Babesia* spp. [51].

|                |                     |
|----------------|---------------------|
| <b>Phylum</b>  | <i>Apicomplexa</i>  |
| <b>Classe</b>  | <i>Aconoidasida</i> |
| <b>Ordre</b>   | <i>Piroplasmida</i> |
| <b>Famille</b> | <i>Babesiidae</i>   |
| <b>Genre</b>   | <i>Babesia</i>      |

Au moins 20 espèces du genre *Babesia* ont été recensées chez les animaux domestiques [36]. Parmi lesquelles , neuf infectent les bovins : *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Babesia major*, *Babesia divergens*, *Babesia ovata* au japon [52], *Babesia occultans*, *Babesia jakimovi*, *Babesia* sp. Mymensingh en Mongolie et *Babesia orientalis* [53] ; [54] ; [55] .

*Babesia ovis* est l'espèce la plus pathogène pour les ovins suivie de *Babesia motasi* qui a une virulence modérée et enfin, *Babesia crassa* qui a un faible pouvoir pathogène [56] ; [57].

### 1.5. Répartition géographique

Les babésioses sont des maladies cosmopolites avec des prévalences plus élevées en zones tropicales et subtropicales [58] ; [25] ; [59] ; [60] ; [61] ; [62] ; [63] ; [64]. Les babésioses ont une allure saisonnière, qui dépend de la dynamique d'activité des tiques [65] ; [25]. Par exemple, les cas cliniques de babésiose à *B. divergens* surviennent en Europe au printemps, en été et en automne [66]. Par contre, l'infection des bovins par *B. bovis* ou *B. bigemina* survient principalement en été et en automne [67] ; [68] ; [69]. Chez les ovins, les cas cliniques dus à *B. ovis* apparaissent en été [70].

*Babesia bovis* est l'espèce la plus virulente chez les bovins [71] ; [29] ; [72], elle est répondue dans les régions tropicales et subtropicales de la Terre [73] ; [74] ; [71] ; [20]. En Afrique *B. bovis* a été rapportée par plusieurs auteurs : en Algérie [75] ; [76] ; [77] ; [78] ; [17], en Tunisie [79], au Maroc [80] ; [81], en Égypte [82] ; [64], en Éthiopie [83], [84], et en Côte d'Ivoire [85].

En Algérie, *B. bigemina* a été mise en évidence au Nord-Centre [86] ; [17] et au nord-est (Oum El Bouaghi et Skikda) [77].

En Europe, *Babesia divergens* est responsable de la plupart des cas de la babésiose bovine [87] ; [88] ; [89]. *Babesia divergens* est transmise par *Ixodes ricinus* [31] ; [90] ; [91] ; [71]. *Babesia major* est moins fréquente et moins pathogène que *B. divergens*, cette dernière infecte les bovins en Europe [31] ; [92].

*Babesia ovis* est largement répondue en Afrique du nord [93] ; [94] ; [95], en Asie central, au Moyen-Orient, en Europe [96] ; [94] ; [46] et en Russie. Elle est transmise le plus souvent par *Rhipicephalus bursa* [40] ; [97].

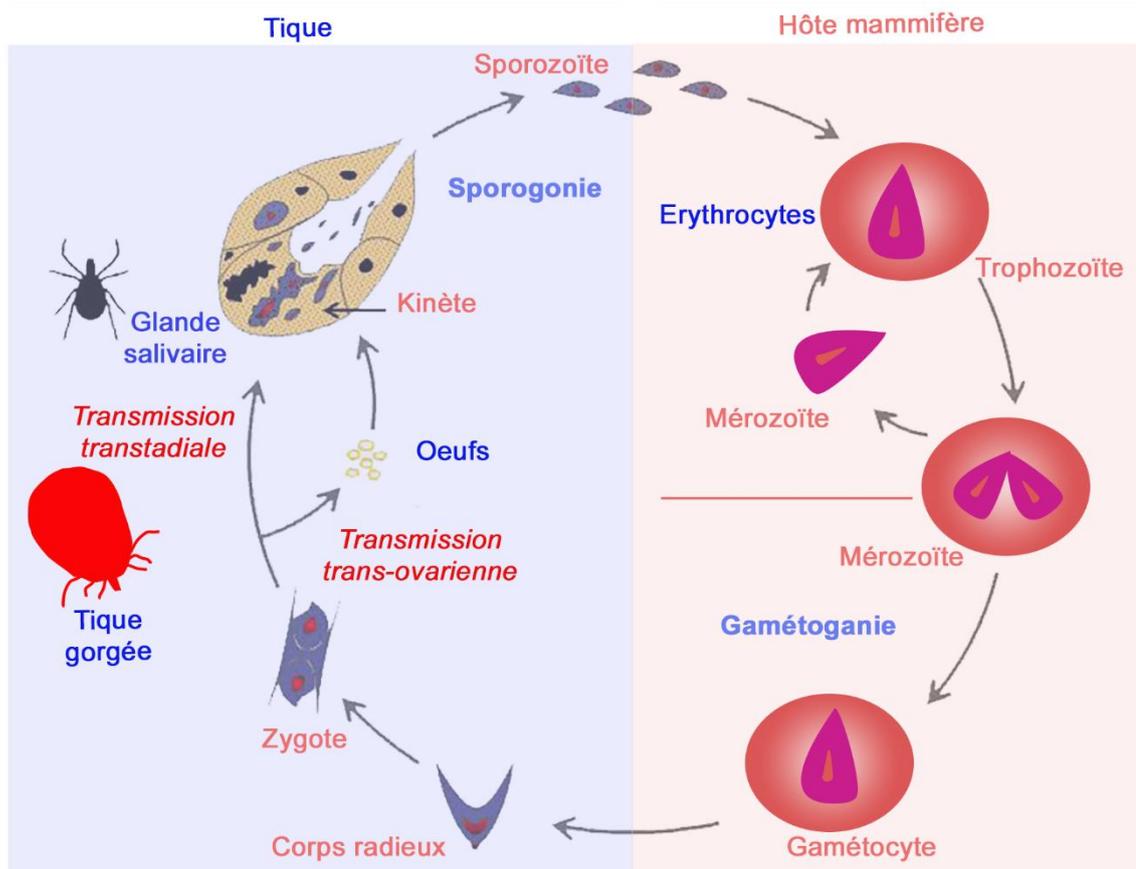
*Babesia motasi* et *Babesia crassa* sont répondues dans les régions tropicales et subtropicales [98].

## 1.6. Cycle biologique

*Babesia* spp. sont des organismes unicellulaires ayant une localisation exclusivement intra-érythrocytaires [21]. Elles possèdent un cycle dixène, et se transmettent après une évolution chez la tique vectrice appartenant à plusieurs genres : *Rhipicephalus* (*Boophilus*) spp., *Ixodes*, *Hyalomma*, *Haemaphysalis* ...[99] ; [100].

Le cycle biologique de *Babesia* spp. comprend trois reproductions : la mérogonie, la gamétogonie et la sporogonie [73]. *Babesia* spp. est transmise chez les tiques à la fois par la voie trans-ovarienne et transtadiale.

Le cycle évolutif de *Babesia* spp. est représenté sur la Figure 1.1.



**Figure 1.1** : Cycle évolutif de *Babesia* spp. [36].

### 1.7. Facteurs de réceptivité

Plusieurs facteurs de différentes natures influencent la réceptivité des ruminants à l'infection par *Babesia* : (1) l'âge de l'hôte [101] ; [102] ; [65] ; [103] ; [104] ; [105] ; (2) la race [101] ; [106] ; [21] ; (3) le statut immunitaire [107] ; [108] ; (4) le stress incluant la mise-bas, les co-infections par d'autres agents pathogènes ; (5) l'environnement et le climat [109] ; [65] ; [110].

### 1.8. Épidémiologie synthétique

La situation épidémiologique de la babésiose dépend de quatre facteurs : l'hôte (ruminants), le parasite (*Babesia*), le vecteur (Ixodidae) et l'environnement. L'équilibre entre ces quatre éléments définit la situation épidémiologique de l'élevage.

#### 1.8.1. Situation d'endémie stable

Elle se produit lorsque le nombre de tiques est élevé ce qui permet l'inoculation de *Babesia* très tôt dans la vie à un nombre élevé de jeunes ruminants [111] ; [60], sachant que les jeunes ruminants sont immunisés par les anticorps maternels et ont une faible réceptivité aux tiques [112] ; [113] ; [114] ; [60]. Ainsi, les animaux sont infectés de manière séquentielle par un nombre réduit de tiques alors que les animaux sont protégés par les anticorps maternels. Ainsi, le risque d'apparition de la babésiose clinique est faible [115] ; [105] ; [20]. Selon NORVAL et al. [116], l'endémie stable se produit lorsque 81 à 100 des animaux dans un troupeau sont infectés par *Babesia*.

#### 1.8.2. Situation d'endémie instable

Lorsque le nombre de tiques est faible, la probabilité d'infection des ruminants avant l'âge de neuf mois est faible. À l'âge adulte, les ruminants ne sont pas immunisés contre *Babesia*, ce qui entraîne l'apparition de cas cliniques [115] ; [117]. L'apparition de cas cliniques de babésiose chez les jeunes bovins indigènes nés dans une zone endémique prouve que c'est une région d'endémie instable [118].

### 1.8.3. Situation d'endémie critique

Cette situation est observée lorsque le nombre de tiques est très rare suite à des traitements acaricides et/ou à des conditions climatiques défavorables. Les cas cliniques sont rares dans ce cas les ruminants sont très sensibles à *Babesia*.

## 1.9. Immunité

La réponse immunitaire des ruminants contre l'infection par *Babesia* spp. implique une réponse immunitaire innée et acquise [21] ; [119] ; [120] ; [121].

L'immunité développée contre *Babesia* est spécifique, ainsi l'infection par *B. ovis* ne semble pas protéger contre *B. motasi*, cependant l'immunité acquise suite à l'infection par *B. bigemina* protège contre *B. bovis* mais le contraire n'est pas vrai [122] ; [21]. L'immunofluorescence indirecte (IFI) est plus sensible pour la détection des anticorps contre *B. bovis*, permet de détecter des anticorps à partir de trois mois d'âge [111].

Lors de l'infection par *Babesia*, deux types de réaction immunitaires vont intervenir (humorale et cellulaire) [87].

### 1.9.1. Réaction immunitaire à médiation humorale

Les anticorps maternels colostraux protègent les jeunes ruminants nés de mères immunisées pendant les trois premiers mois de vie.

Lors d'infection par *B. bovis*, la réponse immunitaire implique la présentation d'antigènes parasitaires aux lymphocytes T CD + par des cellules présentatrices de l'antigène. La sécrétion de cytokines par les lymphocytes T CD4+ est également très élevée pour la commutation de classe en isotype IgG 2, qui est le meilleur isotype d'anticorps opsonisant chez les bovins. Ces Ac ciblent les parasites extracellulaires et les antigènes parasitaires présents à la surface des érythrocytes [120].

### 1.9.2. Réaction immunitaire à médiation cellulaire

Les phagocytes, en particulier les macrophages spléniques sont les cellules les plus impliquées dans l'immunité à médiation cellulaire. Ils ont comme rôle la phagocytose du complexe Anticorps-érythrocyte infecté. L'érythrophagocytose permet de réduire la parasitémie.

### 1.10. Diagnostic

Le diagnostic de la babésiose est d'abord épidémioclinique, il permet d'orienter et de poser un diagnostic clinique [100]. Cependant, plusieurs maladies peuvent avoir les mêmes symptômes, de ce fait il est important de poser un diagnostic différentiel, enfin seul le diagnostic de laboratoire permet d'affirmer ou d'infirmer le diagnostic.

#### 1.10.1. Diagnostic épidémioclinique

Les babésioses chez les ruminants s'expriment sous plusieurs formes : aiguë, suraiguë et subaiguë. La sévérité des symptômes dépend à la fois de la virulence de la souche de *Babesia*, du statut physiologique et immunitaire de l'hôte et la co-infection avec d'autres agents pathogènes.

Chez les bovins, les babésioses bovines due à *Babesia* spp. se manifestent généralement par une fièvre qui atteint 41°C, une prostration, une anorexie, une déshydratation, une hémoglobinurie, une anémie, un ictère, une tachycardie, une dyspnée, des poils ternes, un nystagmus, un larmolement, une chute brutale de la production laitière, l'amaigrissement. Le tableau clinique peut s'aggraver et l'animal meurt [21] ; [25] ; [123] ; [35] ; [124] ; [125] ; [20] ; [45]. *Babesia* spp. provoque des infections graves chez les bovins naïfs et les bovins de race exotiques [126] ; [127]. Cependant, l'infection des jeunes ruminant de moins de neuf mois est souvent asymptomatique [49].

*Babesia bovis* : Généralement, *B. bovis* est l'espèce la plus pathogène des *Babesia* des bovins [101] ; [119] ; [27]. L'infection se manifeste par une fièvre, une

anorexie, des symptômes nerveux et des troubles respiratoires dus à la séquestration des parasites dans les érythrocytes des capillaires cérébraux [128] ; [35] ; [73] ; [49]. *Babesia bovis* peut être la cause d'avortements, de mortinatalités et de néomortalités chez les bovins dans les régions où la babésiose bovine due à *B. bovis* survient [129]. *Babesia bovis* est plus pathogène que *B. bigemina* [130] ; [71] ; [131].

*Babesia divergens* : L'infection par ce parasite se caractérise le plus souvent par une forme aiguë, elle évolue après une période d'incubation de cinq à huit jours. La diarrhée en jet avec anus présentant un spasme dit « en trou de serrure » est un symptôme pathognomonique de la babésiose à *B. divergens*. L'hémoglobinurie et la bilirubinurie donnent des urines de couleur foncée et mousseuses (couleur « marc de café ») [31].

Il existe également une forme suraiguë qui évolue le plus souvent vers la mort de l'animal en 24 à 48 heures. La forme subaiguë se caractérise par une chute de la production laitière et une anorexie, une parasitémie basse, dans ce cas, la guérison est rapide.

Chez les ovins, les babésioses évoluent après une période d'incubation de 6 à 10 jours. Elles se caractérisent par un état fébrile, une anorexie, une anémie, un ictère, une apathie, une dyspnée, une toux et une hémoglobinurie [132] ; [133] ; [134] ; [98] ; [135] ; [136], des troubles digestifs le plus souvent des diarrhées. *Babesia ovis* est très pathogène et cause une infection sévère [57] ; [98].

Lors d'infections chroniques, les ruminants ne présentent généralement pas de symptômes.

#### 1.10.2. Diagnostic expérimental

Différentes techniques sont utilisées pour établir un diagnostic expérimental des piroplasmoses.

### 1.10.2.1. Diagnostic direct

Permet l'identification de l'agent pathogène ou une partie de celui-ci [137].

#### Étalement de sang coloré au Giemsa

Cette technique rapide et peu coûteuse [128] ; [79] ; [33] permet la mise en évidence des piroplasmes par l'observation directe des étalements de sang colorés au Giemsa au microscope optique [101] ; [128] ; [138] ; [139] ; [98]. C'est la technique la plus utilisée lors de suspicion des piroplasmoses [128] ; [79] ; [35]. Elle permet aussi la mise en évidence d'autres hémopathogènes (*Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Mycoplasma...*), d'estimer la parasitémie et de détecter une co-infection.

**Spécificité** : elle est parfois faible spécificité car plusieurs parasites se rassemblent sur le plan morphologique. De plus, il y a un risque de confusion avec des artefacts [128] ; [140] ; [141] ; [142].

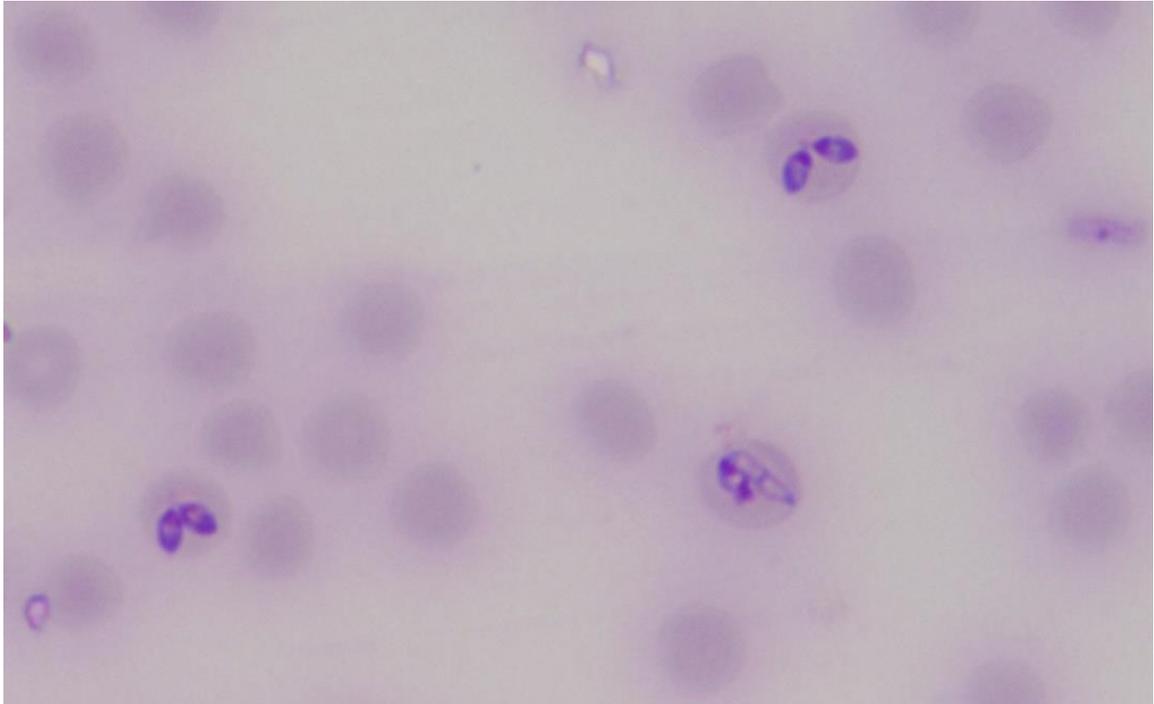
**Sensibilité** : elle est faible au début de l'infection et durant la phase chronique [128] ; [79] ; [33] ; [103] ; [141] ; [143] ; [144].

#### Morphologie des *Babesia*

*Babesia* peut être observé par examen direct d'un étalement de sang coloré au Giemsa [35]. Les *Babesia* sont des microorganismes intra-érythrocytaire possédant un cytoplasme bleu violacé se présentent souvent par paires, ce sont des parasites non pigmentaires (digèrent bien l'hémoglobine). En fonction de la taille des babésies au microscope optique, les *Babesia* peuvent être classées en deux groupes : grandes et petites [145].

***Babesia ovis*** : C'est un parasite de petite taille [135], de forme annulaire mesurant 1 à 2.5 µm, *Babesia ovis* occupe une position le plus souvent excentrique voir périphérique dans les hématies, généralement Les éléments piriformes sont rares [145].

***Babesia motasi*** : c'est un parasite de grande taille [145] ; [135], généralement en forme de poire, possède une affinité pour les hématies mûres. THOMSON et al. [146] a mesurait la taille de *B. motasi* 2,5  $\mu$  à 3,5  $\mu$  en longueur et 1,2 à 1,5  $\mu$  en largeur (Figure 1.2).

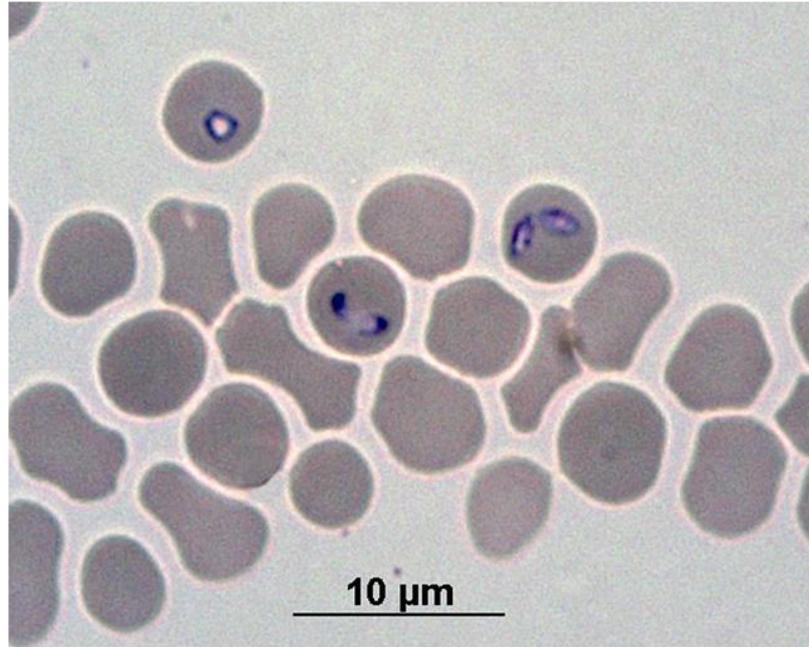


**Figure 1.2** : Érythrocytes d'un bovin infectés par *Babesia motasi* (coloration Giemsa, grossissement x 1000) [147].

***Babesia crassa*** se caractérise par la présence de 4 éléments piriformes qui résultent de deux divisions successives [56].

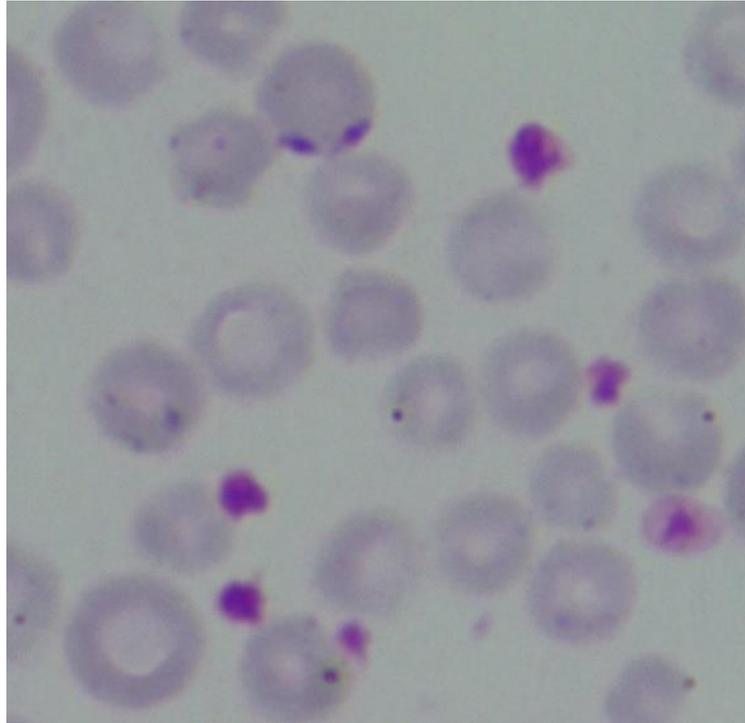
***Babesia bovis*** est une petite *Babesia* de 2  $\mu$ m de diamètre [21]. Localisée généralement au centre de l'érythrocyte. Ce parasite est peu fréquent dans le sang périphérique, très fréquent dans les capillaires auriculaires ou de la queue [128] ; [35] ; [49]. La forme annulaire est la forme la plus fréquente de *B. bovis*.

La figure 1.3 montre l'observation de *Babesia bovis* après étalement sanguin.



**Figure 1.3** : Étalement de sang coloré au Giemsa montrant *Babesia bovis* (objectif x 1000) [147].

***Babesia divergens*** a un diamètre inférieur au rayon de l'hématie, ce parasite est polymorphe : bourgeonnante, arrondie, piriforme, en poire et annulaire, il mesure 1,5  $\mu\text{m}$  sur 0,4  $\mu\text{m}$  [113]; [145], *Babesia divergens* occupe une position périphérique à l'intérieur de l'hématie. On observe généralement des petits éléments bleu foncé à la périphérie de l'érythrocyte. Lors de la phase aiguë, la maladie progresse rapidement avec une forte parasitémie et les parasites sont facilement détectables sur un frottis sanguin [31] (Figure 1.4).



**Figure 1.4 :** Étalement de sang coloré au Giemsa montrant *Babesia divergens* (objectif x 1000) [147].

***Babesia bigemina*** est un parasite de grande taille et peut s'étendre sur tout le diamètre de l'hématie [148]. Il apparaît comme un mérozoïte rond relativement grand, en forme de poire à angle obtus [65]. Les érythrocytes infectés par *B. bigemina* sont uniformément répartis dans la circulation sanguine [21].

***Babesia major*** est une espèce de grande taille (2,6  $\mu\text{m}$  sur 1,5  $\mu\text{m}$ ), les parasites s'associent sous formes de paires au centre de l'hématie [113].

#### Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

C'est une technique de biologie moléculaire d'amplification génique. C'est l'outil le plus sensible pour la détection des piroplasmes de manière reproductible [35], elle est basée sur l'identification de séquence spécifique d'ADN du génome ciblé [60], à l'heure actuelle différents types de PCR sont utilisées, la PCR conventionnelle, la PCR nichée ou "*nested PCR*", la PCR en temps réel, la PCR multiplex, la PCR-RFLP... Toutes ces PCR sont caractérisées par une sensibilité et une spécificité très élevées [149] ; [141] ; [137] ; [98] ; [150] ; [35] ; [151]. Par contre

elles sont coûteuses et nécessitent car plusieurs techniques du personnel expérimenté et qualifié [152] ; [35]. Son intérêt principal est la détection des faibles parasitémies non détectables par les étalements de sang [113] ; [153]. La PCR ne permet pas de faire la différence entre les porteurs latents et les animaux malades.

#### 1.10.2.2. Diagnostic indirect

Le diagnostic indirect permet de mettre en évidence les 'anticorps anti-*Babesia* [144].

##### Immunofluorescence indirecte (IFI)

Cette technique est adaptée aux infections chroniques [154]. C'est une méthode peu coûteuse, elle est basée sur la visualisation d'un complexe (anticorps-antigène) par l'observation d'une fluorescence spécifique jaune-verdâtre [62]. Cependant, les réactions croisées diminuent son utilisation [155] et l'interprétation est parfois difficile [156]. De plus, elle nécessite l'utilisation d'un microscope à fluorescence [33].

##### Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Le test ELISA permet de détecter et/ou de doser les anticorps spécifiques anti-*Babesia* [35]. C'est une technique très spécifique, elle est caractérisée par une sensibilité acceptable [157]. Elle est plus adaptée aux enquêtes épidémiologiques à large échelle, elle permet aussi la détection des anticorps chez les porteurs latents lors d'infections chroniques [144]. Plusieurs échantillons peuvent être testés rapidement [158]. Par contre, la présence d'anticorps ne permet pas de confirmer la maladie [128] ; [159].

L'ELISA est privilégiée en raison de sa facilité, l'objectivité de l'interprétation et la capacité de traiter un grand nombre échantillons puisque c'est plusieurs donc s dans un temps plus court [33] ; [35].

Les tests sérologiques sont un outil indispensable pour évaluer le statut immunitaire des animaux vis-à-vis de *Babesia* [111].

#### 1.10.2.3. Examen hématologique et biochimique

L'infection par *Babesia* s'accompagne de perturbations hématologiques et biochimiques qui se manifestent par une diminution de l'hématocrite et de l'hémoglobine ainsi qu'une augmentation de l'ASAT et de l'ALAT [160].

En Égypte, MAHMOUD et al. [142] ont rapporté une augmentation des valeurs de VGM chez les bovins infectés par *B. bovis* ou *B. bigemina* associée à une diminution du nombre de plaquettes chez les bovins infectés par *Babesia*.

#### 1.10.2.4. Diagnostic différentiel

Souvent, le tableau clinique n'est pas pathognomonique, le diagnostic différentiel doit se faire avec plusieurs pathologies en particulier les entités estivales (theilériose, anaplasmoses), éperythrozoonose (mycoplasmoses), des affections provoquant l'ictère (leptospirose) et les maladies qui causent une diarrhée (salmonellose).

#### 1.10.2.5. Diagnostic nécropsique

Les lésions induites par *Babesia* spp. sont généralement similaires et peu spécifiques. L'autopsie réalisée sur un ruminant mort suite à une babésiose révèle la présence de deux types de lésions : des lésions macroscopiques et des lésions microscopiques [161] ; [129].

Plusieurs organes sont touchés, on observe souvent une hépatomégalie, une splénomégalie, un ulcère de la caillette, un hydrothorax ou un hémithorax. Le cadavre est pale ou jaunâtre, il y a une congestion de la substance grise de l'encéphale et parfois un œdème pulmonaire [21] ; [125]. Le cœur présente des hémorragies épocardiques, endocardiques et myocardiques [118].

### 1.11. Traitement

Il requiert le recours à un traitement spécifique permettant de détruire les *Babesia* et un traitement symptomatique [21].

Le traitement spécifique consiste en l'injection par la voie intramusculaire d'une molécule spécifique l'Imidocarbe ou le diminazène [21] ; [33] ; [148] ; [20].

L'imidocarbe (Imidocarb-LH<sup>®</sup>, Vetopharm, Algérie) est indiqué dans le traitement et la prévention de la babésiose, chez les bovins, il est injecté à la posologie de 3 mg/kg. Le diminazène (FA.TRY.BANIL<sup>®</sup>, Fatro, Italie) est actif contre les *Babesia* et *Theileria*. Il doit être injecté à la posologie de 3.5 mg/kg chez les ovins et 3.3 mg/15 kg de poids vif chez les bovins.

Cependant ces deux molécules présentent l'inconvénient d'avoir de longs délais d'attente. Ces délais sont pour le FA.TRY.BANIL<sup>®</sup> de 20 jours pour la viande et de 3 jours pour le lait. Par contre, lors d'administration de Imidocarb-LH<sup>®</sup>, ils sont de 90 jours pour la viande et de 7 jours pour le lait.

TUVSHINTULGA et al. [162] ont rapporté des cas de résistances instables de *B. bovis* à l'acéturate de diminazène.

Souvent le traitement symptomatique est indispensable et fait appel à des antianémiques, des hépato protecteurs, des antipyrétiques.

En absence de traitement précoce, des complications hépatiques, rénales et une anémie sévère, parfois une hypothermie peuvent apparaître et le pronostic vital est alors engagé.

Chez les bovins, l'oxytétracycline était utilisée pour lutter contre la babésiose surtout avant l'arrivée de l'Imidocarbe [30]. Cependant, BOCK et al.[21] ont reporté que sur le terrain, l'oxytétracycline ne permet généralement pas de contrôler les infections provoquées par des souches virulentes.

Chez les petits ruminants, la combinaison de l'Imidocarbe et de l'oxytétracycline offre le meilleur traitement contre la babésiose [134].

## 1.12. Prophylaxie

### 1.12.1. Lutte contre les tiques

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour lutter contre les tiques.

#### 1.12.1.1 Détiquage manuel

En Algérie, Selon ZIAM et al. [76] les petits éleveurs de bovins pratiquent souvent le détiquage, ils enlèvent manuellement les tiques. Selon des éleveurs en Uganda, c'est pratique gratuite, très courante peut être pratiquée à n'importe quel moment de la journée et ne nécessite aucune compétence ou information [163]. Cependant le détiquage manuel ne permet pas de lutter efficacement contre les tiques en raison de la localisation des tiques dans des régions anatomiques difficiles à inspecter.

#### 1.12.1.2. Utilisation des acaricides

L'utilisation d'acaricides est la méthode de lutte chimique contre les tiques la plus utilisée dans les zones tropicales et subtropicales [101] ; [164]. Ce qui a mené provoqué le développement de populations de tiques résistantes à ces molécules [165] ; [126] ; [166] ; [60] ; [167]. Il y a également un risque d'intoxication humaine ou animale ainsi que la contamination des produits alimentaires d'origines animales par pollution de l'environnement [101] ; [168] ; [169] ; [20]. Les acaricides peuvent être administrés à titre préventif ou curatif.

Le tableau suivant présente plusieurs acaricides utilisés chez les ruminants et qui sont disponibles sur le marché algérien.

**Tableau 1.2 :** Acaricides ayant une autorisation de mise sur le marché pour la lutte contre les tiques chez les ruminants domestiques en Algérie.

| <b>Famille</b>                    | <b>Noms communs</b>  | <b>Nom déposés</b>                        | <b>Espèces cibles</b>        | <b>Voie d'administration</b>  |
|-----------------------------------|----------------------|---|------------------------------|---|
| <b>Pyréthrinoïdes de synthèse</b> | <b>Fluméthrine</b>   | Bayticol® 1 %                             | Bovins                       | Pour-on   |
|                                   | <b>Deltaméthrine</b> | Deltanil®<br>Butox50®                     | Bovins,<br>ovins             | Pour-on<br>Voie externe ou cutanée  |
|                                   | <b>Cyperméthrine</b> | Ectosules 15%®<br><i>Hexipra-Metrin</i> ® | Bovins,<br>ovins,<br>caprins | Bain d'immersion  |
| <b>Organophosphorés</b>           | <b>Phoxim</b>        | Sebacil®<br>50%<br>Kebatil 50 EC®         | Bovin,<br>ovins,<br>caprins  | Usage externe,<br>en balnéation,<br>pulvérisation,<br>friction à l'éponge |

#### 1.12.1.1.3. Vaccination

##### Vaccination anti-tiques

La vaccination contre les tiques offre une alternative pour lutter contre les maladies transmissibles par les tiques [170]. Cependant, ce genre de vaccination est onéreux et nécessite de nombreux vaccins anti-pathogènes [171].

Récemment, plusieurs groupes de chercheurs ont travaillé sur la combinaison de plusieurs antigènes afin d'améliorer la protection et l'efficacité du vaccin contre les tiques [169].

##### Vaccination contre la babésiose

Il est recommandé de vacciner les veaux âgés de neuf mois ou moins, cette tranche d'âge est la plus résistante à la babésiose et manifeste rarement les symptômes cliniques, la vaccination garantit l'immunité des veaux qui ont échappé à l'infection naturelle [172].

Il existe deux types de vaccins : les vaccins vivants et les vaccins inactifs [173].

### Vaccins vivants

Les vaccins vivants atténués sont utilisés dans de nombreux pays pour la lutte contre la babésiose bovine [172] ; [174] ; [175]. Les souches vaccinales de *B. bovis* ou *B. ovis* sont produites par passages rapides chez les veaux ou agneaux splénectomisés. Cependant ce genre de vaccins peuvent être à l'origine d'une réaction ou contamination des ruminants et nécessite le maintien de la chaîne de froid lors de la conservation.

RAUF et al. [175] ont développé un vaccin vivant atténué dérivé de la culture cellulaire contre *B. bigemina* et testé en une seule inoculation sous-cutanée de  $2 \times 10^8$  érythrocytes infectés chez les veaux. La protection a été évaluée après une inoculation intraveineuse létale de  $5 \times 10^8$  de *B. bigemina* virulentes produites sur veaux. La protection est conférée par le biais d'une réponse immunitaire à médiation humorale et à médiation cellulaire avec une induction significativement plus élevée de lymphocytes T CD4+ et CD8+.

### Équilibre entre le parasite (*Babesia*) et son hôte

Dans les régions d'enzootie stable, on maintient un contact permanent entre le ruminant et les tiques ce qui permet de maintenir l'immunité contre *Babesia*.

## CHAPITRE 2

# THEILÉRIOSES DES RUMINANTS

### 2.1. Définition

Les theilérioses sont des infections transmises par plusieurs espèces appartenant à plusieurs genres d'ixodidés : *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Haemaphysalis* et *Amblyomma* [176] ; [155] ; [177] ; [178] ; [179] ; [180] ; [181]. Ce sont des parasitoses infectieuses, inoculables et non contagieuses [182], elles sont dues à la présence et la multiplication dans les leucocytes mononucléés puis dans les érythrocytes d'un protozoaire intracellulaire obligatoire du genre *Theileria* [183] ; [184] ; [185] ; [186] ; [187] ; [188] ; [179] ; [189] ; [190]. Les *Theileria* peuvent infecter un grand nombre de vertébrés y compris les ruminants domestiques et sauvages [191] ; [192] ; [186] ; [193].

### 2.2. Historique

En 1898, KOH fut le premier à décrire les formes érythrocytaires de *Theileria parva* chez les bovins en Afrique du sud [194].

Entre 1915 et 1945, des études importantes sur l'aspect épidémiologique et pathologique de la theilériose tropicale bovine furent menées par l'équipe de SERGENT à l'Institut Pasteur d'Alger, ils ont mis en évidence la transmission de *T. annulata* par *H. scupense* (syn *H. detritum*) [195]. Ils avaient également démontré la présence d'une reproduction sexuée de *T. annulata* chez la tique.

*Theileria orientalis* a été signalé pour la première fois en Australie [196]. VAN SACEGHEM fut est le premier chercheur à évoquer la coexistence *T. parva* et *T. mutans* au Congo [194].

*Theileria lestoquardi* a été signalé pour la première fois au Soudan et en Égypte [197] ; [198].

*Theileria ovis* fut découverte par RODHAIN et ces collaborateurs en 1916, dans l'ex-Congo Belge.

*Theileria separata* fut découverte chez les moutons pour la première fois en Tanzanie par UILENBERG et ANDREASEN [199].

### 2.3. Importance des theilérioses

Chez les ruminants, les theilérioses entraînent des pertes économiques considérables liées à la diminution des productions (laitière et viande) [200] ; [201] ; [202] ; [203] ; [204] ; [77] ; [205] ; [206] ; [207] , un amaigrissement, un retard de croissance, des avortements [208] ; [202], des frais associés à la lutte antivectorielle et au traitement de la theilériose, des saisies à l'abattoir des carcasses ictériques et parfois la mort du ruminant lors de la phase aiguë de la maladie. Ces pertes sont surtout élevées chez les ovins infectés par *T. lestoquardi* et les bovins infectés par *T. annulata* ou *T. parva* [209] ; [202] ; [210] ; [211] ; [212] ; [213] ; [214] ; [215]. En Afrique du Nord, les theilérioses des ruminants, notamment la theilériose tropicale, constituent un frein au développement du secteur de l'élevage [216] ; [159].

### 2.4. Taxonomie

Les theilérioses admettent la position taxonomique suivante :

**Tableau 2.1** : Position taxonomique de *Theileria* spp. [217].

|                |                     |
|----------------|---------------------|
| <b>Phylum</b>  | <i>Apicomplexa</i>  |
| <b>Classe</b>  | <i>Aconoidasida</i> |
| <b>Ordre</b>   | <i>Piroplasmida</i> |
| <b>Famille</b> | <i>Theileriidae</i> |
| <b>Genre</b>   | <i>Theileria</i>    |

Chez les bovins, au moins sept espèces de *Theileria* ont été recensées chez les bovins : *Theileria annulata* et *Theileria parva* sont très pathogènes et conduisent à des formes graves [218] ; [63] ; [207], le groupe *Theileria orientalis* (également

connu sous le nom de *Theileria sergenti* et *Theileria buffeli*) [219] ; [220], *Theileria mutans*, *Theileria sinensis*, *Theileria taurotragi* et *Theileria velifera* sont peu ou pas pathogènes [176] ; [221]; [155].

La theilériose bovine a *Theileria annulata* est connue sous plusieurs appellations : fièvre méditerranéenne ou theilériose méditerranéenne [202] ; [222], theilériose bovine d'Afrique du Nord, theilériose bovine maligne, la dénomination la plus courante est theilériose tropicale bovine, et "*tropical theileriosis*" en anglais. La theilériose tropicale bovine est connue en langage vernaculaire algérien "*Safayer lakha*".

Plusieurs espèces de *Theileria* affectent les petits ruminants, *Theileria lestoquardi* (syn. *Theileria hirci*), *Theileria luwenshuni*, *Theileria uilenbergi* sont les plus pathogènes pour les petits ruminants [223] ; [63] ; [224], *Theileria* sp.1 (China) et *Theileria* sp.2 (China) signalées au nord de la Chine sont des espèces pathogènes pour les ovins et les caprins. Par contre, *Theileria ovis*, *Theileria separata* et *Theileria recondita* sont peu ou pas pathogènes [225] ; [213]. Plusieurs auteurs ont rapporté l'infection naturelle des ovins par *Theileria annulata* [226] ; [227] ; [228].

En Italie, le complexe ***Theileria sergenti* / *orientalis* / *buffeli*** a été mis en évidence dans des produits d'avortements de brebis et de chèvres [229].

La theilériose ovine maligne due à *Theileria lestoquardi* est l'espèce la plus pathogène pour les petits ruminants [230] ; [231] ; [225] ; [232] ; [233] ; [234] ; [177] ; [213] ; [107] ; [235].

## 2.5. Répartition géographique

La distribution géographique des espèces de *Theileria* est limitée aux régions tropicales et subtropicales, en relation directe avec la présence de tiques vectrices [236] ; [237] ; [227] ; [238] ; [218] ; [234] ; [213] ; [239] ; [180] ; [240] ; [241]. À l'exception du complexe *T. sergenti*/*T. buffeli*/*T. orientalis* qui a une distribution mondiale [186] ; [220].

### 2.5.1. Theilérioses bovines

La theilériose tropicale bovine causée par *Theileria annulata*, est transmise par des tiques du genre *Hyalomma*, touche trois continents l'Afrique, l'Europe et l'Asie [176] ; [242] ; [185] ; [243] ; [244] ; [245] ; [15] ; [246] ; [181] ; [247] ; [240] ; [248].

En Afrique, la theilériose tropicale bovine est fréquente en Mauritanie [249], au Soudan [250] ; [150] ; [251] et en Afrique du nord [186] ; [252] ; [253] ; [254] ; [181] ; [255] ; [256]. En Algérie, la theilériose tropicale bovine est enzootique dans plusieurs régions du nord du pays, elle se superpose avec l'aire de distribution géographique de *H. scupense* comme vecteur principal et *H. lusitanicum* probablement comme vecteur secondaire, la maladie est endémique dans les régions à climat humide, subhumide et semi-aride. *Theileria annulata* a été apportée par plusieurs auteurs [75] ; [257] ; [78,258,259] ; [76] ; [260] ; [77] ; [17]. En Tunisie, la maladie se manifeste durant la période chaude dans les zones humides, subhumides et semi-arides [261] ; [262] ; [185]. Au Maroc, la theilériose tropicale bovine est endémique dans plusieurs régions du pays [242] ; [263] ; [264].

En Europe, elle sévit principalement en Europe du sud [186] ; [243] ; [265] ; [266].

En Asie, la theilériose tropicale bovine est rencontrée au Proche et Moyen Orient, en Turquie, en Chine, au Pakistan et en Inde [267] ; [265] ; [211] ; [212] ; [268] ; [269] ; [270] ; [271] ; [272] ; [63] ; [241] ; [273] ; [272] ; [274].

Dans la région d'Annaba et El Tarf (nord-est de l'Algérie), ZIAM et al. [76] ont identifié le complexe *T. buffeli* avec une prévalence de 13.8% (19/161).

### 2.5.2. Theilérioses ovines

La theilériose ovine maligne est ré pondue dans plusieurs région du monde : en Afrique du Nord, en Tanzanie et au soudan [275] ; [67,276] ; [277] ; [278] ; [235],

au Proche et au Moyen-Orient [209] ; [236] ; [211] ; [177], en Inde, en Chine, au sud-Est de l'Europe et au sud de la Russie [279].

## 2.6. Étiologie

Les formes de chaque espèce de *Theileria* seront détaillées et décrites dans la partie diagnostic direct (étalement de sang coloré au Giemsa).

### 2.6.1. Theilérioses bovines

Plusieurs espèces de *Hyalomma* sont capables de transmettre la theilériose tropicale bovine [176] ; [280] ; [281] ; [282] ; [283] ; [179] ; [284]. Dans le bassin méditerranéen, *Hyalomma scupense* est la principale tique vectrice de *T. annulata*.

En Afrique, la theilériose tropicale bovine a pour vecteur quatre espèces de tiques : *Hyalomma scupense* (Afrique du nord), *Hyalomma anatolicum* (régions désertiques et arides), *Hyalomma dromedarii* (Mauritanie) et *Hyalomma lusitanicum*, signalée en Algérie et au Maroc [285] ; [286] ; [114] ; [185] ; [77] ; [287] ; [181].

En Espagne et au Portugal, *Hyalomma lusitanicum* est le vecteur de *T. annulata* [288] ; [243].

***Theileria orientalis*** agent de la theilériose orientale, connue aussi sous le nom de la theilériose bénigne ou non transformante [220]. La maladie est transmise par plusieurs espèces de tiques du genre *Haemaphysalis* [289] ; [290].

### 2.6.2. Theilérioses ovines

***Theileria ovis*** (Syn. *T. recondita*) est une espèce cosmopolite mais non pathogène [63]. Elle est transmise par les tiques du genre *Rhipicephalus* notamment *R. bursa* [107]. Des études expérimentales réalisées en Chine sur la transmission de *Theileria ovis* chez des moutons splénectomisés, par *H. anatolicum* suggère que *T. ovis* pourrait être transmise par *H. anatolicum* [291].

***Theileria lestoquardi*** elle est transmise par *Hyalomma anatolicum* [292] ; [209] ; [182] ; [224] ; [198] ; [293] ; [294] ; [187] ; [214]. Cependant, différents auteurs confirment que d'autres espèces de tiques comme *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus turanicus* et *Hyalomma impeltatum* sont des vecteurs potentiels de *T. lestoquardi* [295] ; [296] ; [297] ; [298].

***Theileria separata*** est transmise par *Rhipicephalus evertsi* [299].

## 2.7. Réceptivité

### 2.7.1. Age

Généralement les jeunes ruminants sont rarement atteints par la theilériose, ce qui peut s'expliquer par l'immunité colostrale [300]. Chez les bovins, en plus de l'immunité passive, les veaux ont une faible attractivité pour les tiques [185].

### 2.7.2. Race

Les races autochtones sont souvent plus résistantes, mais parfois certains sujets de race locale développent une forme clinique de la theilériose tropicale bovine [176] ; [185]. L'influence de la race sur la résistance des ruminants à la theilériose a été plus fréquemment étudiée et documentée chez les bovins que chez les ovins.

### 2.7.3. Espèce

Lors de l'infection par *T. parva*, contrairement aux bovins, les buffles d'Afrique (*Syncerus caffer*) ne manifestent aucun symptôme mais, sont un réservoir de *T. parva* [215].

Seul les bovins sont sensibles à l'infection par *T. orientalis* et peuvent développer une forme clinique [220].

En Inde, KUNDAVE et al. [268] ont rapporté que les bovins croisées (*Bos taurus*) sont plus sensibles à l'infection par *T. annulata* que les zébus (*Bos indicus*).

Les caprins sont moins sensibles à *Theileria* que les ovins [300], *Theileria lestoquardi* est plus pathogène chez les ovins que chez les caprins [187].

Chez les ruminants, la virulence de *Theileria* est différente d'une espèce à une autre, allant d'une espèce très pathogène qui provoque des maladies sévères, c'est le cas de *Theileria annulata* et *Theileria parva* chez les bovins et *T. lestoquardi* chez les ovins à des espèces moins virulentes voire non virulentes à l'origine de formes bénignes [186] ; [63].

## 2.8. Facteurs favorisants

Le mode d'élevage, l'état de l'étable et les conditions climatiques sont les trois facteurs qui favorisent le développement de la theilériose tropicale bovine [185].

### 2.8.1. Mode d'élevage

*Hyalomma scupense*, principal vecteur de *T. annulata* en Algérie est une tique endophile [258], les bovins qui vivent dans des étables sont plus exposés à la theilériose tropicale bovine [202]. Cependant *H. lusitanicum* est une tique exophile, vecteur de *T. annulata* dans certaines régions du monde. Elle a été signalée en Algérie. Dans ce cas, le pâturage représente un facteur de risque pour la maladie.

### 2.8.2. État de l'étable

Les étables mal conçues avec des murs crevassés et fissurés, mal entretenus contenant des tas de bouses sont des gîtes favorables à l'hibernation et à la ponte des femelles de *H. scupense* [114] ; [185] ; [258]. La rareté voire l'absence de cas cliniques de theilériose tropicale bovine dans les étables modernes et bien conçues peut s'expliquer par l'absence de *H. scupense*.

### 2.8.3. Conditions climatiques

L'incidence la plus élevée de la theilériose tropicale bovine concorde avec la période chaude, les épisodes chauds et les siroccos stimulent l'activité des tiques [185].

### 2.9. Source de *Theileria* et mode de transmission

Les tiques constituent la principale source directe d'infection [176] : Les tiques femelles sont les meilleurs vecteurs à cause de leurs glandes salivaires qui sont plus développées et le repas de sang beaucoup plus développé. Les porteurs latents avec une parasitémie élevée représentent une source indirecte pour les tiques vectrices [237] ; [185].

La transmission de *Theileria* se fait seulement par la voie transstadiale mais pas par la voie transovarienne.

Dans les conditions expérimentales, la transmission de *Theileria* peut se faire par inoculation de sang de ruminant infecté, de broyats d'organes (foie, cerveau, rate), de culture de cellules infectés, elle se fait aussi par infection de broyat de tiques adultes infectées.

### 2.10. Pathogénie

La pathogénicité des espèces de *Theileria* est largement liée à la capacité des schizontes à induire une prolifération élevée des leucocytes mononucléaires et leurs capacités à métastaser et se multiplier dans le tissu non-lymphoïdes (action leucomitogène), ainsi que les tissus lymphoïdes [301] ; [302]. Le stade schizonte est responsable de l'apparition des principaux signes de la theilériose (hypertrophie des nœuds lymphatique, splénomégalie, hépatomégalie...) [303]. À l'exception des schizontes de *T. orientalis* qui n'induisent pas de transformation cellulaire ou de lymphoprolifération [220] ; [180]. Les antigènes parasites sont à l'origine d'une action antigénique qui se manifeste par une situation polyclonale non spécifique des lymphocytes T.

*Theileria parva* transforme les cellules T et les cellules B, tandis que *T. annulata* transforme principalement les cellules B et les cellules de la lignée des monocytes ou macrophages [301].

### 2.11. Cycle évolutif de *Theileria* chez les ruminants

Chez les ruminants, le cycle évolutif de *Theileria* est de type dihéteroïque qui nécessite deux hôtes : un hôte intermédiaire (le ruminant) et un hôte définitif (la tique) [216].

Les facteurs phlogogènes multiples produits par l'organisme durant la phase aiguë de la theilériose sont à l'origine de l'apparition d'un état d'inflammation généralisée et des perturbations hémodynamique et de l'hémostase.

Les formes érythrocytaires de *Theileria* (piroplasmes) aggravent l'anémie et sont à l'origine de l'anémie hémolytique.

#### 2.11.1. Chez le ruminant

Les sporozoïtes de *Theileria* sont inoculés par la tique adulte lors du repas sanguin, ils pénètrent dans les leucocytes (essentiellement les macrophages), se transforment en macroschizontes, ils effectuent plusieurs mitoses synchrones entre le macroschizonte et la cellule hôte. Une partie des macroschizontes cessent de se diviser, augmentent de taille et continuent à multiplier leurs noyaux se transformant ainsi en microschizontes. Les cellules hôtes sont lysées et libèrent des mérozoïtes qui passent dans la circulation sanguine [304] ; [207]. Les mérozoïtes infectent les érythrocytes et se transforment en piroplasmes qui se multiplient par bipartition simple [40]. Les mérozoïtes se transforment en gamontes qui sont ingérés lors du repas sanguin des tiques immatures (larves et nymphes). Seuls ces stades continuent leur évolution chez les tiques alors que les autres stades sont détruits.

Chez les espèces de *Theileria* pathogènes, la phase de multiplication leucocytaire est très importante. Cependant, cette phase est très limitée chez les espèces peu ou pas pathogènes.

### 2.11.2. Chez la tique

L'infection de la tique se produit au stade larvaire ou nymphal durant le repas sanguin sur un ruminant porteur des formes érythrocytaires de *Theileria*. Chez la tique, le développement du parasite se déroule en deux phases successives : la gamétogonie (reproduction sexuée) qui se fait dans l'intestin et la sporogonie (reproduction asexuée) qui s'effectue dans les glandes salivaires de la tique adulte.

Nous allons présenter comme espèces modèles de ce genre *Theileria annulata* et *Theileria lestoquardi* comme agent de la theilériose bovine et ovine, respectivement.

Le cycle évolutif de *Theileria* spp. est schématisé dans la Figure 2.1.

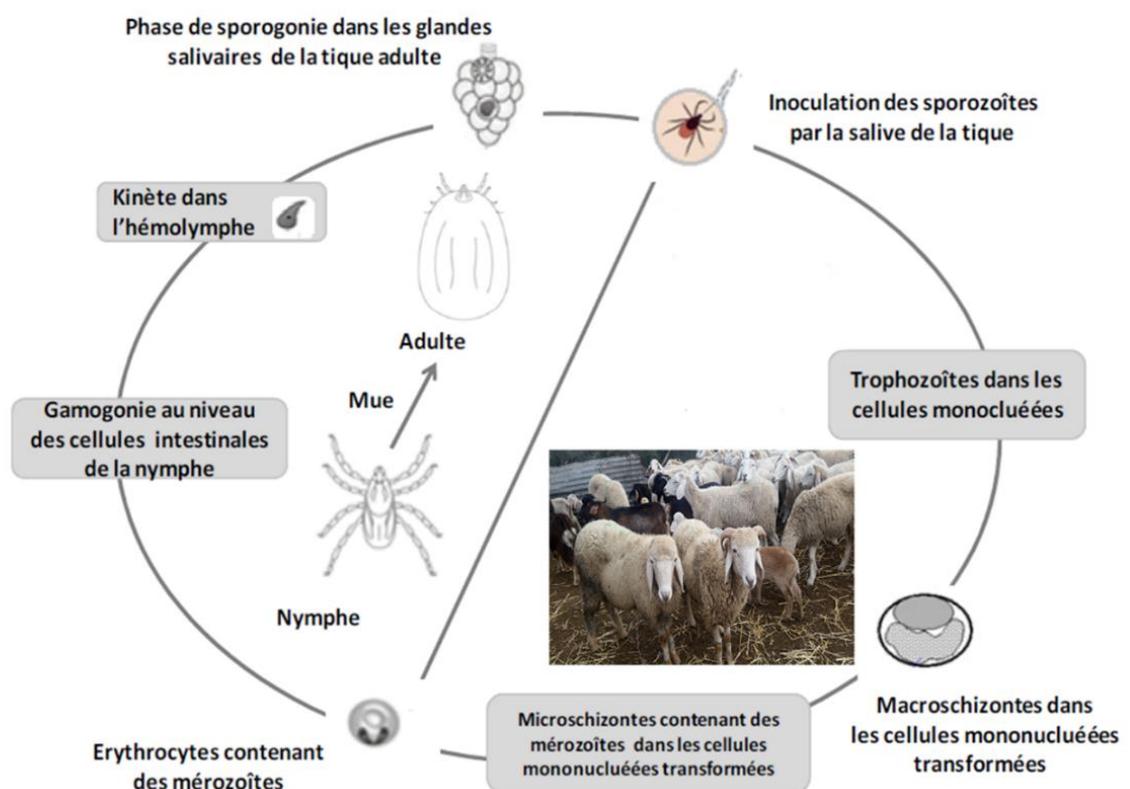


Figure 2.1 : Cycle évolutif de *Theileria* spp.

## 2.12. Immunité

Les phénomènes immunitaires de *Theileria lestoquardi* sont similaires à ceux engendrés par *Theileria annulata*.

Généralement, la durée de l'immunité acquise suite à une infection par *Theileria* est importante. Lors d'une infection par *Theileria annulata*, l'immunité peut persister trois ans voire plus [195]. Dans les zones endémiques, elle est renforcée par les réinfections séquentielles et très solide à l'égard des souches homologues. Elle s'exerce en particulier sur les stades libres de *Theileria* (les sporozoïtes et les mérozoïtes).

### 2.12.1. Immunité innée

Lors de la primo-infection, l'organisme de l'animal réagit par la mise en route de mécanismes de défenses non spécifique. Les sporozoïtes ou les lignées cellulaires infectées par *T. annulata* stimulent directement l'immunité innée (lymphocytes T gamma delta, des cellules tueuses (cellules NK) et des macrophages) [239]. Ces cellules produites des cytokines; l'IFN- $\gamma$  secrété par les cellules NK ainsi que l'IL<sub>2</sub> et le TNF  $\alpha$  sécrétés par les macrophages [305] ; [207]. Les cytokines induisent l'apparition de cellules effectrices activées : les cellules NK ont une activité cytotoxique et les macrophages activés exercent une action cytotatique sur les cellules infectées par les schizontes.

### 2.12.2. Immunité acquise

L'immunité acquise permet la neutralisation des *Theileria* ayant échappé à l'immunité innée, elle est plus solide que cette dernière.

#### 2.12.2.1. Immunité à médiation humorale

Chez l'hôte, *T. annulata* aboutit à la synthèse d'anticorps anti-sporozoïtes qui exercent une action neutralisante sur les cellules infectées dans le sang périphérique, anti-mérozoïtes et anti-schizontes avec des titres très élevés. Ces

anticorps peuvent être mis en évidence par sérologie. L'immunité à médiation humorale s'installe 3 à 4 semaines après l'infection.

#### 2.12.2.2. Immunité à médiation cellulaire

Elle consiste à stimuler les lymphocytes B et T. Les cellules T, CD4+ et CD8+ sécrètent des cytokines y compris l'IFN- $\gamma$  [305].

Les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques ont un pouvoir lytique sur les cellules infectées par les macroschizontes et sont détectable uniquement lors de la phase aiguë. Cependant les macrophages ont une durée d'activité plus longue contre les cellules infectées, ils ont un rôle dans l'installation de l'immunité protectrice induite par la vaccination.

#### 2.13. Diagnostic

Dans les régions enzootiques, les données épidémiologiques combinées aux symptômes de la theilériose peuvent orienter le diagnostic. Mais le diagnostic de certitude est apporté par les examens paracliniques [239] ; [269].

##### 2.13.1. Diagnostic clinique

###### 2.13.1.1. Theilérioses bovines

Il faut suspecter la theilériose dans les régions endémiques, en période estivale et surtout dans les élevages mal entretenus, des étables avec des murs crevassés ayant des antécédents de la theilériose tropicale, les formes aiguës sont généralement faciles à diagnostiquer [202].

Généralement le tableau clinique de la theilériose tropicale bovine apparaît après une période d'incubation moyenne de 14 jours [195]. La maladie évolue selon trois formes : suraiguë, aiguë et chronique [202].

### Forme aiguë

C'est la forme la plus fréquente et la plus caractéristique de la theilériose tropicale bovine [202]. L'animal malade présente une altération de l'état général, une hyperthermie qui peut atteindre 42°C, une hyporexie ou une anorexie, une hypogalaxie voire une agalactie, ils sont généralement les principaux motifs de consultation, une hypertrophie des nœuds lymphatiques, une congestion intense des muqueuses, une anémie hémolytique et un ictère inconstant souvent tardif dont le pronostic est fréquemment défavorable, des pétéchies oculaires et vulvaires et un amaigrissement [303] ; [202] ; [76] ; [259] ; [269] ; [17] ; [306] ; [269].

En plus des symptômes cités, d'autres moins fréquents peuvent être observés à savoir des troubles digestifs (diarrhée avec mélaena, ulcère de la caillette et indigestion); des bronchopneumonies; des lésions cutanées (au nord de la Tunisie, des lésions cutanées sous forme de nodules cutanés lenticulaires ont été observés chez deux bovins de race pure exotique atteints de la theilériose tropicale bovine [245]), parfois les femelles avortent. Un œdème de l'auge est noté dans les cas les plus sévères [307] et plus rarement, une gangrène sèche de la peau observée sur la ligne du dos [202].

Dans la forme atténuée de theilériose tropicale bovine, le tableau clinique est moins grave et l'infection passe souvent inaperçue mais, cette forme est à l'origine de pertes économiques imputables à la baisse de la production laitière et la diminution du GMQ. Cette forme est assez fréquente chez les bovins de race locale. Dans la majorité des cas, l'évolution se fait vers la guérison mais parfois, elle peut se transformer en forme chronique souvent mortelle [202].

#### 2.13.1.2. Theilérioses ovines

La forme aiguë est la forme la plus courante de la theilériose ovine maligne [107]. La symptomatologie est semblable à celle de la theilériose tropicale bovine. La maladie apparaît après une période d'incubation de 8 à 12 jours. L'ovin malade présente généralement une forte fièvre, une perte de l'appétit, une hypertrophie des nœuds lymphatiques, une anémie, parfois un ictère, un amaigrissement, une

constipation, l'animal est souvent prostré [308] ; [67]. Dans les cas graves et en absence de traitement précoce, l'animal peut mourir.

### 2.13.2. Diagnostic différentiel

#### 2.13.2.1. Diagnostic différentiel de la theilériose tropicale bovine

Les animaux atteints de la theilériose présentent parfois un tableau clinique qui n'est pas pathognomonique, elle doit être de ce fait différenciée d'autres maladies.

Le diagnostic différentiel de la theilériose tropicale bovine se pose avec plusieurs maladies estivales notamment l'anaplasmoses et les babésioses. Dans sa phase de début, la maladie doit être différenciée avec toutes les maladies engendrant une hypogalactie (ou agalactie) et un cortège fébrile [202].

#### Anaplasmoses

L'anaplasmoses se caractérise par une anémie hémolytique visible sur les muqueuses qui deviennent décolorées et peuvent même devenir blanc porcelaine, une atonie du rumen, l'absence d'hémoglobinurie et hémoglobinémie, un amaigrissement plus prononcé et un avortement. Dans quelques cas extrêmes, cette infection est mortelle.

#### Babésioses

L'infection par *B. bovis* se caractérise par un ictère franc, une hémoglobinurie moins marquée, des symptômes nerveux et des troubles respiratoires dus à la séquestration des parasites dans les érythrocytes des capillaires cérébraux. Elle a un plus fort taux de létalité.

La babésiose due à *Babesia bigemina* se caractérise par une anémie et un ictère dus à une hémolyse intense se manifestant principalement par des muqueuses pâles et des urines foncées et moussantes.

La babésiose due à *Babesia divergens* se caractérise par une diarrhée en jet avec anus présentant un spasme dit « en trou de serrure ».

#### 2.13.2.2. Diagnostic différentiel des theilérioses ovines

La theilériose ovine maligne est à différencier avec les maladies anémiantes (anaplasmosse ovine, babésiose, mycoplasmosse, paralysie à tiques, ehrlichiose ovine, fasciolose et haemonchose) et les maladies à l'origine d'une coloration anormale des urines (leptospirose et Intoxication cuprique).

##### Anaplasmosse

L'anaplasmosse ovine se manifeste par une anémie visible sur les muqueuses, elle est de couleur blanc porcelaine et une perte de poids.

##### Ehrlichiose ovine

L'infection à *Ehrlichia phagocytophila* se manifeste par un état fébrile, une leucopénie et une immunosuppression.

##### Leptospirose

L'infection se traduit par un ictère franc, une hématurie parfois une atteinte rénale provoquant une insuffisance rénale aiguë ou chronique. Dans la forme chronique, les symptômes peuvent être dominés par des troubles de la reproduction qui se manifestent par de la stérilité, des avortements et de la mortinatalité.

##### Mycoplasmosse

La maladie touche essentiellement les jeunes animaux et l'infection est souvent subclinique.

Un épisode clinique de mycoplasmosse se manifeste par une anémie et une chute de la laine.

### Les babésioses

La babésiose à *Babesia ovis* se caractérise par une fièvre, un ictère, une hémoglobinurie, des troubles digestifs et respiratoires. Lors des formes aiguës la mort survient dans les 24 à 48 heures.

L'ictère et l'hémoglobinurie sont rares lors de l'infection par *B. motasi*. La parasitémie est plus élevée lors de l'infection par *B. motasi* que par *B. ovis*

### Fasciolose

Le diagnostic de la fasciolose ovine peut se faire en présence d'une anémie, l'absence de fièvre, le signe de la bouteille, un mauvais état général et un amaigrissement. La présence d'œufs de grande douve à l'examen coproscopique confirme le diagnostic.

### Haemonchose

La maladie se caractérise par une évolution plus ou moins rapide, une anémie, une anorexie, la prostration et œdème de l'auge « signe de la bouteille » et une mort rapide en absence de traitement.

### Intoxication cuprique

L'intoxication cuprique est d'évolution apyrétique. Elle se caractérise par une hémoglobinurie intense avec ou sans ictère et un syndrome ictéro-hémoglobinurie.

## Paralysie a tique

La maladie est due à une neurotoxine produite dans les glandes salivaires de la tique *Haemaphysalis punctata* et transmise après une fixation prolongée de plusieurs tiques sur le même animal. Elle se manifeste par des troubles nerveux et une anémie macrocytaire normochrome.

### 2.13.3. Diagnostic lésionnel

#### 2.13.3.1. Theilérioses bovines

Généralement, l'hépatomégalie, la splénomégalie, le purpura hémorragique sur le cœur et la muqueuse de la vessie, l'adénite exsudative et les ulcère de la caillette avec des centres nécrosés sont les lésions typiques de la theilériose tropicale bovine. Très fréquemment, on observe une anémie, un subictère, un œdème aigu des poumons et une péritonite congestive. Occasionnellement, on note la présence d'un ictère franc, une péricardite congestive et une hépatite nécrosante hémorragique [309].

Une étude réalisée en Chine sur des bovins infectés expérimentalement par *T. annulata* a révélé une nécrose multifocale et de nombreuses ulcérations de la caillette, une congestion et une décoloration marbrée de la rate, des ecchymoses intestinales sévères. Les principales caractéristiques histologiques étaient la prolifération et l'infiltration des lymphocytes, des plasmocytes et des macrophages dans les nœuds lymphatiques, la rate et les autres tissus lymphoïdes. Des macroschizontes ont été observés dans le cytoplasme des lymphocytes et des macrophages des nœuds lymphatiques et de la rate [306].

#### 2.13.3.2. Theilérioses ovines

Généralement l'inspection *post-mortem* révèle une carcasse maigre voire cachectique, des muscles pâles, un foie hypertrophié et congestionné, une rate congestionnée et hypertrophiée, une adénite généralisée, une entérite sévère, une

pneumonie sévère, un cœur flasque présentant des hémorragies pétéchiales dans les deux surfaces endocardique et épocardique [310].

#### 2.13.4. Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic paraclinique des theilérioses est très important surtout lors d'infections par des espèces pathogènes (*T. annulata*, *T. lestoquardi*) à l'origine de pertes économiques énormes. Plusieurs techniques de diagnostic et de dépistage peuvent être utilisés [202].

##### 2.13.4.1. Examen hématologique et biochimique

La theilériose tropicale bovine induit d'importantes modifications biochimiques et hématologiques : augmentation de la concentration de bilirubine totale et directe. Chez les bovins de race Montbéliarde, il y a une diminution du nombre de leucocytes, d'érythrocytes, d'hémoglobine, d'hématocrite, de glucose, d'albumine, et de protéines totales [259] ; [239].

L'hémogramme réalisé chez des ovins infectés par *Theileria* révèle une anémie hypochrome macrocytaire, une leucopénie, une neutropénie, une lymphopénie, une monocytopenie, une éosinopénie et une thrombopénie. L'analyse biochimique révèle une hypoprotéïnémie, une hypoalbuminémie totale et une hyperbilirubinémie indirecte avec des élévations des activités enzymatiques de l'AST et le GGT ainsi qu'une augmentation de la concentration de l'urée et de créatinine sanguins [311].

##### 2.13.4.2.1. Diagnostic direct

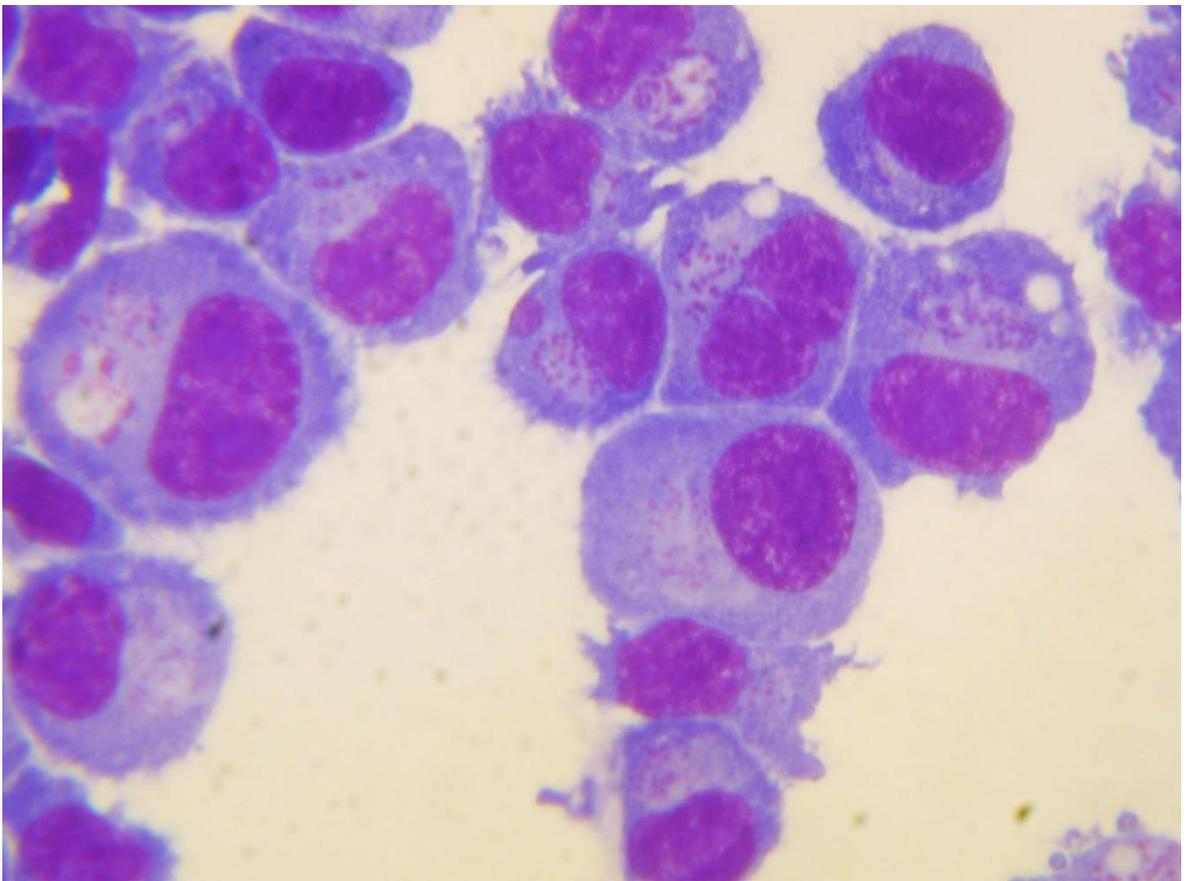
###### 2.12.4.2.1.1. Examen microscopique

***Theileria annulata*** se présente sous deux formes : les schizontes (intra-leucocytaires) et les mérozoïtes (intra-érythrocytaires).

## Les schizontes

Les calques d'organes colorés au Giemsa permettent de détecter des leucocytes infectés par les macroschizontes lors de la theilériose clinique durant le pic de l'hyperthermie [304] ; [202] ; [265]. L'étalement du suc des nœuds lymphatiques est un moyen de diagnostic précoce et spécifique [202].

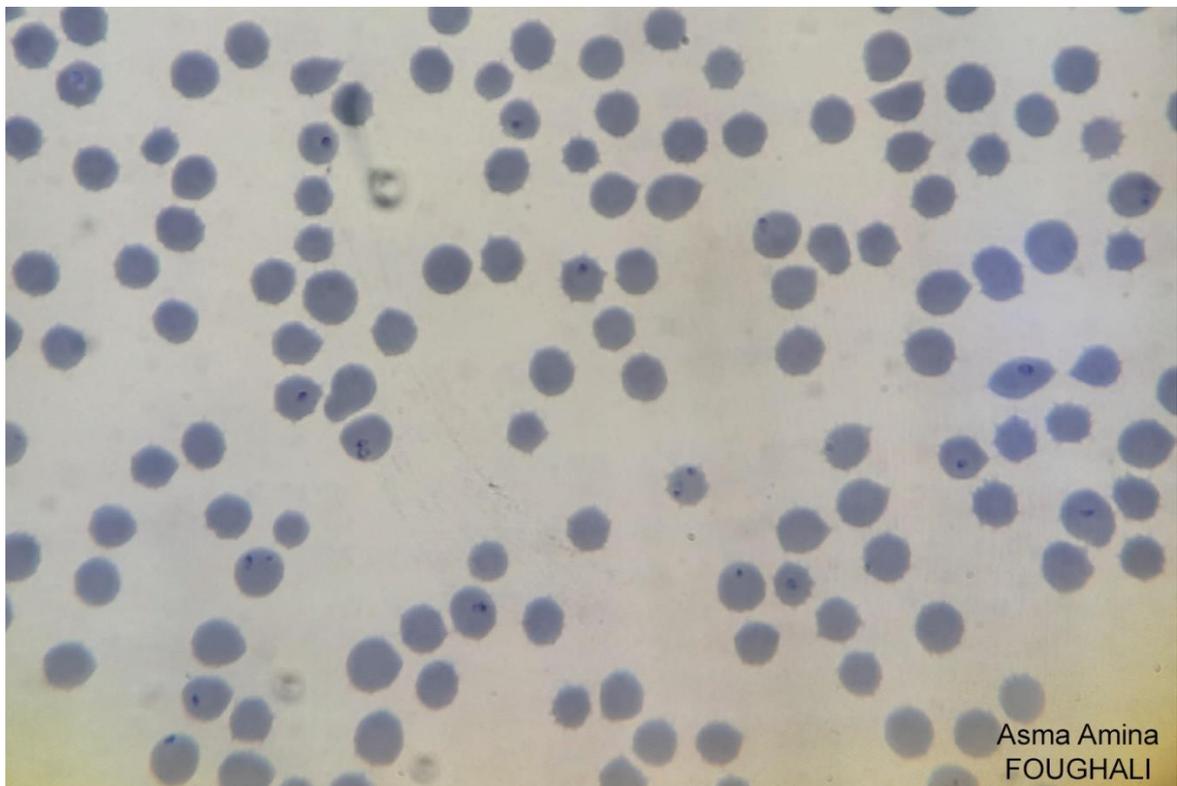
La figure suivante montre l'observation de schizontes de *Theileria lestoquardi* après étalement de nœud lymphatique coloré au Giemsa.



**Figure 2.2 :** Schizontes de *Theileria lestoquardi* sur une ponction de nœud lymphatique d'un ovin atteint de theilériose ovine maligne (Coloration Giemsa, examen au microscope optique à l'huile à immersion, grossissement x1000) [147].

## Les mérozoïtes

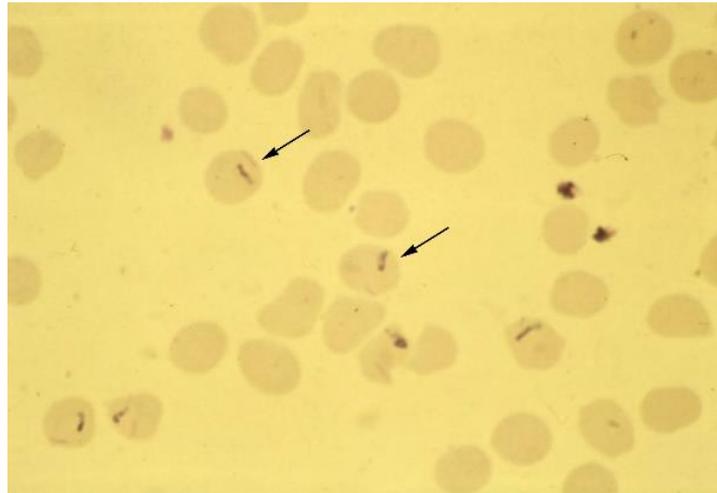
Généralement, les formes intra-érythrocytaires de *T. annulata* sont faciles à détecter lors d'infections aiguës. Cependant, au début de la maladie, l'étalement peut être négatif [202]. L'examen microscopique d'un étalement de sang permet de mettre en évidence des mérozoïtes, ces derniers peuvent se présenter sous plusieurs formes : en virgule et bâtonnet (10%), ovoïde et annulaire (85%), anaplasmoïde (5%), sous la forme de tétrade (croix de Malte). Les piroplasmes de *T. annulata* se présentent comme des inclusions intra-érythrocytaires, ils comportent un cytoplasme coloré en rouge violacé clair et un noyau en position marginale coloré en rouge violacé foncé [202] (Figure 2.3).



**Figure 2.3 :** Érythrocytes d'un bovin infectés par *Theileria annulata* (coloration Giemsa, grossissement x 1000) (Photo de l'auteur).

**Le complexe *T. buffeli/T. orientalis*** se caractérise par des mérozoïtes en d'allumette de formes ramassées accompagnés d'un voile et d'une barre [76].

La figure 2.4 montre l'observation de *Theileria buffeli* après étalement sanguin.



**Figure 2.4 :** Érythrocytes de bovin infectés par *Theileria buffeli* (coloration Giemsa, grossissement x 1000) [147].

***Theileria lestoquardi*** : les gamétocytes issus des mérozoïtes ont une taille qui varie de 1,5 à 2 µm et se caractérisent par différentes formes : annulaire ovalaire allongée bacilliforme ou en virgule[312]. Les Schizontes mesurent 4 à 10 µm.

***Theileria ovis*** apparait principalement sous forme de parasite ronds ou ovales mesurant 1,0–1,9 µm ; 0,9–1,3 × 1,4–1,8 µm, respectivement. Les autres formes allongées, bacilliformes sont plus rares [291]. Les schizontes sont moins abondants que chez *T. lestoquardi*.

En se basant seulement sur les caractéristiques morphologiques, il est difficile de différencier entre *T. lestoquardi* et *T. ovis* surtout lors d'infections mixtes [313].

#### 2.13.4.2.1.2. Réaction de polymérisation en chaîne

La plupart des tests moléculaires basés sur la PCR conventionnelle ou en temps réel se sont avérés conformes aux normes en termes de sensibilité analytique. Cependant, la plupart des tests ne peuvent détecter que >400 000 parasites/L de sang. Malgré cela, la distribution naturelle de la parasitémie chez les animaux porteurs semble se situer au-dessus de cette limite de détection [155].

Le diagnostic moléculaire de la theilériose tropicale bovine peut être réalisé en ciblant une séquence d'ADN constante spécifique de *Theileria annulata*.

### PCR Cytochrome b

La PCR Cytochrome b est très utilisée dans les études taxonomiques et les enquêtes épidémiologiques, elle permet une meilleure détection de *T. annulata* chez les animaux asymptomatiques.

Le gène Cytochrome b est situé sur un fragment d'ADN extra chromosomique, il est en mult copie et non soumis à une pression sélective, il a une taille de 312 pb [237].

### Diversité de *Theileria annulata*

Deux antigènes immunodominants de surface de *T. annulata* peuvent être utilisés pour étudier le polymorphisme antigénique de *T. annulata* : SPAG-1 (Sporozoïte Antigen) principal antigène de surface de nature protéique [314] et Le *Tams1* (*Theileria annulata* mérozoïtes antigen) qui est un polypeptide codé par un gène ayant une taille de 721 pb. il peut être également utilisé comme marqueur dans les enquêtes épidémiologiques [304] ; [210] ; [14] ; [315] ; [316]. Cependant, Le ciblage des gènes polymorphes pour la détection des parasites peut entraîner une sous-estimation de l'infection chez les bovins malades [210].

*Theileria lestoquardi* a une diversité génétique inférieure à celle des populations sympatriques de *Theileria annulata* [294].

### 2.13.4.2.2. Diagnostic indirect

#### 2.13.4.2.2.1. ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

Grace a sa sensibilité et sa spécificité élevées, l'ELISA est l'outil de choix de dépistage de l'infection dans les enquêtes épidémiologiques de la theilériose tropicale bovine [317].

SVANOVIR *Theileria annulata*-Ab est le premier kit ELISA commercial pour le diagnostic de la theilériose tropicale bovine. Il est basé sur une protéine recombinante connue sous le nom de *T. annulata* surface protein (TaSp) [159].

Chez les ovins, la détection sérologique de *T. lestoquardi* par le test ELISA est également possible [231] ; [278].

#### 2.13.4.2.2. Test d'immunofluorescence indirect (IFI)

Le test d'immunofluorescence indirect permet la mise en évidence des anticorps anti-*Theileria* en utilisant des antigènes de mérozoïtes ou de schizontes [202]. Cette technique a été utilisée dans plusieurs pays d'Afrique : au Maroc [80], en Tunisie [262], en Mauritanie et au Soudan [318] ; [250] ; [316].

Les réactions croisées entre les espèces de *Theileria* étroitement apparentées réduit l'utilisation du test [155]. Plusieurs études confirment l'existence de réactions croisées entre *T. annulata* et *T. parva* [319]. L'examen n'a pas d'intérêt dans le diagnostic de la theilériose clinique lors des phases aiguës en raison de l'apparition tardives des anticorps.

Les tests sérologiques peuvent être à l'origine de réactions croisées surtout dans les régions où co-existe des espèces pathogènes et non pathogènes de *Theileria* [237] ; [320] ; [155].

*Theileria lestoquardi* et *Theileria annulata* présentent des similitudes antigéniques, de sorte que le diagnostic sérologique différentiel entre ces deux espèces est difficile [198].

#### 2.14. Traitement

Le traitement de la theilériose associe un traitement spécifique (theiléricide) et un traitement symptomatique. Les infections mixtes *Theileria/Babesia* ; *Theileria/Anaplasma* sont fréquentes en particulier dans les régions enzootiques. Elles doivent être prises en considération lors du traitement.

### 2.14.1. Traitement Spécifique (theiléricide)

Chez les ruminants, de nombreuses molécules peuvent être utilisées dans le traitement de la theilériose [321]. Cependant, en pratique seules deux molécules sont utilisées : la parvaquone et la buparvaquone.

Actuellement, la buparvaquone est le traitement de choix notamment dans le traitement de la theilériose tropicale bovine [322]. C'est une molécule qui appartient à la famille des hydroxynaphtoquinone [323] ; [324]. La buparvaquone est active sur les schizontes et les piroplasmés de *Theileria*. Elle se caractérise par une efficacité supérieure à celle de la parvaquone [325]. Cependant, plusieurs auteurs ont rapporté, des cas de résistance de *T. annulata* à la buparvaquone, en Tunisie [326] ; [323], au Soudan [322] et en Iran [327].

En Algérie, la buparvaquone est commercialisée sous plusieurs spécialités dont Butacof 5® (Boehringer Ingelheim, Allemagne). Elle est indiquée chez les bovins et utilisée à la dose de 2,5 mg/kg par la voie intramusculaire. Lors d'infections graves, il est indiqué de renouveler l'injection 48 à 72 heures après. Il est recommandé de ne pas injecter plus que 10 ml par site d'injection. Le prix élevé de la buparvaquone constitue un obstacle pour le traitement de la theilériose.

La parvaquone est active uniquement contre les schizontes de *Theileria*.

Une étude réalisée par BANSAL et SHARMA en [328] sur l'efficacité de l'oxytétracycline à action prolongée contre *Theileria annulata* a montré que tous les bovins malades ayant reçu une dose de 20 mg/kg d'oxytétracycline longue action le jour de l'infection n'ont manifesté que de légères réactions puis ils se sont rétablis.

### 2.14.2. Traitements adjuvants

Les traitements adjuvants sont instaurés en fonction de la clinique, ils permettent d'améliorer l'état du malade, de lutter contre l'anémie (stimulants de l'érythropoïèse mais l'administration du fer n'est pas indiquée car l'anémie n'est pas ferriprive), l'hyperthermie (antiinflammatoires non stéroïdiens), les infections

pulmonaires (antibiotiques à large spectre), l'hypotonie des réservoirs digestifs (excitants de la motricité digestive), la constipation et la déshydratation en cas de diarrhée (fluidothérapie).

### 2.15. Prophylaxie

La prophylaxie contre la theilériose se base sur la lutte contre les vecteurs et la vaccination des ruminants.

La lutte contre le vecteur a été déjà évoquée plus haut. Cependant, dans le cas de la theilériose tropicale bovine, il est important de lutter contre les tiques endophiles (notamment *H. scupense* et *H. anatolicum*) par l'élimination des gîtes de pontes des femelles et d'hibernations des nymphes, en réalisant un crépissage et un lissage des façades internes et externes des murs de l'étable. Il est important aussi d'éliminer les bouses séchées de l'étable ainsi que les tas d'immondices dans lesquels peuvent s'abriter les nymphes et les femelles gorgées [329].

#### 2.15.1. Vaccination

La vaccination protège l'animal contre la maladie mais n'empêche pas l'infection, il s'agit donc d'un vaccin anti-maladie et non anti-infection. Elle permet de prévenir la maladie clinique, la mortalité après une infection naturelle et d'empêcher la propagation de la maladie dans la population d'animaux sensibles à travers des vecteurs [239].

La plupart des vaccins existants contre les protozoaires sont destinés aux agents pathogènes du phylum *Apicomplexa* [330].

#### Vaccination contre *Theileria annulata*

##### Vaccin vivant atténué

En Algérie, SERGENT et al. [195] fut les premiers à faire des essais de vaccination contre la theilériose tropicale bovine, l'équipe a utilisé des souches

atténuées par passages successifs sur bovins dont la souche "Kouba" (cette souche a été nommée au nom d'une banlieue d'Alger où a été isolée la souche vaccinale), ce vaccin a été utilisé en Algérie, au Maroc et en Tunisie.

Dans certains pays du monde: en Inde et en Turquie [331] ; [63] ; [270], la vaccination des bovins avec un vaccin vivant atténué est une méthode de contrôle efficace et largement utilisée pour la prophylaxie de la theilériose [179]. Cependant, ce type de vaccin présente certaines limites : il doit être distribué dans l'azote liquide, il y a un risque de réactions post-vaccinales et parfois la dissémination des agents pathogènes.

La production du vaccin vivant atténué consiste à mettre des leucocytes infectés par des macroschizontes en culture prolongée en réalisant 3 passages hebdomadaire [262] ; [332].

HALL et al. [332], ont reporté que l'atténuation par culture s'accompagne d'une altération de l'expression des gènes de l'hôte et du parasite avec une perte d'expression des métalloprotéinases matricielles (MMP) induites par le parasite.

#### Vaccin vivant modifié génétiquement

ECHEBLI et ces collaborateurs [333] ont conçu des lignées vaccinales modifiées génétiquement contre *Theileria annulata* à l'aide des techniques de génie génétique en introduisant un gène mutant de c-jun à une lignée cellulaire non atténuée infectée par une souche virulente de *T. annulata*.

#### Vaccination sous-unitaire

Bien qu'il offre une protection, la vaccination avec un vaccin vivant de *T. annulata* a beaucoup d'inconvénients et de limites donc son utilisation [334]. Ce qui a motivé les chercheurs à développer des vaccins sous-unitaires.

### Vaccins à ADN

Un vaccin à ADN est un moyen prophylactique très efficace contre les agents pathogènes intracellulaires tels que le virus de l'herpès simplex [335], les mycobactéries, et certains parasites intracellulaires.

### Vaccination contre *Theileria lestoquardi*

Au Soudan, AHMED et al. [67] ont développé un vaccin candidat vivant contre les antigènes des schizontes en isolant des cellules lymphoblastiques infectées par *T. lestoquardi* et en les atténuant par passages successifs en milieu de culture.

## CHAPITRE 3

### ENQUÊTE PARTICIPATIVE SUR LES PIROPLASMOSES BOVINES

#### 3.1. Introduction

Les piroplasmoses bovines (babésiose et theilériose) sont des maladies fréquentes dans les régions tropicales et subtropicales transmises par des tiques [119] ; [154] ; [218] ; [336] ; [269] ; [337] ; [338]. Elles engendrent des pertes économiques énormes [21] ; [154] ; [265] ; [46] ; [338] ; [339]. En Algérie, malgré la disponibilité d'acaricides et de traitement anti-*Theileria*, la theilériose tropicale bovine reste la maladie estivale la plus importante dans les régions endémiques. L'une des contraintes du contrôle de la theilériose tropicale bovine serait le facteur humain. Une enquête participative réalisée auprès des éleveurs de bovins de la commune de Beni Hamidène, Wilaya de Constantine visant à connaître les connaissances, attitudes et perceptions des piroplasmoses bovines par les éleveurs.

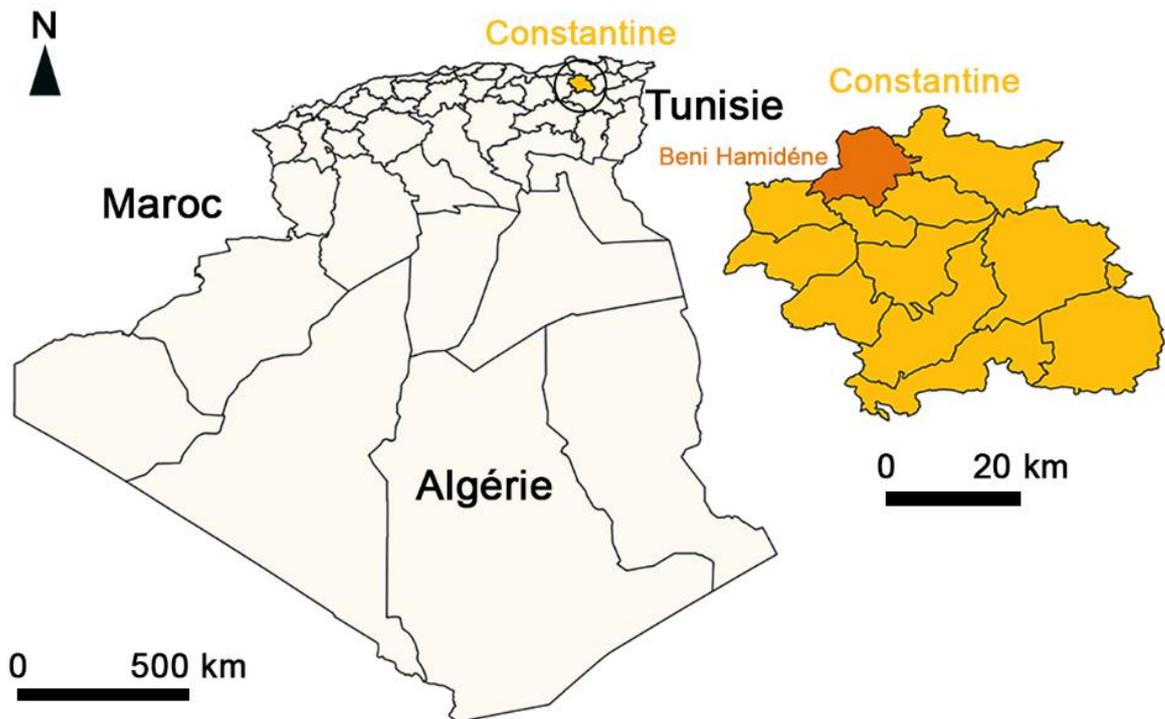
Quatre techniques sont utilisées pour le diagnostic des piroplasmoses : (1) étalement de sang coloré au Giemsa, (2) Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), (3) Test d'immunofluorescence indirect (IFI), (4) Plusieurs techniques de PCR sont utilisées pour la détection des piroplasmoses.

#### 3.2. Matériel et méthodes

##### 3.2.1. Région d'étude

L'enquête participative a été réalisée dans la commune de Beni Hamidène (36°30' N ; 6°31' E) qui occupe une superficie de 131 km<sup>2</sup> (Figure 3.1). Elle se situe au nord-ouest de la Wilaya de Constantine, elle se caractérise par deux types de climat (un climat subhumide froid au nord de la région montagneuse, et semi-aride modéré dans le centre et le sud de la commune) et une élévation qui varie de 300

à 1364 m. La pluviométrie moyenne annuelle est de 761 mm. En 2014, cette commune comptait 171 éleveurs de bovins, possédant environ 1640 animaux dont 783 vaches laitières [340].



**Figure 3.1** : Carte géographique de la région d'étude [341].

### 3.2.2. Étude participative

L'étude participative a été réalisée en 2014 auprès de 73 éleveurs de bovins résidant dans 15 localités dans la commune de Beni Hamidène, Wilaya de Constantine. Les interviews ont été effectués avec les femmes et les hommes de différents âges, individuellement ou en focus group (groupes d'éleveurs) de 2 à 3 éleveurs dans leurs fermes ou dans le cabinet du médecin vétérinaire traitant.

La durée moyenne des entretiens été de 28 minutes (extrêmes : 11 à 60 minutes), l'entretien informel été guidé par une check-list (liste de contrôle). Afin d'éviter les biais de mémoire, les interviews ont été menées durant l'été (saison d'apparition de cas cliniques des piroplasmoses bovines).

Afin qu'on se familiarise avec le langage vernaculaire, nous avons poursuivi un stage d'un mois dans un cabinet vétérinaire de la région de Beni Hamidène avant le début de l'enquête.

L'exercice d'empilement proportionnel a été effectué afin de répertorier les différentes maladies bovines et d'estimer leurs pertes économiques, au lieu des haricots nous avons utilisé un système de notation allant d'une à six croix. Des questions d'approfondissement étaient posées aux éleveurs sur chaque maladie citée. Les outils de l'épidémiologie participative ont été testés préalablement avec quelques éleveurs de la région de Beni Hamidène.

Les données qualitatives et semi-quantitatives recueillies au cours de cette enquête ont été analysées par la technique de triangulation [342].

#### 3.2.2.1. Classement des maladies des bovins

Au début de chaque interview, les éleveurs ont été priés de citer toutes les maladies qu'ils pensent être fréquentes. Chaque maladie est représentée par un cercle. À l'intérieur de chaque cercle, les éleveurs estimaient la fréquence de chaque maladie en utilisant un système de notation allant d'une à six croix correspondant à une échelle croissante de gravité (maladie très rare, rare, peu fréquente, assez fréquente, fréquente, très fréquente).

Des questions d'approfondissement ont été posées aux éleveurs sur la définition, les caractéristiques, l'étiologie et leurs attitudes en cas de constatation de la maladie.

#### 3.2.2.2. Estimation des pertes économiques attribuées à chaque maladie

Le deuxième exercice d'empilement proportionnel a été réalisé afin d'évaluer la perception des éleveurs sur l'impact économique des maladies citées au préalable par les éleveurs en utilisant un système de notation, l'éleveur coche de 1 à 6 croix. Des questions d'approfondissements étaient posées aux éleveurs sur les critères et les mesures de l'évaluation de l'impact économique de chaque maladie.

### 3.2.2.3. Questions d'approfondissement sur les piroplasmoses

Des questions d'approfondissements ont été posées aux éleveurs sur la différence entre la theilériose et la babésiose, les facteurs de risques, l'incidence mensuelle, la prévention, la létalité et leurs attitudes face aux piroplasmoses bovines. À la fin de chaque interview et afin de trianguler le résultat, un tableau détaillé sur les différents symptômes de la theilériose et de la babésiose a été présenté aux éleveurs. La fréquence des symptômes a été estimée avec un système de notation allant de zéro (symptôme absent) à 7 croix (ne savent pas).

### 3.3. Analyses statistiques

Les données semi-quantitatives et qualitatives collectées et recueillies au cours des entretiens informels, les questions d'approfondissements ainsi que les exercices d'empilements proportionnels ont été triangulées et saisies sur Excel® pour Windows®. Les données ont été exportées vers le logiciel Past 4.0 pour montrer la relation entre les scores de fréquences et ceux des pertes économiques.

### 3.4. Résultats

#### 3.4.1. Maladies les plus fréquentes des bovins

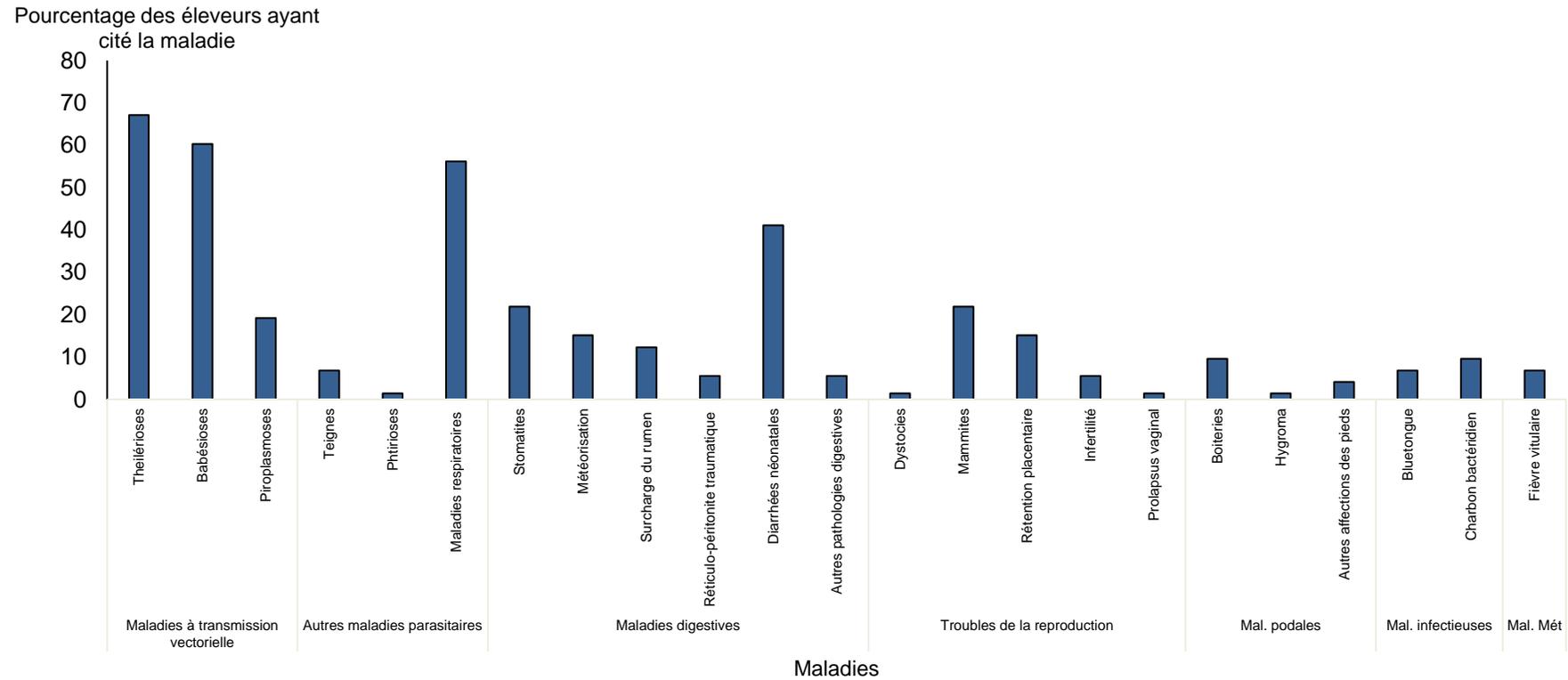
Selon les éleveurs interviewés, les problèmes sanitaires en élevage bovin sont dominés par les piroplasmoses bovines. Plus de la moitié (49/73 ; 67,1%) ont cité la theilériose et 60,3% (44/73) la babésiose et environ vingt pour cent (14/73 ; 19,2%) ont cité la piroplasmose sans préciser s'il s'agissait de la babésiose ou de la theilériose.

Les éleveurs qui ont cité le charbon (7/73 ; 9,6%) ont déclaré que la maladie est apparue pendant des années et elle les a marqués en provoquant de lourdes pertes économiques mais heureusement elle a disparue depuis au moins 5 ans.

Malgré la crise de la fièvre aphteuse qui était survenue pendant notre enquête, aucun éleveur ne l'a mentionnée. Cependant, tous les éleveurs interviewés (73/73) à la fin des interviews ont demandé des informations sur la maladie.

Plus de la moitié des éleveurs (41/73 ; 56,2%) ont évoqué les maladies respiratoires. Les dystocies, l'hygroma, le prolapsus vaginal et les phtirioses étaient cités par très peu d'éleveurs (1/73 ; 1,4%).

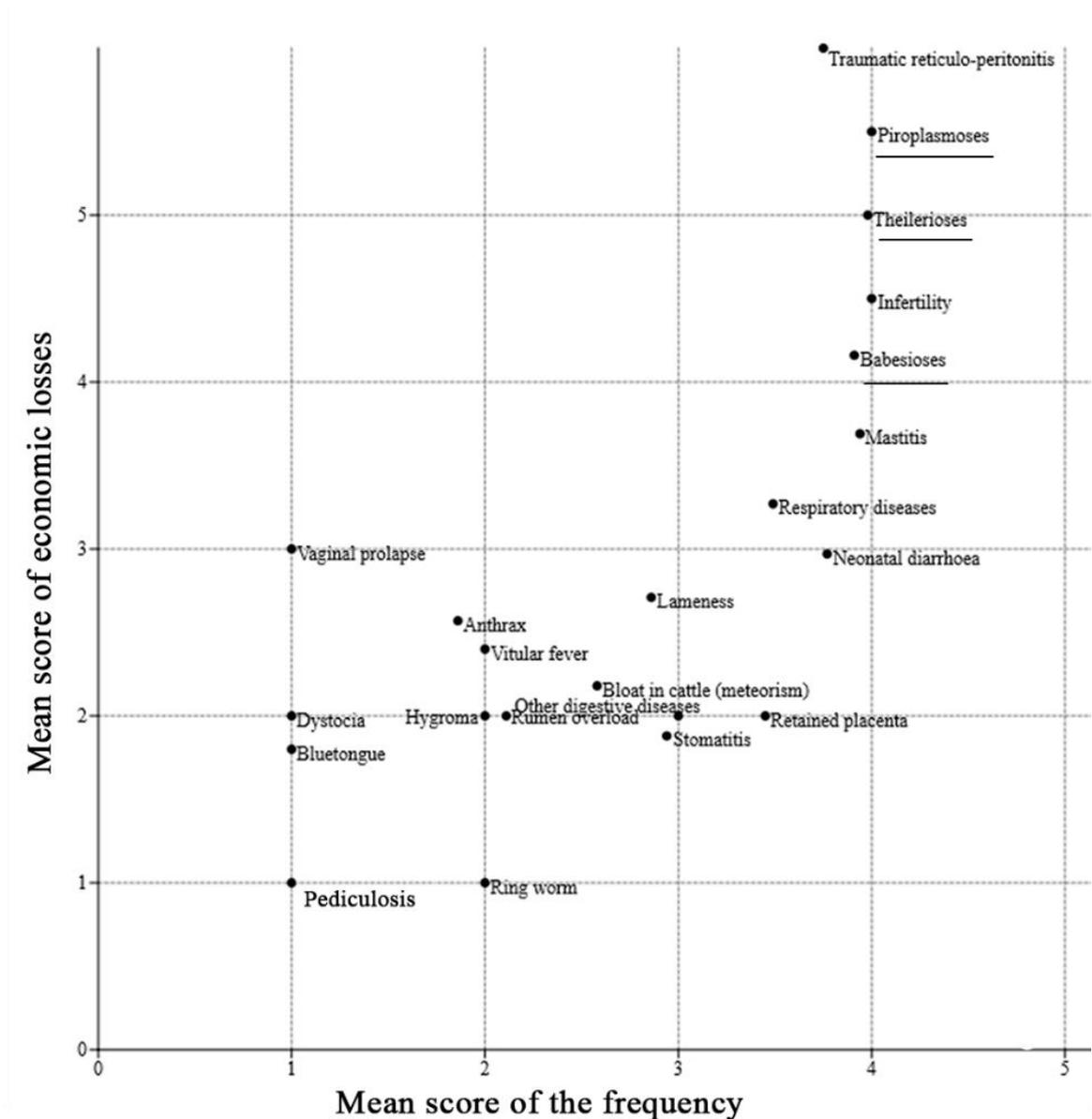
Selon les éleveurs, les piroplasmoses et l'infertilité sont les maladies les plus fréquentes (score moyen 4/6). En revanche, le prolapsus vaginal, les dystocies, les phtirioses et la « bluetongue » été classées comme peu fréquentes (score moyen 1/6) (Figure 3.2).



Mal. : maladies ; Mét : Métaboliques.

**Figure 3.2 :** Pourcentage des éleveurs de bovins ayant cité chaque maladie dans la commune de Beni Hamidène, Wilaya de Constantine.

D'après les éleveurs, la réticulo-péritonite traumatique entraîne de très lourdes pertes économiques (score moyen 6/6). Cependant, les phtirioses et les teignes entraînent des pertes économiques relativement faibles (score moyen 1/6). Les éleveurs considèrent que les pertes économiques engendrées par la theilériose sont légèrement plus élevées que celles provoquées par la babésiose (score moyen respectivement de 5/6 et 4.2/6) (Figure 3.3).



**Figure 3.3 :** Relation entre le score moyen de la fréquence de chaque maladie et le score moyen relatifs aux pertes économiques selon les éleveurs de la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine.

Le tableau 3.1 Représente les données collectées sur le premier exercice ; la technique d'empilement proportionnel a été utilisée pour citer les maladies les plus fréquentes et estimer leurs fréquences, les entretiens semi-structurés et les questions d'approfondissements ont été utilisés pour connaître l'étiologie des maladies et l'attitudes des éleveurs interviewés.

**Tableau 3.1 :** Maladies des bovins les plus courantes, leurs étiologies selon les éleveurs de la commune de Beni Hamidène, Wilaya de Constantine.

| <b>Maladie</b>   | <b>Étiologie</b>  | <b>Attitude des éleveurs</b>   |
|--|---|--|
| <b>Maladies parasitaires</b>   |   |  |
| <u>Teignes (5/73 ; 6,8%)</u><br>Maladie zoonotique (1/5), contagieuse (1/5). Dépilations circulaires (5/5). Non prurigineuses (4/5).   | Ne sait pas (5/5).  | Traitement local (mélange de soufre et d'huile d'olive) (5/5).   |
| <u>Phthiriose (1/73 ; 1,4%)</u><br>Démangeaisons (1/1). Présence de poux et de lentes (1/1).   | Poux (1/1).   | Phoxime (1/1).<br>Fluméthrine (1/1).   |
| <u>Maladies respiratoires (41/73 ; 56,2%)</u><br>Fréquentes en automne (2/41) et en hiver (8/41).<br>Dyspnée (18/41). Bruits respiratoires audibles au voisinage du bovin malade (12/41). Toux (13/41). Jetage nasal (8/41). Amaigrissement (9/41). Mort de l'animal (4/41). | Manque d'hygiène (11/41). Inhalation de poussières (9/41). Mauvaise ventilation dans les étables (4/41). Litière (absente 7/41, insuffisante 5/41 ; sale 3/41). Ration alimentaire non équilibrée (2/41). Étable non conforme aux normes (1/41).<br>Ne sait pas (9/41). | Les éleveurs donnent de l'albendazole aux bovins malades, en cas de non guérison ils appellent un vétérinaire (6/41).<br>Appellent un vétérinaire (35/41).   |
| <b>Maladies digestives</b>   |   |  |
| <u>Stomatites (16/73 ; 21,9%)</u><br>Inflammation de la bouche (10/16). Ptyalisme (6/16). Glossite (2/16). Anorexie (1/16). Lésions linguales (4/16). Lésions labiales (1/16).   | Présence d'objet contondant dans le foin (1/16). Ne sait pas (15/16).   | Utilisation de l'alun (9/16).<br>Traitement à base d'un mélange de sel, d'oignon et de vinaigre (en cas de non amélioration, ils appellent un vétérinaire) (6/19).<br>Enlève les papilles gustatives avec une pince à épiler (1/16). |

|   |  |  |
|---|--|--|
| <p><u>Météorisation (11/73 ; 15,1%)</u></p> <p>Accumulation de gaz dans le rumen (8/11). Gonflement du flanc gauche (4/11). Mort de l'animal (1/11).</p>  | <p>Changement brutal de ration alimentaire sans période de transition (1/11). Ne sait pas (10/11).</p>   | <p>Mélange de 0,5 L d'eau, 0,5 L d'huile et un sachet de poudre complexe (mélange de propionate de sodium et d'oligo-éléments) (7/11).</p> <p>Appellent un vétérinaire (4/11).</p>   |
| <p><u>Surcharge du rumen (9/73 ; 12,3%)</u></p> <p>Arrêt de la rumination (7/9). Pronostic vital engagé (2/9). Mort de l'animal (2/9).</p>  | <p>Changement brutal de la ration alimentaire sans période de transition (6/9). Ne sait pas (3/9).</p>   | <p>Mélange de 0,5 L d'eau, 0,5 L d'huile et un sachet de poudre complexe (mélange de propionate de sodium et d'oligo-éléments) (4/9).</p> <p>Appellent un vétérinaire (5/9).</p>   |
| <p><u>Réticulo-péritonite traumatique (4/73 ; 5,5%)</u></p> <p>Anorexie (3/4). Amaigrissement (4/4). Bovin a du mal à monter une pente (1/4). Pronostic vital engagé (1/4). Mort de l'animal (1/4).</p> | <p>Ingestion d'un corps étranger (objet métallique contondant) (3/4). Ne sait pas (1/4).</p>   | <p>Appellent du vétérinaire pour faire ingérer à l'animal malade un aimant (4/4).</p>  |
| <p><u>Diarrhées néonatales (30/73 ; 41,1%)</u></p> <p>Émission de selles trop fréquentes et trop liquide par jour (13/30). Taux de mortalité élevé (10/30). Retard de croissance des veaux (7/30).</p>  | <p>Consommation excessive du lait (28/30). Reconstitution de la poudre de lait inadéquate (1/30). Consommation de lait chaud (1/30). Consommation d'eau sale. (1/30). Saison : printemps (1/30).</p> | <p>Diminue la quantité de lait au veau malade (18/30). Diminue la quantité de lait et donne un anti diarrhéique. (6/30). Donne un anti-diarrhéique (5/30). Donne du riz bouilli au veau malade (1/30). En cas de non amélioration, ils appellent un vétérinaire.</p> |
| <p><u>Autres affections digestives (4/73 ; 5,5%)</u></p> <p>Autopsie : intestins congestionnés (4/4). Diarrhée (2/4). Amaigrissement (2/4).</p>   | <p>Ne sait pas (4/4).</p>  | <p>Appellent un vétérinaire (4/4).</p>   |

| <b>Troubles de la reproduction</b>  |  |   |
|---|--|---|
| <u><i>Dystocies</i></u> (1/73 ; 1,4%)<br>Difficulté de mise-bas (1/1).  | Génisse n'a pas atteint le poids ni l'âge pour se reproduire (1/1).  | Appelle un vétérinaire (1/1).   |
| <u><i>Mammites</i></u> (16/73 ; 21,9%)<br>Mamelle gonflée (11/16), chaude (5/16), rouge (12/16), douloureuse (6/16), de consistance dure (2/16). Aspect du lait modifié (6/16). | Manque d'hygiène des étables (5/16). Mauvaise utilisation de la machine à traire (4/16). Traite incomplète (3/16). Litière (mauvaise 6/16 ou absente 3/16). Microbes (2/16). | Utilisation de seringues intramammaires (12/16).<br>Utilisation du miel (3/16).<br>Utilisent les seringues intramammaires et le miel (1/16).<br><br>En cas de non amélioration, ils appellent un vétérinaire. |
| <u><i>Rétention placentaire</i></u> (11/73 ; 15,1%)<br>La non-expulsion des annexes fœtales dans les 24 heures suivant le vêlage (10/11).                                       | Ne sait pas (11/11).   | Appellent un vétérinaire (6/11).<br><br>Chauffent des graines d'orge et les donnent aux vaches, si non expulsion des annexes fœtales, ils appellent un vétérinaire (5/11).                                    |
| <u><i>Infertilité</i></u> (4/73 ; 5,5%)<br>Allongement de l'intervalle vêlage-vêlage (4/4).   | Insémination artificielle : semence de mauvaise qualité (3/4), incoordination entre éleveur et les vétérinaire (2/4). Vétérinaire arrive en retard (3/4).                    | Appellent un vétérinaire (4/4).   |
| <u><i>Prolapsus vaginal</i></u> (1/73 ; 1,4%)<br>Se produit pendant ou après le vêlage (1/1).   | Ne sait pas (1/1).   | Appelle un vétérinaire (1/1).   |
| <b>Maladies podales</b>   |  |   |

|  |  |  |
|--|--|--|
| <p><u>Boiteries (7/73 ; 9,6%)</u></p> <p>Douleur (5/7). Boiterie (4/7). Anorexie (2/7). Lésions podales (1/7). Amaigrissement (2/7). Hypogalactie (2/7).</p>   | <p>Aliments concentrés (4). Manque d'hygiène des étables (2/7). Litière mauvaise ou absente (2/7).</p> | <p>Nettoient la plaie, puis appliquent l'oxytétracycline spray (4/7).</p> <p>Appellent un vétérinaire (3/7).</p> |
| <p><u>Autres affections du pied (3/73 ; 4,1%)</u></p> <p>Douleur (3/3). Lésions podales (3/3).</p>   | <p>Aliments concentrés (1/3). Systèmes de stabulation (1/3). Ne sait pas (2/3).</p>                    | <p>Appellent un vétérinaire (3/3).</p>   |
| <p><b>Maladies infectieuses</b></p>  |  |  |
| <p><u>Bluetongue (5/73 ; 6,8%)</u></p> <p>Ptyalisme (5/5). Cyanose de la langue (5/5). Présence de boutons sur les lèvres (1/5).</p>   | <p>Foin contient plein d'épines (1/5). Ne sait pas (4/5).</p>  | <p>Appellent un vétérinaire (5/5).</p>   |
| <p><u>Charbon bactérien (7/73 ; 9,6%)</u></p> <p>Maladie rare (7/7), mais elle a maintenant disparu (7/7). Sang noir (5/7), incoagulable (3/5). Hémorragie des cavités naturelles (1/7). Mort foudroyante (7/7).</p> | <p>Ne sait pas (7/7).</p>  | <p>Appellent un vétérinaire (7/7).</p>   |
| <p><b>Maladies métaboliques</b></p>  |  |  |
| <p><u>Fièvre vitulaire (5/73 ; 6,85%)</u></p> <p>Apparaît dans les heures qui suivent le vêlage (5/5).</p>   | <p>Ration alimentaire déséquilibrée (3/5). Ne sait pas (2/5).</p>                                      | <p>Appellent un vétérinaire (5/5).</p>   |

### 3.4.2. Facteur de risque des piroplasmoses bovines

La majorité des participants (63/73 ; 86,3%) ont déclaré que toutes les espèces de tiques, gorgées ou non, peuvent transmettre les piroplasmoses.

Peu de participants (8/73 ; 10,96%) ont indiqué que les étables mal conçues et le manque d'hygiène sont des facteurs de risque majeurs pour les piroplasmoses. Un seul pense que l'immunodépression est un facteur de risque de piroplasmoses.

La quasi-totalité des éleveurs interviewés (71/73 ; 97,3%) ont mentionné que la période chaude est un facteur de risque de piroplasmoses. Ils ont utilisé de nombreuses expressions, à savoir la chaleur (67,6% ; 48/71), la saison estivale (60,6% ; 43/71) et le soleil (38,0% ; 27/71) et un seul éleveur a cité le sirocco.

Selon certains éleveurs, le manque d'eau (34/73 ; 46,6%), la présence de mouches piqueuses et hématophages (*Hippobosca*) (4/73 ; 5,5%), les nuages (2/73 ; 2,7%) et le sable (1/73 ; 1,4%) sont des facteurs de risque.

Il est à noter que tous les éleveurs ont utilisé le terme « piroplasmoses » sans distinction entre les babésioses et la theilériose.

### 3.4.3. Différence entre la theilériose et la babésiose

Un tiers des éleveurs (22/73 ; 30,1%) ont déclaré que les vétérinaires étaient les mieux placés pour répondre à cette question et plus de la moitié (46/73 ; 63,0%) pensaient au début de leurs carrières, qu'il n'y avait qu'un seul type de piroplasmose.

Selon certains éleveurs (9/73 ; 12,3%), en arabe vernaculaire, la theilériose tropicale signifie le noir et la malchance associée à un pronostic vital sombre. Cependant, la babésiose se traduit par une coloration jaunâtre des conjonctives (14/73 ; 23,3%).

Plus d'un tiers des éleveurs interviewés (25/73 ; 34,3%) pensaient que la theilériose est plus dangereuse que la babésiose et seulement 6,9% (5/73) pensaient le contraire. Selon 20,6% (15/73) des éleveurs, la babésiose est plus fréquente que la theilériose et seulement 9,6% (7/73) pensaient l'inverse.

Presque le tiers des participants (21/73 ; 28,8%) déclaraient que la race locale Brune de l'Atlas est plus résistante que les autres races bovines et seulement 8,2% (6/73) pensaient que les bovins peuvent être co-infectés par *Theileria* et *Babesia*. Certains éleveurs (15/73 ; 20,6%) ont mentionné que les tiques vectrices sont présentes uniquement dans les pâturages.

La majorité des éleveurs (66/73 ; 90,4%) ont déclaré que l'avortement est provoqué par les piroplasmés. Cependant, certains éleveurs (7/73 ; 9,6%) pensaient que l'avortement est dû aux traitements et non aux parasites (*Theileria* ou *Babesia*).

La majorité des éleveurs ont accepté de faire le dernier exercice concernant les symptômes associés à la theilériose (86,3% ; 63/73) et les babésioses (87,7% ; 64/73) (tableau 3.2).

Selon certains éleveurs (17/64 ; 26,6%), l'écoulement nasal jaune est observé chez les bovins atteints de babésiose clinique.

Près de la moitié des participants (46,9% ; 30/64 et 46,0% ; 29/63) ne savaient pas si l'anémie est observée respectivement lors de la babésiose et de la theilériose.

Tous les éleveurs (63/63) ont déclaré que la fièvre est un symptôme associé à la theilériose (score moyen 5,6/6). Presque la quasi-totalité (61/64 ; 95,3%) ont déclaré que l'ictère est le symptôme le plus courant de la babésiose.

Selon 50 et 42,2% des participants, respectivement, l'hypertrophie des nœuds lymphatiques et les pétéchies oculaires/vulvaires sont des symptômes associés à la babésiose. Pour la majorité des éleveurs, La présence de tiques sur les bovins est associée à la theilériose (57/63 ; 90,5%) et la babésiose (57/64 ; 89,1%).

Selon la quasi-totalité des participants 95,2% (60/63) et 92,2% (59/64), la theilériose et la babésiose sont responsables de la diminution de la production laitière.

**Tableau 3.2 :** Symptômes associés aux piroplasmoses et leurs fréquences selon les éleveurs de Beni Hamidène, Wilaya de Constantine.

| Symptômes                                  | Theilérioses        |                            |                             | Babésioses               |                     |                            |                             |                        |
|--|---------------------|----------------------------|-----------------------------|--------------------------|---------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------|
|  | Absent (%)          | Nombre d'éleveurs (% ± ET) | Score moyen de la fréquence | Ne savaient pas (% ± ET) | Absent (%)          | Nombre d'éleveurs (% ± ET) | Score moyen de la fréquence | Ne savait pas (% ± ET) |
| <b>Hypertrophie des nœuds lymphatiques</b> | 3/63 (4,8 ± 5,3)    | 52/63 (82,5 ± 9,4)         | 4,5                         | 8/63 (12,7 ± 8,2)        | 23/64 (35,9 ± 11,8) | 32/64 (50 ± 12,3)          | 3,8                         | 9/64 (14,1 ± 8,5)      |
| <b>Pétéchies oculaires/vulvaires</b>       | 5/63 (7,9 ± 6,7)    | 49/63 (77,8 ± 10,3)        | 4,6                         | 9/63 (14,3 ± 8,64)       | 27/64 (42,2 ± 12,1) | 27/64 (42,2 ± 12,1)        | 3,5                         | 10/64 (15,6 ± 8,9)     |
| <b>Anémie</b>                              | 12/63 (19,1 ± 9,7)  | 22/63 (34,9 ± 11,8)        | 3,8                         | 29/63 (46,0 ± 12,3)      | 9/64 (14,1 ± 8,5)   | 25/64 (39,1 ± 11,95)       | 3,8                         | 30/64 (46,9 ± 12,2)    |
| <b>Ictère</b>                              | 37/63 (58,7 ± 12,2) | 25/63 (39,7 ± 12,1)        | 4,1                         | 1/63 (1,6 ± 3,1)         | 1/64 (1,6 ± 3,0)    | 61/64 (95,3 ± 5,2)         | 4,6                         | 2/64 (3,1 ± 4,3)       |
| <b>Hémoglobinurie</b>                      | 11/63 (17,5 ± 9,4)  | 32/63 (50,8 ± 12,4)        | 3,9                         | 20/63 (31,7 ± 11,5)      | 16/64 (25 ± 10,6)   | 30/64 (46,9 ± 12,2)        | 3,6                         | 18/64 (28,1 ± 11,0)    |
| <b>Anorexie</b>                            | 3/63 (4,8 ± 5,3)    | 54/63 (85,7 ± 8,6)         | 4,7                         | 6/63 (9,5 ± 7,3)         | 1/64 (1,6 ± 3,0)    | 58/64 (90,6 ± 7,1)         | 4,1                         | 5/64 (7,8 ± 6,6)       |
| <b>Apathie</b>                             | 0/63                | 59/63 (93,7 ± 6,0)         | 4,9                         | 4/63 (6,4 ± 6,0)         | 2/64 (3,1 ± 4,3)    | 56/64 (87,5 ± 8,1)         | 4,2                         | 6/64 (9,4 ± 7,1)       |
| <b>Fièvre</b>                              | 0/63                | 63/63(100)                 | 5,6                         | 4/63 (6,4 ± 6,0)         | 0/64                | 59/64 (92,2 ± 6,6)         | 4,3                         | 5/64 (7,8 ± 6,6)       |
| <b>Diarrhée</b>                            | 23/63 (36,5 ± 11,9) | 30/63 (47,6 ± 12,3)        | 4                           | 10/63 (15,9 ± 9)         | 25/64 (39,1 ± 39,1) | 31/64 (48,4 ± 12,2)        | 3,2                         | 8/64 (12,5 ± 8,1)      |
| <b>Hypogalactie</b>                        | 0/63                | 60/63 (95,2 ± 5,3)         | 5,3                         | 2/63 (3,2 ± 4,3)         | 3/64 (4,7 ± 5,2)    | 59/64 (92,2 ± 6,6)         | 4,2                         | 2/64 (3,1 ± 4,3)       |
| <b>Avortement</b>                          | 14/63 (22,2 ± 10,3) | 43/63 (68,3 ± 11,5)        | 4,4                         | 6/63 (9,5 ± 7,3)         | 24/64 (37,5 ± 11,9) | 33/64 (51,6 ± 12,2)        | 4,1                         | 7/64 (10,9 ± 7,7)      |

|                                    |                     |                       |     |                  |                    |                     |     |                   |
|------------------------------------|---------------------|-----------------------|-----|------------------|--------------------|---------------------|-----|-------------------|
| <b>Tiques sur les bovins</b>       | 3/63 (4,8 ± 5,3)    | 57/63 (90,5 ± 7,3)    | 4,6 | 3/63 (4,8 ± 5,3) | 2/64 (3,1 ± 4,3)   | 57/64 (89,1 ± 7,7)  | 4,2 | 5/64 (7,8 ± 6,6)  |
| <b>Mort</b>                        | 5/63 (7,9 ± 6,7)    | 55/63 (87,3 ± 8,2)    | 4,1 | 3/63 (4,8 ± 5,3) | 12/64 (18,8 ± 9,6) | 50/64 (78,1 ± 10,1) | 3,4 | 2/64 (3,1 ± 4,3)  |
| <b>Ptyalisme</b>                   | 1/63 (1,6 ± 3,1)    | 18/63 (28,6 ± 11,2)   | 3,7 | 2/63 (3,2 ± 4,3) | 5/64 (7,8 ± 6,6)   | 13/64 (20,3 ± 9,9)  | 3,7 | 1/64 (1,6 ± 3,0)  |
| <b>Constipation</b>                | 0/63                | 5/63 (7,9 ± 6,7)      | 4   | 0/63             | 1/64 (1,6 ± 3)     | 5/64 (7,8 ± 6,6)    | 4   | 0/64              |
| <b>Jetage nasal</b>                | 15/63 (23,8 ± 10,5) | 1/63 (1,6 ± 3,1)      | 2   | 0/63             | 0/64               | 17/64 (26,6 ± 10,8) | 4,8 | 0/64              |
| <b>Toux</b>                        | 0/63                | 8/63 (12,7 ± 8,2)     | 5,3 | 0/63             | 2/64 (3,1 ± 4,3)   | 7/64 (10,9 ± 7,7)   | 4,6 | 7/64 (10,9 ± 7,7) |
| <b>Dyspnée</b>                     | 0/63                | 2/63 (3,2 ± 4,3)      | 2,5 | 0/63             | 0/64               | 2/64 (3,1 ± 4,3)    | 2,5 | 0/64              |
| <b>Larmolement</b>                 | 1/63 (1,6 ± 3,1)    | 12/63 (19,1 ± 9,7)    | 4,1 | 3/63 (4,8 ± 5,3) | 4/64 (6,3 ± 5,9)   | 13/64 (20,3 ± 9,9)  | 3,3 | 0/64              |
| <b>Bouge ses oreilles</b>          | 3/63 (4,8 ± 5,3)    | 22/63 (34,9 ± 11,8)   | 4,8 | 0/63             | 5/64 (7,8 ± 6,6)   | 20/64 (31,3 ± 11,4) | 4,3 | 0/64              |
| <b>Poils hérissés</b>              | 2/63 (3,2 ± 4,3)    | 12/63 (19,1 ± 9,7)    | 4,4 | 0/63             | 0/64               | 14/64 (21,9 ± 10,1) | 3,8 | 3/64 (4,7 ± 5,2)  |
| <b>Pica</b>                        | 0/63                | 1/63 (1,6 ± 3,1)      | 6   | 0/63             | 1/64 (1,6 ± 3)     | 0/64                | 0   | 0/64              |
| <b>Ne boit pas</b>                 | 0/63                | 1/63 (1,6 ± 3,1)      | 3   | 0/63             | 0/64               | 1/64 (1,6 ± 3,0)    | 1   | 0/64              |
| <b>Cherche des zones ombragées</b> | 0/63                | 17/63 (26,98 ± 10,96) | 5,1 | 0/63             | 1/64 (1,6 ± 3)     | 13/64 (20,3 ± 9,9)  | 4,6 | 0/64              |
| <b>Démarche hésitante</b>          | 0/63                | 3/63 (4,8 ± 5,3)      | 4,7 | 0/63             | 1/64 (1,6 ± 3,0)   | 3/64 (4,7 ± 5,2)    | 2,3 | 0/64              |
| <b>Refuse de pâturer</b>           | 0/63                | 7/63 (11,1 ± 7,8)     | 4,7 | 0/63             | 0/64               | 9/64 (14,1 ± 8,5)   | 3,9 | 0/64              |
| <b>Amaigrissement</b>              | 2/63 (3,2 ± 4,3)    | 19/63 (30,2 ± 11,3)   | 4,9 | 0/63             | 4/64 (6,3 ± 5,9)   | 17/64 (26,6 ± 10,8) | 3,9 | 0/64              |

#### 3.4.4. Impact économique

L'exercice d'empilement proportionnel a été utilisé afin d'estimer les pertes économiques liées aux piroplasmoses bovines.

Selon les éleveurs, le délai d'attente des babésicides est à l'origine d'importantes pertes économiques : perte en lait (7 jours) et retard d'abattage des bovins (90 jours).

Tous les éleveurs interviewés (73/73) pensaient que la viande des animaux traités contre les piroplasmoses ne pourra pas être consommée par l'homme pendant une longue période.

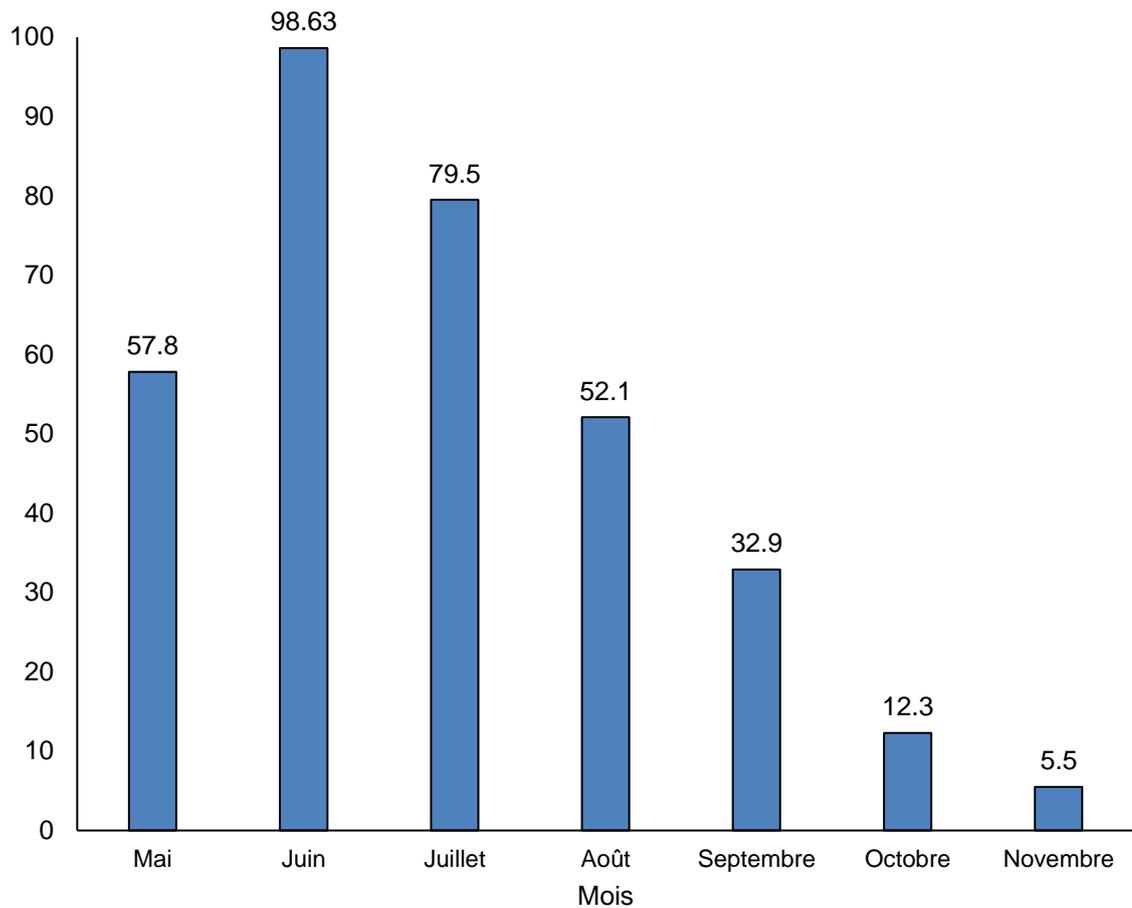
#### 3.4.5. Risque zoonotique

Aucune maladie zoonotique n'a été citée par les éleveurs. La majorité (51/73 ; 69,9%) ont déclaraient que la babésiose n'est pas une maladie zoonotique, le reste des participants (22/73 ; 30,2%) n'avaient aucune idée sur cet aspect.

#### 3.4.6. Incidence mensuelle des piroplasmoses bovins

Selon les éleveurs, les piroplasmoses apparaissent de mai à novembre avec un pic en juin (98,6%). Le nombre de cas cliniques diminue progressivement à partir de septembre (Figure 3.4).

Incidence mensuelle (%)



**Figure 3.4 :** Incidence mensuelle des piroplasmoses bovines selon les éleveurs de la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine, Algérie.

### 3.4.7. Attitude et pratique des éleveurs

#### 3.4.7.1. Traitement

Avant de traiter le bovin malade, certains éleveurs (21/73 ; 28,8%) ont déclaré ne pas laisser l'animal malade paître, d'autres (13/73 ; 17,8%) le font doucher et mettent des torchons humides avec de l'eau froide sur le bovin malade afin de faire baisser la température. Deux éleveurs (2,7%) ont lissé les murs de leurs bâtiments d'élevage avant de les peindre et un seul (1,4%) utilise des acaricides pour lutter

contre les tiques, un autre a indiqué isoler le bovin malade avant l'arrivée du vétérinaire.

Quant au traitement proprement dit, plus de la moitié des éleveurs (39/73 ; 53,4%) font appel à un vétérinaire. D'autres (26/73 ; 35,6%) utilisent des plantes médicinales, s'il n'y a pas d'amélioration clinique, ils appellent un vétérinaire. Le reste des participants (8/73 ; 10,96%) utilisent uniquement des plantes médicinales.

#### 3.4.8. Létalité

La majorité des participants (87,3% ; 55/63) pensaient que la theilériose est une maladie mortelle (score moyen 4,1/6). La même tendance a été observée pour la babésiose (78,1% ; 50/64) avec un score moyen de 3,4/6. Peu d'éleveurs, ne savaient pas si la theilériose (9,5%) ou la babésiose (3,1%) sont des maladies mortelles ou pas.

#### 3.4.9. Les différents concepts de prévention contre les piroplasmoses selon les éleveurs

Selon les éleveurs, certaines mesures peuvent réduire le risque ou prévenir l'apparition de piroplasmoses : (i) accès libre à l'eau potable (37/73 ; 50,7%), (ii) bâtiments conformes aux normes avec des murs dépourvus de crevasses et des façades lisses (32/73 ; 43,9%), (iii) une bonne hygiène dans les étables ainsi qu'une litière de bonne qualité (24/73 ; 32,9%), et une ration alimentaire équilibrée (8/73 ; 10,96%). La majorité éleveurs (65/73 ; 89,0%) déclaraient que l'utilisation d'acaricides est la meilleure stratégie de prévention contre les piroplasmoses.

Pendant la saison chaude et pour éviter les températures élevées, 47,95% (35/73) des participants font paître les bovins tôt le matin et certains d'entre eux (3/73 ; 4,1%) pensaient que la prise quotidienne de la température corporelle avec un thermomètre électronique est importante pour évaluer l'état de santé du bovin.

La formation et la sensibilisation des éleveurs sur les maladies les plus fréquentes en élevage bovin, en particulier les piroplasmoses, l'utilisation du

système de rotation des prairies, l'inspection des muqueuses oculaires et vaginales bovines et l'utilisation de plantes médicinales ont été citées chacune par un éleveur comme des moyens de prévention contre les piroplasmoses.

### 3.5. Discussion

Dans la présente étude, l'enquête participative avait pour but d'apprécier les connaissances, les attitudes et la perception des piroplasmoses bovines par les éleveurs de bovins dans la commune de Beni Hamidène, Wilaya de Constantine.

L'interprétation des résultats a été parfois difficile en raison du nombre élevé de réponses données par les éleveurs. L'enquête participative a fourni des résultats qualitatifs et semi-quantitatifs. Enfin, l'épizootie de la fièvre aphteuse qui s'est produite à Beni Hamidène en 2014 a créé un climat de méfiance chez les éleveurs de bovins pour participer aux enquêtes sur la santé animale.

Selon les éleveurs enquêtés, plusieurs maladies sont fréquentes dans leurs troupeaux : les maladies parasitaires, respiratoires, digestives, infectieuses, métaboliques, les troubles de la reproduction, ainsi que les atteintes de l'appareil locomoteur. Les theilérioses et les babésioses étaient classées comme des maladies très fréquentes et elles étaient citées respectivement par 67,1% (49/73) et 60,3% (44/73) des éleveurs de bovins. Une enquête participative réalisée à Macarena en Colombie a révélé que les maladies carencielles, toxiques, parasitaires, infectieuses et métaboliques étaient perçues comme les plus courantes par les éleveurs interviewés [343].

Dans la présente étude, aucune maladie zoonotique n'a été citée par les éleveurs, ceci pourrait s'expliquer par le manque de connaissances des participants sur ces maladies et l'absence de symptômes pathognomoniques qui permettent d'établir un diagnostic de certitude comme cela a été rapporté par NTHIWA et al. [344]. En Algérie, plusieurs études ont été réalisées sur les zoonoses d'origine bovine telles que la tuberculose [345] ; [346] ; [347] et la brucellose [348] ; [349] ; [350] ; [351] ; [352]. Les zoonoses bovines occupent une place importante en

Algérie, elles sont à l'origine de grands problèmes sanitaires et représentent de ce fait un frein au développement des élevages.

*Ixodes ricinus* est présente dans la région de Constantine [329] mais les éleveurs enquêtés n'étaient pas au courant du risque zoonotique lors de la pique par cette espèce.

Le manque d'informations sur le risque zoonotique de *Babesia divergens* pourrait s'expliquer par l'absence d'informations et de sensibilisation des éleveurs de bovins. Ceci pourrait être dû aussi à la très faible biomasse d'*Ixodes ricinus* en Afrique du nord. De plus, cette zoonose est rare même dans les pays où la tique vectrice est fréquente. Au Pays-Bas, malgré la présence de *Babesia divergens*, aucun cas de babésiose humaine n'a été signalé dans ce pays [353]. ASENSI et al. [354] ont décrit un cas mortel dû à une infection par *B. divergens* chez une femme âgée dans le nord-ouest de l'Espagne, Il s'agit du troisième cas de babésiose mortelle rapporté au cours des 15 dernières années en Europe. En Belgique, LEMPEREUR et al. [24] ont rapporté une séroprévalence de 33,2% (66/199) chez des personnes ayant des antécédents de morsures de tiques et des tableaux cliniques de maladies transmises par les tiques.

Presque tous les éleveurs interviewés (95,2% ; 60/63) savent que la theilériose induit une chute brutale de la production laitière. À Skikda, AYADI et al. [204] ont rapporté que la baisse moyenne de la production laitière était en moyenne de 31,9% chez 10 vaches de race croisée atteintes de theilériose tropicale bovine.

Près de la moitié des participants (30/64 ; 46,9%) pensaient que l'hémoglobinurie est un symptôme de la babésiose. De même, les éleveurs de bovin de la région de la Macarena en Colombie ont mentionné l'hémoglobinurie comme étant un symptôme caractéristique de la babésiose [343].

Selon la majorité des éleveurs, la présence de tiques, la fièvre, l'anorexie, l'abattement et l'hypogalactie sont des symptômes associés aux piroplasmoses bovines. Tous les éleveurs (63/63) savent que la fièvre est un symptôme fréquent de la theilériose. C'est un symptôme extrêmement fréquent, il a été observé dans

plusieurs pays : en Algérie [76] ; [17], en Tunisie [355], en Égypte [356] et en Chine [306].

L'indistinction entre la theilériose et les babésioses a concerné 19,2% (14/73) des éleveurs. D'ailleurs, 50% (32/64) et 42,2% (27/64) (27/64) ont cité respectivement l'hypertrophie des nœuds lymphatiques et les pétéchies, comme des symptômes des babésioses.

Près d'un tiers (28,8% ; 21/76) des participants savent que la race locale Brune de l'Atlas est plus résistante que les races bovines exotiques. Cette résistance a été rapportée par plusieurs auteurs en Afrique du Nord [185] ; [357] ; [80].

Certains éleveurs (15/73 ; 20,6%) ne savaient pas que *Hyalomma scupense*, le principal vecteur de *T. annulata* en Afrique du Nord est une tique endophile [286] ; [329]. La méconnaissance de cette spécificité a un impact très négatif sur la réussite de toute action de lutte contre ces vecteurs.

Selon 20,6% (15/73) des éleveurs interviewés, la babésiose est plus fréquente que la theilériose. Cependant, des études réalisées au nord d'Algérie [76] ; [260] ; [17], en Tunisie [68] ; [79], au Maroc [80], en Iran [358], en Égypte [359] et en Turquie [360] ont rapporté une tendance inverse.

Presque tous les éleveurs (71/73 ; 97,3%) savent que les piroplasmoses surviennent pendant la saison chaude. D'ailleurs, ZIAM et al. [17] ont rapporté qu'en été, la theilériose tropicale bovine est la maladie la plus fréquente des bovins dans le Nord Centre du pays. En Algérie, la majorité des cas cliniques de babésioses bovines surviennent pendant l'été correspond à la période d'activité de la tique vectrice *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* [361].

Presque tous les éleveurs interviewés (65/73 ; 89,0%) considèrent que les acaricides sont le meilleur outil de lutte contre les tiques. Cependant, Aucun éleveur n'a mentionné que la lutte contre les tiques nécessite un programme rigoureux avec des applications répétées. De plus, aucun éleveur n'a évoqué le risque de

développement de résistances par les tiques aux acaricides. Néanmoins, ce problème a été rapporté par plusieurs auteurs [362] ; [363]. En Algérie, les vétérinaires praticiens ont observé ces dernières années des résistances des tiques aux acaricides [364].

Près de la moitié des propriétaires de bovins (32/73 ; 43,8%) sont conscients que les bâtiments d'élevage dont les murs sont dépourvus de crevasses et de fissures pourraient réduire le risque de la theilériose tropicale bovine [262] ; [114]. Ces réponses sont en contradiction avec le fait que les éleveurs ne soient pas au courant que le vecteur de *T. annulata* est endophile. Un seul éleveur a mentionné que les bovins immunodéprimés ont plus de risque de développer une piroplasmose que les bovins immunocompétents. La theilériose et les babésioses sont effectivement des maladies étroitement liées au statut immunologique de l'hôte [107] ; [202].

*Hippobosca* est un insecte hématophage, il a été cité comme vecteur de piroplasmes par 5,5% (4/73) des éleveurs. Ces insectes sont des vecteurs de *Trypanosoma theileri* mais pas des piroplasmes [365].

Près de la moitié des éleveurs (34/73 ; 46,6%) utilisaient des plantes médicinales pour traiter leurs animaux contre les piroplasmoses. En absence d'amélioration clinique, 35,6% (26/73) d'entre eux faisaient appel au vétérinaire. Cela pourrait expliquer les taux élevés de létalités chez les bovins atteints de piroplasmoses et la fréquence élevée des échecs thérapeutiques.

### 3.6. Conclusion

L'utilisation de l'épidémiologie participative a permis de constater que la majorité des éleveurs interviewés ne font pas la distinction entre les babésioses et la et la theilériose. Les piroplasmoses bovines sont considérées comme des maladies très fréquentes par les éleveurs enquêtés. Cette étude a permis de faire le point sur les connaissances des piroplasmoses bovines par les éleveurs de la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine, elle a aussi révélé un manque flagrant de connaissances et d'informations sur l'écobiologie des tiques vectrices. Il

est nécessaire de mettre en œuvre un programme de sensibilisation sur les différents aspects des piroplasmoses bovines. Des programmes d'éducation sanitaire relatifs aux bonnes pratiques d'utilisation des acaricides pourraient aider les éleveurs à lutter plus efficacement contre les maladies vectorielles en particulier les piroplasmoses.

## CHAPITRE 4

### PRÉVALENCE DES HÉMOPATHOGENES (*THEILERIA*, *BABESIA* ET *ANAPLASMA*) DES BOVINS

#### 4.1. Introduction

Les piroplasmoses et les anaplasmoses sont des maladies vectorielles non contagieuses transmises par des arthropodes hématophages. La theilériose tropicale bovine est une protozoose affectant les leucocytes puis les hématies, elle est due à un protozoaire, *Theileria annulata*, et transmise par des tiques du genre *Hyalomma* [279] ; [179] ; [269] ; [366] ; [367]. Les babésioses sont des hémoparasitoses dues à la présence et à la multiplication dans les hématies de protozoaires du genre *Babesia* [21] ; [22] ; [24] ; [25]. Elles sont transmises par plusieurs espèces d'ixodidés, notamment les *Rhipicephalus* (*Boophilus*) [368] ; [99]. *Ixodes ricinus* transmet spécifiquement *B. divergens* [31]. Cette dernière n'a jamais été signalée en Algérie. L'infection par *Babesia bovis* est caractérisée par une fièvre, un ictère, une anémie, une hémoglobinémie, une hémoglobinurie, des symptômes respiratoires et nerveux [161] ; [35] ; [131] ; [369].

*Anaplasma marginale*, agent étiologique de la principale anaplasmoïse bovine [370] ; [218] ; [371] ; [372] ; [82] ; [373] ; [374] ; [375] ; [376] ; [377] est une bactérie intra-érythrocytaire stricte, à Gram négatif [248] ; [378] ; [274] ; [379], elle se transmet mécaniquement par des mouches piqueuses et biologiquement par les tiques [380] ; [375] ; [381] ; [377]. La maladie se manifeste par une fièvre, un amaigrissement, une anémie et des avortements [382] [383]. Ces trois infections provoquent d'importantes pertes économiques dans les élevages [299] ; [80] ; [384] ; [385].

Actuellement, quatre techniques de laboratoire sont utilisées pour identifier ces hémopathogènes : (1) l'étalement de sang coloré au Giemsa est la technique la plus rapide et la moins onéreuse [128] ; [33]. Elle permet l'estimation de la parasitémie, la mise en évidence d'autres hémopathogènes et la détection

d'éventuelles co-infections. Elle permet aussi la détection de leucocytes infectés par des schizontes de *Theileria annulata* dans un nœud lymphatique hypertrophié [265]. Cependant, l'étalement de sang coloré au Giemsa a une faible sensibilité lors des phases précoces et chroniques de la maladie [35] ; [377]. (2) le test ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) est utilisé pour détecter des anticorps spécifiques [159] ; [82], il possède une spécificité et une sensibilité élevées [157] et plusieurs échantillons peuvent être testés simultanément et rapidement [158]. L'ELISA devient positive environ 3 semaines après le début de l'infection, cette technique n'est utilisée que pour les études épidémiologiques afin de détecter les porteurs asymptomatiques ayant une faible parasitémie. (3) L'immunofluorescence indirecte (IFI) est utilisée pour les mêmes fins [154] mais elle est chronophage et son interprétation est parfois difficile.

(4) Plusieurs variantes de la technique PCR sont utilisées pour la détection des hémopathogènes (PCR conventionnelle, PCR nichée, PCR en temps réel, PCR multiplex, PCR-RFLP, reverse line blot), elles se caractérisent par une sensibilité et une spécificité élevées [149] ; [141] ; [137] ; [98] ; [150] ; [151] ; [35] ; [256] ; [160]. Cependant, ces techniques sont relativement coûteuses [152] et ne font pas la différence entre les porteurs asymptomatiques et les animaux malades.

La présente étude a pour objectif d'estimer la prévalence de la piroplasmose et de l'anaplasmose chez les bovins dans la commune de Beni Hamidène, Wilaya de Constantine, Algérie.

## 4.2. Matériel et méthodes

### 4.2.1. Zone d'étude

Ce travail a été réalisé dans la commune de Beni Hamidène, Wilaya de Constantine, Algérie (Cf. chapitre 3, pages 69 - 70).

#### 4.2.2. Élevage et animaux

Une étude transversale a été réalisée entre juin et octobre 2014 dans 25 élevages faisant partie de la clientèle de trois vétérinaires libres-praticiens, répartis dans 10 localités de la commune de Beni Hamidène (Merra Soufla, Chaibiya, Elswiri, Ain Bouchdika, Ouled Niya, Elhwima, Elhamri Soufli, Sidi Idriss, Elhamri Oulwi et Beni Hamidène). Parmi les 248 bovins présents, 169 ont été inclus dans la présente étude. Les animaux ayant reçu un traitement piroplasmicide durant les deux derniers mois avant le début de l'étude ont été exclus. La taille moyenne des troupeaux étudiés était de 10 bovins (valeurs extrêmes : 2 à 40 bovins).

Presque la moitié des élevages étaient laitiers (12/25) et autant étaient mixtes (12/25), un seul (1/25) était spécialisé en élevage de bovins à viande. Bien que les éleveurs aient déclaré que la vente des veaux était plus rentable que celle du lait. Presque tous les élevages étaient conduits selon un mode semi-intensif (24/25).

Presque toutes les étables (24/25) avaient des murs crevassés et étaient mal entretenues (16/25). Plus que la moitié d'entre elles (16/25) abritaient aussi d'autres espèces animales (Figure 4.1).



**Figure 4.1** : Local d'élevage avec des murs crevassés et mal entretenus, abritant plusieurs espèces animales dans la commune de Beni Hamidène, Wilaya de Constantine.

La majorité des animaux (85% ; 143/169) étaient des femelles (sex-ratio M : F = 0,18), et l'âge moyen des bovins était de 3,7 ans (âges extrêmes : 3 mois à 13 ans).

La majorité des bovins (76% ; 129/169) étaient de race croisée. La race locale Brune de l'Atlas représentait 15% de l'effectif (26/169), et les races pures exotiques (Holstein, Frisonne Pie Noire, Montbéliarde, Charolaise) ne représentaient que 8% (14/169) de l'effectif étudié.

#### 4.2.3. Acaricides

Sur les 25 éleveurs inclus dans l'étude, 16 appliquaient des acaricides sur tous les bovins lorsqu'ils étaient infestés par les tiques chez au moins un bovin. Quinze d'entre eux préféraient la fluméthrine (Bayticol 1%<sup>®</sup>, Bayer, Allemagne), et un seul utilisait le phoxime (Sebacil 50%<sup>®</sup>, Bayer, Allemagne).

#### 4.2.4. Prélèvements

Tous les bovins inclus dans l'étude (169) ont fait l'objet d'un examen clinique complet et de prélèvements sanguins. Parmi les 169 bovins étudiés, 32 (18,9%) présentaient au moins cinq symptômes de piroplasmose et/ou d'anaplasmose (anémie, ictère, pétéchies oculaires/vulvaires, hyperthermie, hypertrophie des nœuds lymphatiques pré-scapulaires / des pré-cruraux, apathie, anorexie, hypogalactie et amaigrissement).

Les prélèvements ont été réalisés au niveau des capillaires auriculaires à l'aide d'une lame de bistouri à usage unique. Les étalements ont été effectués à la ferme et immédiatement fixés dans du méthanol pur pendant 3 minutes, séchés à l'air puis transportés au laboratoire. Les étalements sanguins ont été colorés au Giemsa pendant 10 min, puis rincés à l'eau du robinet et séchés à l'air.

Pour chaque lame, 50 champs microscopiques ont été examinés à un grossissement de 1000 x sous un microscope optique avec de l'huile d'immersion.

L'intensité de l'infection par les hémopathogènes a été estimée de manière semi-quantitative et les animaux ont été classés en trois catégories, faible : 0,2-1/ champ, moyenne [1-5]/ champ et élevée > 5 hémopathogènes / champ microscopique.

#### 4.2.5. Traitement

Tous les bovins suspects de piroplasmose et / ou d'anaplasmosse (32/169) ont été traités avec plusieurs molécules juste après avoir posé le diagnostic de suspicion et procédé aux prélèvements. La buparvaquone (Butacof 5<sup>®</sup>, Boehringer Ingelheim, Allemagne) a été injectée à la dose conventionnelle de 2,5 mg/kg par la voie intramusculaire aux bovins présentant des signes cliniques de la theilériose tropicale.

L'oxytétracycline (Longicine<sup>®</sup>, Vetoquinol, France) a été administrée à la dose de 20 mg/kg a des bovins atteints d'anaplasmosse. Elle a été associée à un antianémique (Fercobsang<sup>®</sup>, Vetoquinol, France) à la dose de 217 et 435 mg respectivement pour les jeunes bovins et les bovins adultes.

Les bovins atteints de babésiose ont reçu de l'imidocarbe (Imidocarb-LH<sup>®</sup>, Vetopharm, Algérie) à la dose de 3 mg / kg, associée, chez les bovins présentant une fièvre (63% ; 20/32) à un antipyrétique : la phénylbutazone (Butasyl<sup>®</sup>, Zoetis, États-Unis) à la dose de 1 à 5 mg/kg.

Rumicen Poudre Complex (Cenavisa, Espagne), un sachet a été prescrit aux bovins pesant plus de 200 kg et souffrant de troubles digestifs.

#### 4.2.6. Analyses statistiques

Les prévalences d'infections ont été comparées à l'aide du test de khi-deux de Mantel-Haenszel au seuil de 5% avec le logiciel Épi info [386].

### 4.3. Résultats

Sur les 25 élevages visités, 13 n'hébergeaient que des bovins infectés par un seul hémopathogène, 11 comprenaient à la fois des bovins co-infectés et d'autres animaux infectés par un seul hémopathogène. Enfin, un seul élevage dans lequel tous les bovins étaient tous non infectés.

L'examen microscopique des 169 étalements de sang a révélé que 77 (46%) bovins étaient infectés par au moins un des trois hémopathogènes : *Theileria annulata* (38% ; 65/169), *Anaplasma marginale* (13% ; 22/169) et *Babesia bovis* (3% ; 5/169) ( $p < 0,05$ ). Deux types de co-infections ont été trouvées : *Theileria annulata* / *Anaplasma marginale* (8% ; 13/169) et *Theileria annulata*/*Babesia bovis* (1% ; 2/169). La prévalence de l'infection par *T. annulata* était significativement plus élevée que la prévalence de l'infection par *A. marginale* ( $p = 0,033$ ).

Dans les élevages mixtes, les prévalences d'infection étaient respectivement de 10/12, 2/12 et 11/12 pour *T. annulata*, *B. bovis* et *A. marginale*. Pour les élevages laitiers, les prévalences d'infections étaient respectivement de 11/12, 3/12 et 3/12 pour *T. annulata*, *B. bovis* et *A. marginale* (Tableau 4.1).

Le tableau ci-dessous, résume les caractéristiques des élevages visités et des bovins infectés par les hémopathogènes.

**Tableau 4.1 :** Caractéristiques des élevages et des bovins infectés par les hémopathogènes dans la commune de Beni Hamidène, Wilaya de Constantine.

| Paramètres épidémiologiques         | <i>Theileria annulata</i>  | <i>Anaplasma marginale</i> | <i>Babesia bovis</i> |
|-------------------------------------|--|----------------------------|----------------------|
| <b>Élevages</b>                     | <b>Nombre d'élevages ayant au moins un bovin infecté/nombre d'élevages visités</b> |                            |                      |
| Élevages laitiers                   | 11/12  | 3/12                       | 3/12                 |
| Élevages mixtes                     | 10/12  | 11/12                      | 2/12                 |
| Élevage à viande                    | 1/1  | 0/1                        | 0/1                  |
| Présence d'autres espèces animales  | 14/16  | 10/16                      | 4/16                 |
| Présence de crevasses dans les murs | 21/24  | 14/24                      | 5/24                 |
| <b>Total</b>                        | 22/25  | 14/25                      | 5/25                 |
| <b>Animaux</b>                      | <b>Nombre d'animaux positifs/nombre d'animaux examinés (% ± ET)</b>                |                            |                      |
| <b>Intensité d'infection</b>        |  |                            |                      |
| Faible                              | 25/65 (38 ± 12)  | 22/22                      | 5/5                  |
| Légère                              | 31/65 (48 ± 12)  | 0                          | 0                    |
| Élevée                              | 9/65 (13,85 ± 8)   | 0                          | 0                    |
| <b>Sexe</b>                         |  |                            |                      |
| Mâles                               | 8/26 (31 ± 18)   | 3/26 (12 ± 12)             | 0/26                 |
| Femelles                            | 57/143 (40 ± 8)  | 19/143 (13 ± 6)            | 5/143 (3 ± 3)        |
| <b>Age</b>                          |  |                            |                      |
| <1 an                               | 5 /18  | 0/18                       | 0/18                 |
| [1 - 2 ans [                        | 12 /40 (30)  | 5/40 (12,5)                | 1/40 (2,5)           |
| ≥2 ans                              | 48/111 (43,24)   | 17/111                     | 4/111                |
| <b>Race</b>                         |  |                            |                      |
| Pure exotique                       | 7/14   | 4/14                       | 1/14                 |
| Croisée                             | 49/129 (37,98 ± 8)   | 14/129 (10,85 ± 5)         | 4/129 (3,1 ± 3)      |
| Brune de l'Atlas                    | 9/26   | 4/26                       | 0/26                 |
| <b>Total</b>                        | 65/169 (38,46 ± 7)   | 22/169(13,02 ± 5)          | 5/169(2,96 ± 3)      |

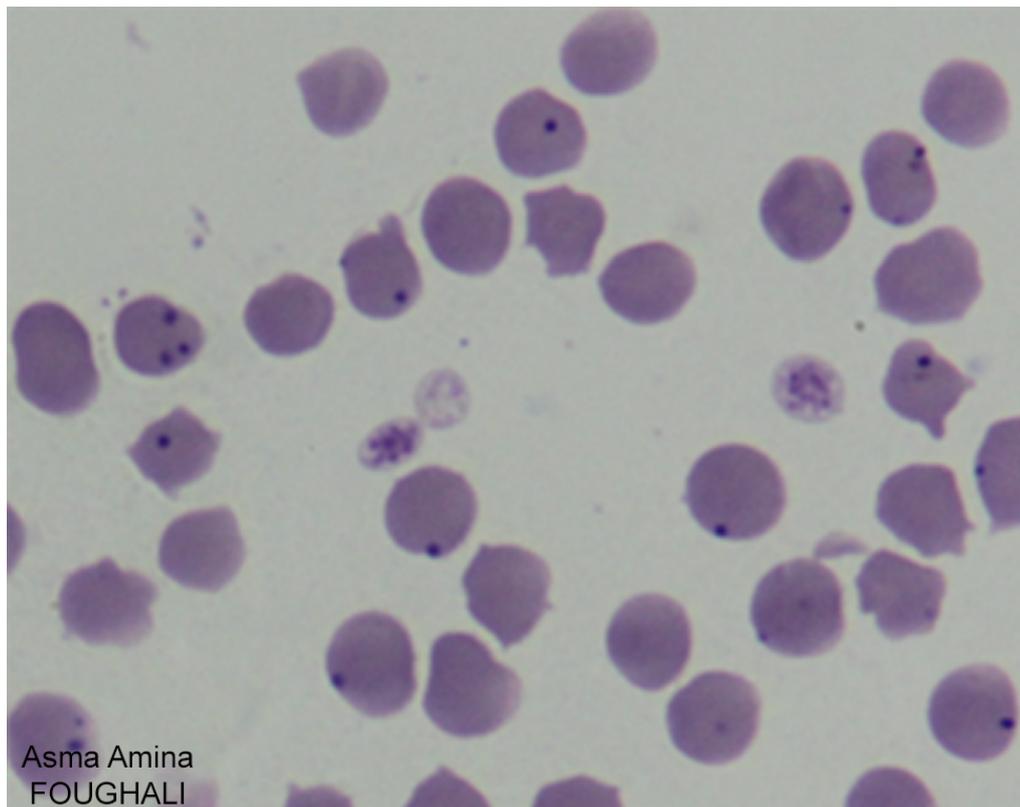
ET : Écart-type

#### 4.3.1. Infection par *Anaplasma marginale*

Plus de la moitié des localités (6/10) étaient infectées par *A. marginale* et sur les 25 élevages visités 14 avaient au moins un bovin infecté par *A. marginale*. Sur les 22 bovins infectés par *A. marginale*, aucun n'était infesté par les tiques et un seul avait des symptômes d'anaplasmose, et 3 avaient une infection mixte *Anaplasma* - *T. annulata*. Tous les bovins infectés par *A. marginale* étaient âgés d'au moins une année et 17/22 étaient âgés d'au moins deux ans (Tableau 4.1). L'infection par *A. marginale* a été observée chez respectivement 3 mâles et 19

femelles sur les 26 et 143 testés. Cependant, la différence des prévalences d'infections en fonction du sexe n'était pas statistiquement différente ( $p > 0,05$ ).

La figure 4.2 montre des érythrocytes d'un bovin infectés par *Anaplasma marginale* après un étalement de sang coloré au Giemsa.



**Figure 4.2 :** Érythrocytes d'un bovin infectés par *Anaplasma marginale* (coloration Giemsa, grossissement x 1000) (Photo de l'auteur).

#### 4.3.2. Infection par *Theileria annulata*

Dans chacune des 10 localités de la commune de Beni Hamidéne, il y avait au moins un bovin infecté par *T. annulata* et la majorité des élevages (22/25) avaient au moins un bovin infecté par *T. annulata*. Parmi les 32 animaux suspects de piroplasmoses et/ou d'anaplasmose, 25 (78%) ont été confirmés atteints de theilériose tropicale clinique par examen sanguin.

La figure 4.2 montre un érythrocyte d'un bovin infecté par *Theileria annulata* après un étalement de sang coloré au Giemsa.

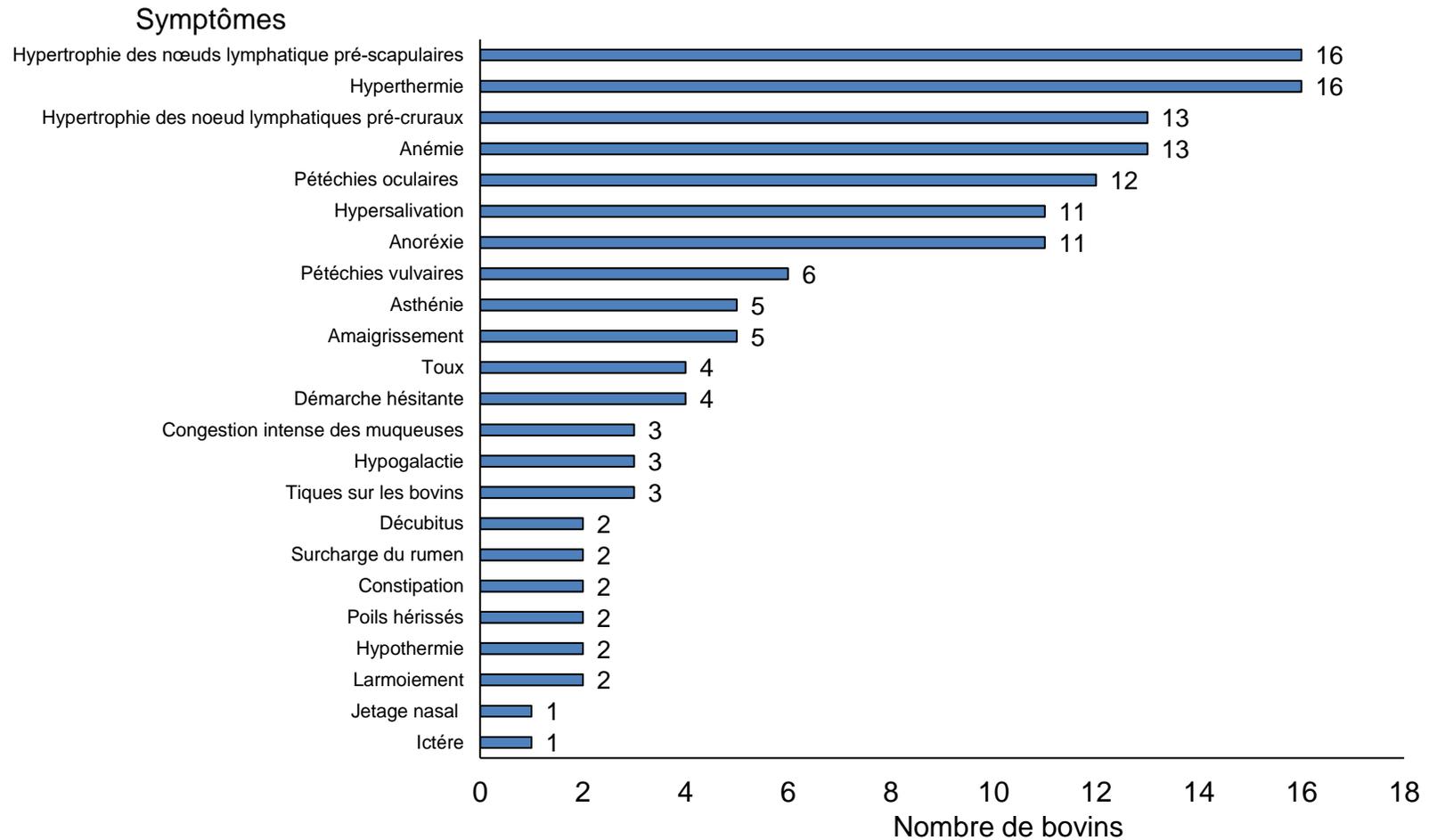


**Figure 4.3 :** Érythrocyte d'un bovin infecté par *Theileria annulata* (coloration Giemsa, grossissement x 1000).

Plus de la moitié des bovins infectés par *T. annulata* (38/65 ; 58%) étaient âgés d'au moins trois ans, 8% (5/65) étaient des veaux âgés de moins d'une année et 34% (22/65) étaient âgés entre 1 et 3 ans ( $p = 0,04$ ) (Tableau 4.1). Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les prévalences d'infection par *T. annulata* en fonction de la race et du sexe ( $p > 0,05$ ). L'inspection des sites de prédilections des tiques chez les bovins infectés par *T. annulata* a révélé un faible taux d'infestation (3/65 ; 4,6%).

Chez les animaux présentant une theilériose clinique confirmée par un examen microscopique d'étalements de sang colorés au Giemsa, l'hyperthermie et l'hypertrophie des nœuds lymphatiques pré-scapulaires étaient les symptômes les plus fréquents (16/25), suivis de l'anémie (13/25). L'hypersalivation (11/25), la toux (4/25), la congestion intense des muqueuses (3/25) et la constipation (2/25) étaient des symptômes associés à l'infection par *T. annulata* (Figure 4.4). L'ictère a été observé chez un seul veau de race croisée (1/25).

La figure suivante représente la fréquence des symptômes observés chez les bovins atteints de theilériose tropicale.



**Figure 4.4 :** Fréquence des symptômes observés chez les 25 bovins atteints de theilériose tropicale bovine dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine.

Les figures 4.4 et 4.5 montre quelques symptômes observés chez des bovins atteints de theilériose tropicale bovine.



**Figure 4.5 :** Pétéchie oculaire chez une vache de race pure exotique atteinte de theilériose tropicale bovine, dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine (Photo de l'auteur).

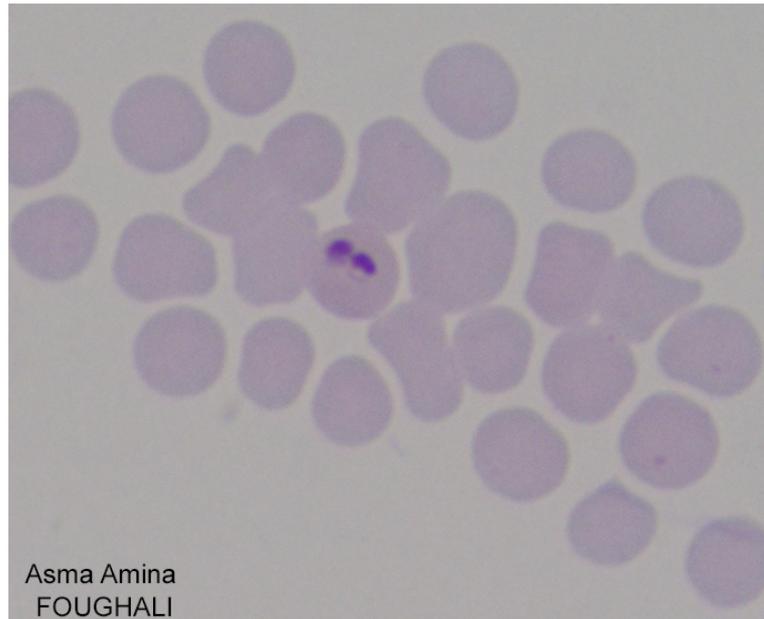


**Figure 4.6 :** Hypertrophie du nœud lymphatique pré-crural chez une vache de race pure exotique atteinte de theilériose tropicale bovine, dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine (Photo de l'auteur).

#### 4.3.3. Infection par *Babesia bovis*

La moitié des localités (5/10) étaient infectées par *B. bovis*. Cependant, peu d'élevages (5/25) avaient un seul bovin infecté par *B. bovis*. Les cinq bovins infectés par *B. bovis* étaient âgés d'au moins un an et demi et ils n'étaient pas anémiques. Deux bovins infectés par *B. bovis* étaient infestés par les tiques.

La figure 4.7 montre un érythrocyte d'un bovin infecté par *Babesia bovis* après un étalement de sang coloré au Giemsa.



**Figure 4.7 :** Érythrocyte d'un bovin infecté par *Babesia bovis* (coloration Giemsa, grossissement x 1000).

#### 4.3.4. Létalité

Parmi les 32 bovins suspects de piroplasmose et/ou d'anaplasmosse, deux sont morts après traitement correspondant à un taux de morbidité, de létalité et de mortalité respectivement de 18,9 (32/169), 6 (2/32) et 1,2% (2/169).

#### 4.4. Discussion

Presque la totalité des élevages étudiés comprenaient au moins un bovin infecté par *T. annulata*. Ceci pourrait être expliqué par la présence de crevasses dans la quasi-totalité des étables car les crevasses sont les gîtes favorables pour l'hibernation des nymphes et la ponte des femelles *Hyalomma scupense*, la tique vectrice de *T. annulata* dans le Maghreb [185]. Cependant, dans notre étude, seuls trois des bovins infectés (3/32) étaient infestés par des tiques, ce qui pourrait être dû à l'utilisation d'acaricides chez plus de la moitié des éleveurs (16/25) et au long délai entre la fixation des tiques et l'apparition des symptômes. Le plus souvent, la durée d'un repas sanguin des tiques est plus courte que la période d'incubation de la theilériose ainsi, lorsque l'animal présente des symptômes, la tique qui a transmis le parasite s'est déjà détachée de l'animal. Toutefois, l'utilisation d'acaricides par

les éleveurs n'est pas faite correctement, que ce soit en concerne la concentration de l'acaricide mais aussi l'intervalle entre les applications recommandées par les vétérinaires. Le faible nombre de tiques et la présence de cas cliniques indiquent que les fermes visitées étaient dans un état d'enzootie instable pour la theilériose tropicale bovine.

Dans les régions endémiques, la prévalence des porteurs asymptomatiques est très élevée et peut même atteindre 100%. L'étalement de sanguin coloré au Giemsa est peu sensible car les porteurs asymptomatiques ont une faible parasitémie [202] ; [35].

La prévalence d'infection par *T. annulata* était plus élevée que celle d'*Anaplasma marginale* et *B. bovis*, ce résultat est semblable à celui rapporté par AIT HAMOU et al. [357] au Maroc.

À Annaba et El Tarf, à l'est de l'Algérie, les taux d'infections chez les animaux malades étaient de 53,7% pour *T. annulata*, 7,4% pour *A. marginale* et 5,6% pour *B. bovis* [75]. Au centre de l'Algérie, 36,9% ; 3,4% et 4,1% des bovins examinés étaient respectivement infectés par *T. annulata*, *B. bovis* et *A. marginale* [260]. Dans la région de Boutheldja (Wilaya d'El Tarf, est de l'Algérie), ont été rapportés des cas d'infections par *B. bovis*, *T. annulata* et *A. marginale* chez respectivement 33,3% ; 47,6% et 40,5% des bovins examinés [257].

La prévalence de l'infection par *T. annulata* était de 38%, comparable à celle rapportée par ZIAM et al. [260] au centre de l'Algérie (37%), et légèrement supérieure à celle apportée par NAIK et al. [387] dans l'État de Chhattisgarh en Inde (23%).

Le tableau clinique observé chez les 32 bovins malades était typique d'une theilériose tropicale, 78% (25/32) des bovins examinés étaient infectés par *T. annulata*, cette valeur est similaire à celle décrite par d'autres auteurs [202] ; [388] ; [320] ; [76] [17]. Cependant, dans l'étude menée en automne après la saison de la maladie par M'GHIRBI et al. [79], tous les bovins infectés par *T. annulata* (17,3% ; 48/278) étaient des porteurs asymptomatiques. Alors que, notre étude a été réalisée

pendant la saison de la theilériose tropicale bovine (l'été). BENCHIKH ELFGOUN et al. [77] ont examiné 89 bovins cliniquement infectés par des piroplasmies dans deux Wilayas du nord-est de l'Algérie (Skikda et Oum El Bouaghi) et ont rapporté que 94% d'entre eux étaient infectés par *T. annulata* et 33,7% par *B. bovis*.

La majorité des bovins présentant des signes cliniques étaient infectés par *T. annulata* (78,13% ; 25/32), dont trois bovins co-infectés par *T. annulata* et *A. marginale* et un par *T. annulata* et *B. bovis*. Un bovin était infecté par *A. marginale* et un autre par *B. bovis*.

Bien que le nombre de bovins de races pures exotiques soit faible, la moitié d'entre eux (7/14) était infectés par *T. annulata*. Cependant, l'absence de différence statistiquement significative avec les autres races est probablement dû à la faible taille de l'échantillon. Parmi les 169 bovins, 4/14 ; 14/129 ; 4/26 étaient infectés respectivement par *A. marginale* chez les bovins de races pures exotiques, croisées et la race locale Brune de l'Atlas. D'ailleurs, AL-HOSARY et al. [82] et AIT HAMOU et al. [389] ont montré que la prévalence d'*A. marginale* ne variait pas en fonction de la race bovine.

Sur les 26 bovins de races locales, 9 étaient porteurs asymptomatiques, confirmant que la race locale est plus résistante à l'infection par les hémopathogènes [390] ; [357] ; [391]. Cependant, il n'y avait pas de différence significative dans la prévalence de l'infection en fonction des races. Les bovins de races locales représentent une importante source d'infection pour les autres bovins principalement les animaux de races sensibles [246].

La majorité des bovins infectés par *A. marginale* étaient porteurs asymptomatiques. Ce résultat est semblable à celui rapporté par M'GHIRBI et al. [392] qui ont trouvé en Tunisie que tous les bovins infectés par *A. marginale* étaient des porteurs asymptomatiques. Un bovin infecté par *A. marginale* le reste durant toute sa vie [381] ; [393].

La prévalence de l'infection par *Babesia bovis* (3% ; 5/169) était légèrement inférieure à celle rapportée par ZIAM et BENAROUF [75] à l'Est de l'Algérie (5,6%).

Selon ZIAM et al. [260], la faible prévalence de *B. bovis* est dûe à une charge parasitaire de tiques relativement faible et une très courte durée de pâturage. Ce faible taux pourrait aussi être expliqué par le fait que Beni Hamidéne a un climat subhumide et semi-aride qui ne convient pas au développement du vecteur *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. Selon BENCHIKH-ELFEGOUN et al. [361] cette tique est adaptée au climat humide. Cependant, selon CALDER et al. [394] la fluctuation de la parasitémie chez les bovins présentant une infection chronique par *B. bovis* pourrait être expliquée par l'échec de détection lors des faibles taux de parasitémie, ainsi, la détection de *B. bovis* varie de  $10^{-5}$  à  $10^{-7}$ . Dans notre étude, la prévalence d'infection par *B. bovis* était plus faible que celle rapportée en Syrie (15,46% ; [395]), en Mongolie (18% ; [396]) et en Afrique du Sud (35,3% ; [397]). Cette différence peut s'expliquer la méthode de diagnostic utilisée (ELISA), Chez les animaux porteurs asymptomatiques, l'ELISA se caractérise par une sensibilité plus élevée que l'étalement de sang coloré au Giemsa.

La prévalence des coïnfections par *T. annulata* et *B. bovis* (1,2%) était similaire à celle rapportée par ZIAM et al. [260] (1,1%). La prévalence des coïnfections par *T. annulata* et *A. marginale* (7,69%) est légèrement supérieure à celle rapportée par ZIAM et ses collaborateurs [260] (1,9%) au centre de l'Algérie.

Tous les bovins infectés par *B. bovis* (5/5) étaient âgés de plus d'une année. En effet, les jeunes bovins sont plus résistants à la babésiose bovine que les adultes [398] ; [399].

#### 4.5. Conclusion

Cette étude a permis d'identifier les hémopathogènes infectant les bovins, dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine. *T. annulata* était le pathogène ayant la prévalence la plus élevée. Cette étude a également permis de décrire les grandes caractéristiques cliniques de la theilériose tropicale bovine. Aucun bovin de race Brune de l'Atlas n'a présenté de symptômes, c'est pour cette raison que l'élevage de bovin de race Brune de l'Atlas doit être encouragé dans les régions et fermes où la lutte contre les tiques vectrices est difficile à mettre en

œuvre. De plus, les éleveurs algériens doivent bénéficier de programmes de vulgarisation afin qu'ils puissent utiliser convenablement les acaricides.

## CHAPITRE 5

# INFECTION PAR LES HÉMOPATHOGENES (*THEILERIA*, *BABESIA* ET *ANAPLASMA*) ET INFESTATION PAR LES TIQUES CHEZ LES OVINS PENDANT LA SAISON ESTIVALE

### 5.1. Introduction

Les tiques sont des acariens hématophages obligatoires qui transmettent un grand nombre d'agents pathogènes aux humains et aux animaux [400] ; [401] ; [402]. Les tiques causent d'importantes pertes économiques dans les élevages, elles représentent dans certaines régions du monde la principale contrainte au développement de l'élevage des ruminants [403]. L'épidémiologie de ces infections est fortement influencée par l'activité des tiques, elle-même influencée par les facteurs abiotiques notamment la température et l'humidité.

Une enquête sur la prévalence d'infestation des ovins de race locale par les Ixodidae a été réalisée à l'abattoir d'Adrar (Sud-ouest de l'Algérie), au total 784 tiques appartenant à deux genres et sept espèces ont été collectées : *Hyalomma impeltatum* (572/784 ; 75,2%), *H. marginatum* (19/784 ; 2,5%), *H. dromedarii* (9/784 ; 1,2%), *H. scupense* (2/784 ; 0,3%), *R. sanguineus* (148 ; 19,4%), *R. guilhoni* (10/784 ; 1,3%) et *R. evertsi* (1/784 ; 0,1%) [404].

En Algérie, la babésiose ovine est provoquée par *Babesia ovis* et *Babesia motasi* [68]. L'infection clinique se manifeste par une fièvre, une anorexie, une apathie, une anémie, un ictère et une hémoglobinurie. Le taux de morbidité et de létalité par ces parasites sont élevés [134] ; [98].

Dans les zones tropicales et subtropicales, l'anaplasmose ovine représente un problème majeur dans les troupeaux ovins [405]. Cette rickettsiose est transmise par des tiques et mécaniquement par plusieurs insectes hématophages [375]. Les

symptômes de l'anaplasmose sont nombreux et non spécifiques, généralement le tableau clinique se manifeste par une fièvre, une apathie, une anorexie, une anémie, un ictère, un écoulement nasal, une perte de poids, une hypogalactie et un avortement [406] ; [407] ; [283].

En Afrique du Nord, plusieurs études ont rapporté la présence de *Theileria* spp. chez les ovins principalement *Theileria lestoquardi* et *Theileria ovis* [93,408] ; [409]. *Theileria lestoquardi* est l'espèce la plus pathogène, elle provoque la theilériose ovine maligne (TMO) [410] ; [278]. Les symptômes de la TMO sont similaires à ceux de la theilériose tropicale bovine (infection par *Theileria annulata*) et peuvent entraîner la mort de l'animal dans les cas les plus graves [411].

Dans cette partie, nous visons l'étude de l'infestation par des tiques chez des ovins suspects de piroplasmoses et/ou d'anaplasmose et l'infection des ovins par les hémopathogènes pendant la saison des tiques dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine, Algérie.

## 5.2. Matériels et méthodes

### 5.2.1. Région d'étude

L'étude a été menée dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine (Cf. chapitre 3, pages 69 - 70). Durant les saisons estivales 2017 et 2018 (début juin et fin août).

### 5.2.2. Élevages et animaux

L'étude a été réalisée dans 34 troupeaux ovins, répartis sur 12 localités rurales (Merra, Bourdj Roumi, Elswiri, Ain Hamra, Takouk, Ain Tala, Elhamri Soufli, Sidi Idriss, Elhamri Oulwi, Chaibiya, Ouled Niya, et Beni Hamidéne) contenant un nombre total de 3 200 ovins. La taille des troupeaux ovins était comprise entre 14 et 150 animaux, elle était en moyenne de 74 ovins par élevage.

Presque la totalité des élevages étaient conduits selon un mode semi-intensif (31/34 ;  $91 \pm 9\%$ ), deux ( $6 \pm 8\%$ ) étaient en mode extensif et un seul ( $3 \pm 3\%$ ) en mode intensif.

La majorité des bergeries (26/34 ;  $77 \pm 14\%$ ) abritaient d'autres espèces animales (chèvres, bovins, chiens et volailles) et  $71 \pm 15\%$  d'entre elles (24/34) possédaient des litières souvent de mauvaise qualité et mal entretenues. Presque toutes les bergeries (30/34 ;  $88,2 \pm 10,8\%$ ) avaient des murs crevassés (Figure 5.1).



**Figure 5.1** : Bergerie mal entretenue, avec des murs crevassés, commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine.

Plus de la moitié des bergers (26/34 ;  $77 \pm 7,3\%$ ) avaient des élevages mixtes (engraissement de moutons et élevage de brebis), 5 (15%) faisaient que l'engraissement du mouton, trois (9%) étaient des naisseurs.

Au total, 43 ovins présentant des symptômes (une anémie, un ictère, une anorexie, une fièvre, une asthénie et une hypertrophie des nœuds lymphatiques) ont été inclus dans l'étude. Ces ovins malades étaient âgés de 3 mois à 7 ans (âge moyen : 1,7 an). Plus de la moitié des ovins étaient des mâles (23/43 ; 53,49%) et 20 (46,51%) étaient des femelles (sex-ratio M : F =1,15). La majorité des ovins

(38/43 ; 88,37%) étaient de race locale croisée, le reste (5/43 ; 12 ± 10%) étaient des ovins de race locale à savoir Ouled Djellal, Rembi et Berbère.

Un consentement verbal a été obtenu de chaque éleveur. Les bergers ont été questionnés sur les symptômes observés chez leurs animaux, ils étaient aussi interrogés sur l'application d'acaricides dans leurs troupeaux.

Tous les ovins suspects de piroplasmoses et / ou d'anaplasmose ont fait l'objet d'un examen clinique. L'âge des animaux a été estimé en examinant la dentition des ovins.

### 5.2.3. Prélèvements sanguins

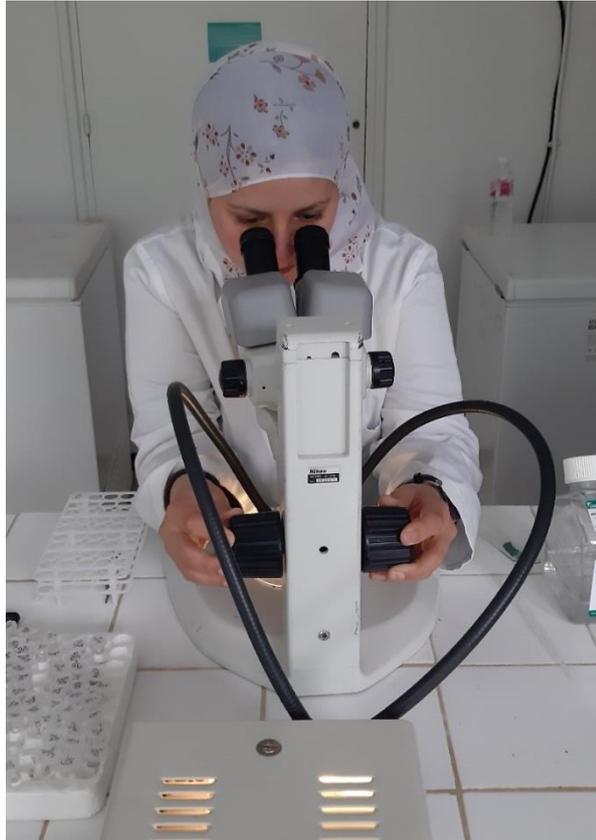
Les prélèvements sanguins ont été réalisés au niveau des capillaires auriculaires. Les étalements de sang ont été réalisés immédiatement dans les élevages (Cf. chapitre 4, page 97).

### 5.2.4. Collecte et identification des tiques

Les corps de tous les ovins suspects de piroplasmoses et/ou d'anaplasmose ont fait l'objet d'un examen minutieux pour la recherche de tiques en prenant en considération leurs sites de prédilections.

Les tiques ont été retirées en réalisant un mouvement de rotation, à l'aide d'un tire-tique, conservées dans des flacons étiquetés et hermétiques contenant de l'éthanol à 70%.

L'identification des tiques a été réalisée à l'aide d'une loupe binoculaire en se basant sur la clé de diagnose de WALKER et al. [412].



**Figure 5.2 :** Identification des tiques collectées sous une loupe binoculaire.

#### 5.2.5. Indicateurs épidémiologiques et analyses statistiques

Trois indicateurs épidémiologiques ont été estimés [413] comme suit :

***Prévalence d'infestation = 100x Nombre d'ovins infestés/ nombre d'ovins examinés***

***Intensité d'infestation = Nombre de tiques collectées/Nombre d'ovins infestés***

***Abondance d'infestation = Nombre de tiques collectées/Nombre d'ovins examinés***

L'intensité d'infection par les hémopathogènes a été estimée en examinant 50 champs microscopiques, sachant qu'à l'objectif x100, chaque champ microscopique contient en moyenne 350 érythrocytes.

L'intensité d'infection par chaque hémopathogène a été estimée selon la formule suivante :

***Intensité d'infection = 100 x nombre d'érythrocytes infectés / nombre d'érythrocytes examinés***

### 5.2.6. Traitements

Tous les ovins présentant des symptômes d'anaplasmosse et/ou de piroplasmose ont été traités. L'oxytétracycline (Longicine<sup>®</sup>, Vetoquinol, France) a été injectée à la dose de 20 mg/kg aux animaux atteints d'anaplasmosse. Les ovins présentant les signes cliniques d'une anémie (33/43 ; 77%) ont été traités avec un antianémique (Hematofos B12<sup>®</sup>, Agrovet Market, Pérou).

Le diminazène (FA.TRY.BANIL<sup>®</sup>, Fatro, Italie) a été injecté aux ovins présentant les signes cliniques de piroplasmose à la dose de 3,5 mg/kg. Les ovins fébriles (32/43 ; 74%) ont reçu du méloxicam (Melovem<sup>®</sup> 20 mg/ml, Dopharma, Pays-Bas) à la dose de 0,5 mg/kg.

Un demi sachet de Rumicen Poudre Complex (Cenavisa, Espagne) a été administré par voie orale à deux ovins souffrant de troubles digestifs.

L'érythromycine (Érythrocin<sup>®</sup>, Ceva, France) a été injectée par la voie intramusculaire à la dose de 10 mg/kg toutes les 12 heures pendant 3 jours pour traiter la boiterie. L'oxytétracycline solution en spray (Terramycine, Zoetis, États-Unis) a été appliquée localement chez les ovins présentant des lésions podales.

### 5.3. Résultats

Parmi les bergers interrogés, seuls quatre (4/34 ; 12 ± 11%) utilisaient des acaricides pour lutter contre les tiques (Phoxime, Sebacil<sup>®</sup> 50%, Bayer, Allemagne). Cependant, la totalité utilisaient l'ivermectine (Biomectin, Vetoquinol, France) le croyant efficace contre les tiques.

#### 5.3.1. Indicateurs parasitologiques

Plus de la moitié des ovins présentant des symptômes d'anaplasmosse et/ou de piroplasmose (25/43 ; 58 ± 15%) étaient infestés par au moins une tique. Au total, 185 tiques adultes ont été collectées, dont 104 mâles et 81 femelles (sex-ratio M : F = 1,28). Ces tiques appartenaient à deux genres : *Rhipicephalus* et *Hyalomma*

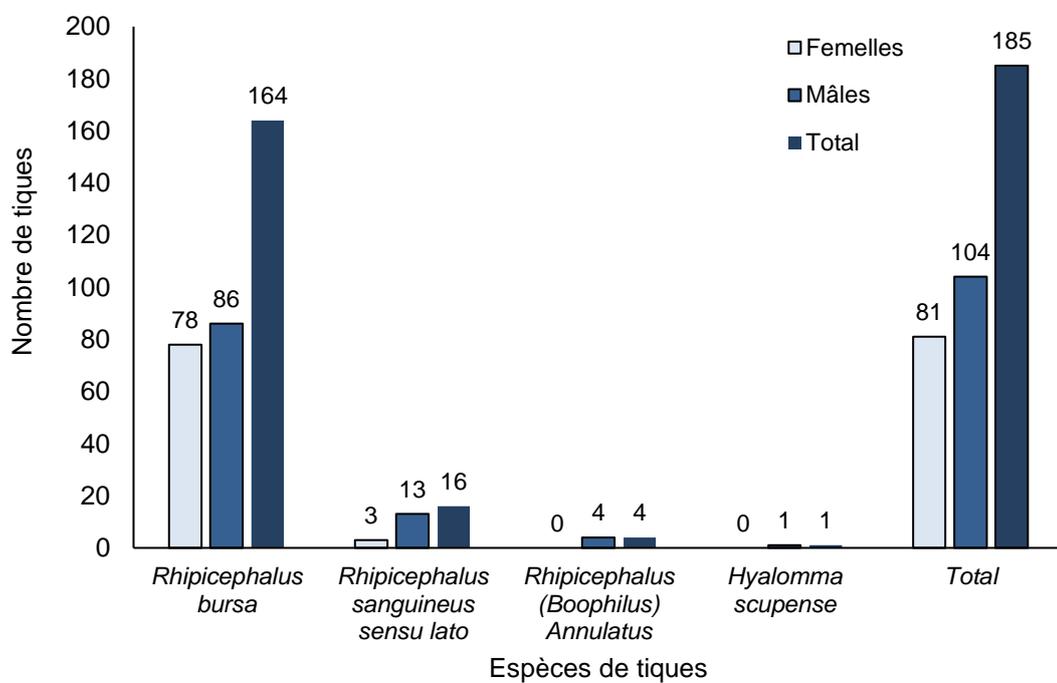
et à quatre espèces : *Rhipicephalus bursa* (164/185 ;  $88,6 \pm 4,6\%$ ) (Figure 5.3), *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (16/185 ;  $8,6 \pm 4\%$ ), *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *annulatus* (4/185 ;  $2,2 \pm 2,1\%$ ) (Figure 5.4) et *Hyalomma scupense* (1/185 ;  $0,5 \pm 1\%$ ) (Figure 5.5).



**Figure 5.3** : *Rhipicephalus bursa* mâle, face dorsale, collecté chez un ovin de race locale infecté par *Babesia* spp. (Photo de l'auteur).



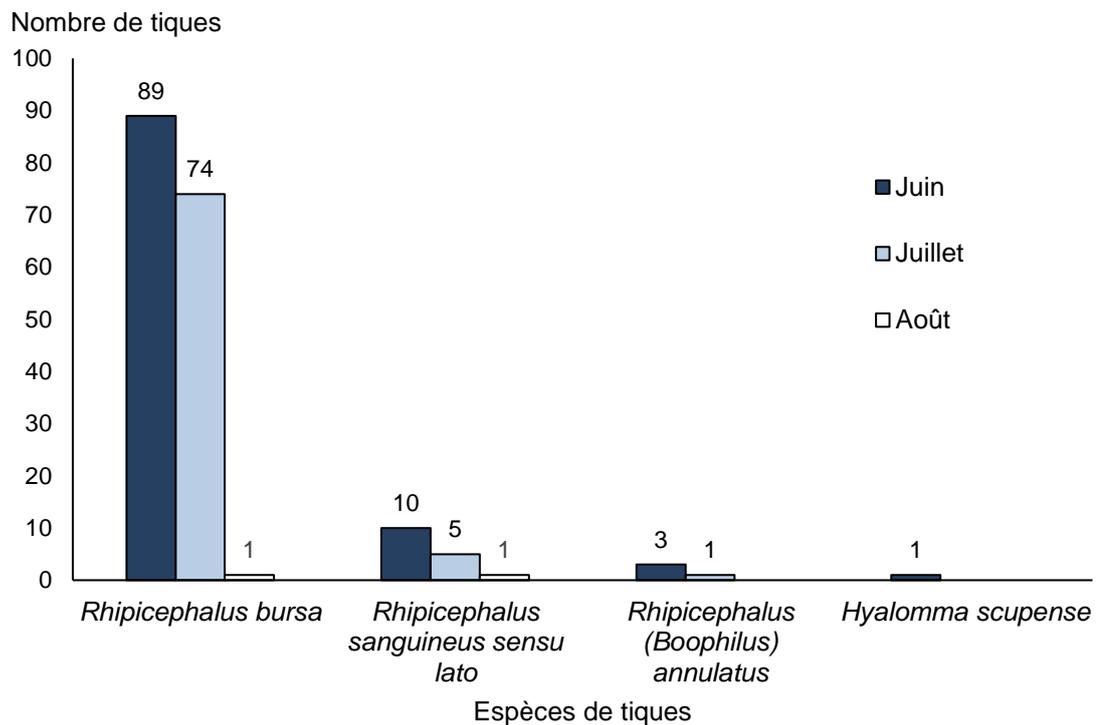
**Figure 5.4 :** *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* mâle, face dorsale, collecté chez un bovin de race croisée infecté par *Babesia bovis* (Photo de l'auteur).



**Figure 5.5 :** Espèces de tiques collectées chez les ovins présentant des symptômes d'anaplasmosis et/ou de piroplasmose, dans la commune de Beni Hamidène, Wilaya de Constantine.

L'intensité d'infestation et l'abondance moyenne globale étaient respectivement de 7,4 et 4,3. Une co-infestation par deux espèces de tiques a été enregistrée chez 10 ovins ( $23 \pm 13\%$ ) sur les 43 ovins examinés.

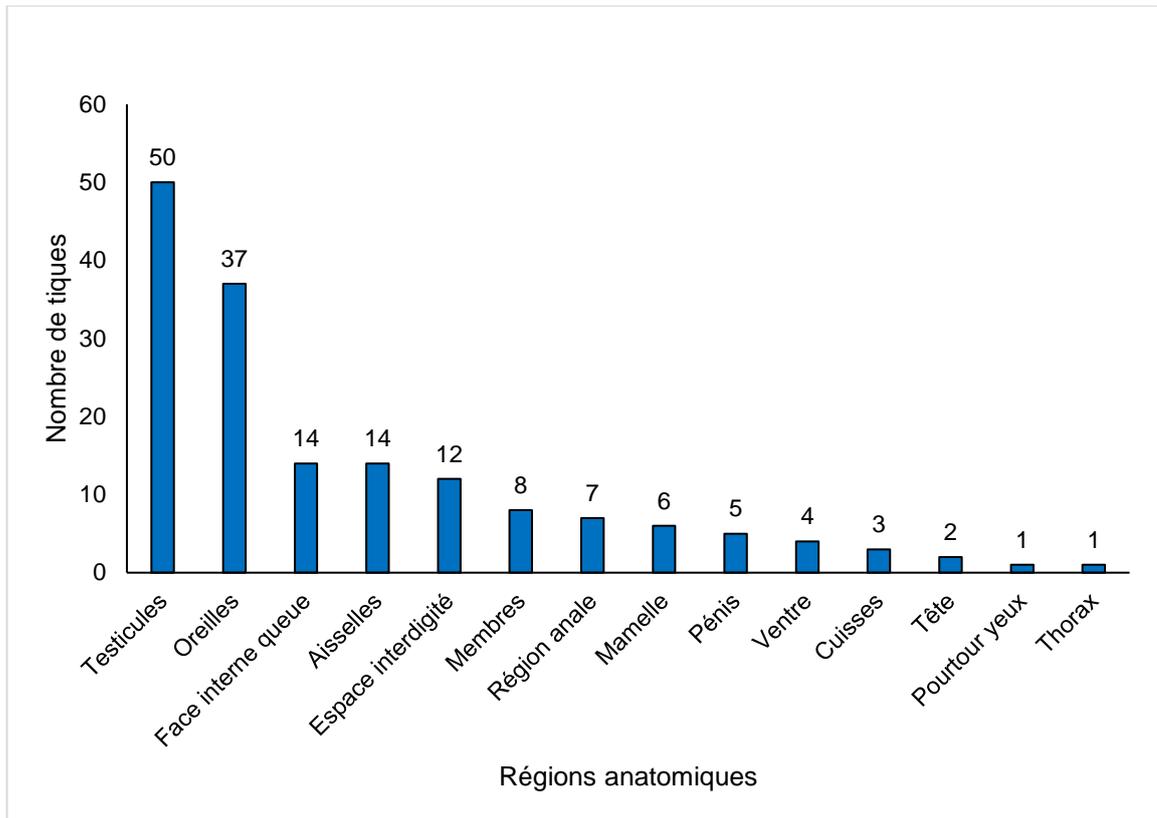
Plus de la moitié des tiques *R. bursa* ont été collectées en juin ( $89/164$  ;  $54,3 \pm 7,6\%$ ) (Figure 5.6). Au total, 164 tiques de *R. bursa* ont été prélevées, dont plus de la moitié ( $86/164$  ;  $52,4 \pm 7,6\%$ ) étaient des *R. bursa* mâles.



**Figure 5.6 :** Évolution mensuelle du nombre de tiques infestant les ovins dans la commune de Beni Hamidène (Wilaya de Constantine, Nord-Est algérien).

### 5.3.2. Sites de prédilection anatomique des tiques

Près de la moitié des tiques *R. bursa* ( $87/185$  ;  $45 \pm 7\%$ ) étaient fixées sur les testicules ( $50/185$  ;  $27 \pm 6\%$ ) et les oreilles ( $37/185$  ;  $20 \pm 6\%$ ) (Figure 5.7). Toutes les tiques du groupe *R. sanguineus sensu lato* ( $16/16$ ) étaient fixées au niveau des oreilles.

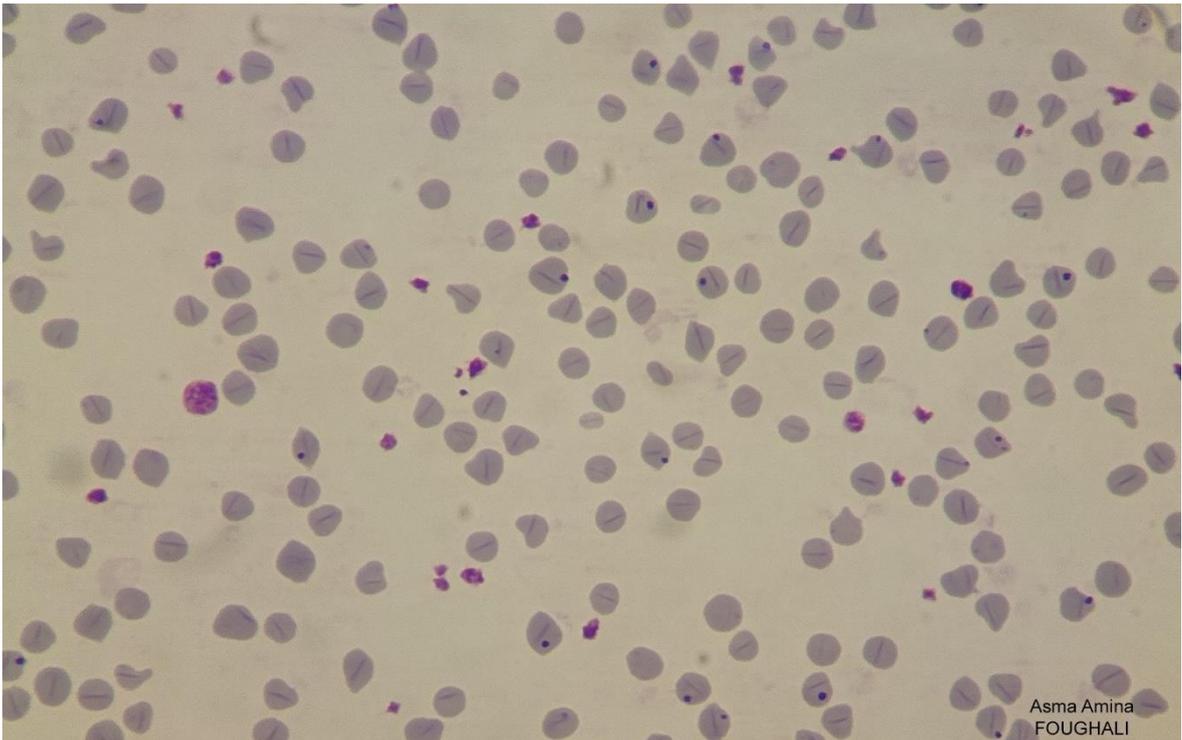


**Figure 5.7 :** Localisation anatomique de *Rhipicephalus bursa* chez des ovins présentant des symptômes dans la commune de Beni Hamidène (Wilaya de Constantine, Nord-Est algérien).

### 5.3.3. Hémopathogènes

Parmi les 34 troupeaux ovins visités, 18 ( $53 \pm 17\%$ ) contenaient au moins un ovin infecté par au moins un hémopathogène dont, la majorité 12 ( $35 \pm 16\%$ ) ne contenaient que des ovins infectés par un seul hémopathogène. Le reste, six ( $18 \pm 13\%$ ) ne contenaient que des ovins co-infectés.

Parmi les 43 ovins présentant des symptômes, près de la moitié d'entre eux ( $20/43$  ;  $46 \pm 15\%$ ) étaient infectés par au moins un hémopathogène. Parmi les 25 ovins infestés par les tiques, 12, 2 et 1 étaient respectivement infectés par *Anaplasma* spp. (Figure 5.8), *Babesia* spp. et *Theileria* spp.



**Figure. 5.8 :** Étalement de sang coloré au Giemsa montrant *Anaplasma ovis* (objectif x 1000).

Le tableau **5.1** résume les caractéristiques des élevages et des ovins infestés par les tiques ainsi que la relation entre les symptômes et l'infestation par les tiques dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine.

**Tableau 5.1 :** Caractéristiques des élevages, des ovins infestés par les tiques et la relation entre les symptômes et l'infestation par les tiques dans la commune de Beni Hamidéne (Wilaya de Constantine, Nord-Est algérien).

| Facteurs de risque                         | Prévalence d'infestation par les tiques (% ± ET) |                          |                 | Intensité d'infestation par les tiques |                          |            | Abondance des tiques       |                          |              | <i>Theileria</i> spp. | <i>Babesia</i> spp. | <i>Anaplasma</i> spp. |
|--|--|--------------------------|-----------------|--|--------------------------|------------|----------------------------|--------------------------|--------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|
|  | <i>Rhipicephalus bursa</i>                       | Autres espèces de tiques | Total           | <i>Rhipicephalus bursa</i>             | Autres espèces de tiques | Total      | <i>Rhipicephalus bursa</i> | Autres espèces de tiques | Total        |                       |                     |                       |
| <b>Système d'élevage</b>                   |  |                          |                 |  |                          |            |                            |                          |              |                       |                     |                       |
| Semi-intensif                              | 23/40 (58 ± 15)                                  | 11/40 (28 ± 14)          | 24/40 (60 ± 15) | 164/23 (7)                             | 18/11 (2)                | 182/24 (8) | 164/40 (4)                 | 18/40 (0.5)              | 182/40 (5)   | 1/40 (3 ± 5)          | 6/40 (15 ± 11)      | 18/40 (45 ± 15)       |
| Extensif                                   | 0/2  | 1/2                      | 1/2             | 0                                      | 3/1                      | 3/1        | 0                          | 3/2                      | 3/2          | 0/2                   | 2                   | 1/2                   |
| Intensif                                   | 0/1  | 0                        | 0/1             | 0                                      | 0                        | 0          | 0                          | 0                        | 0            | 1                     | 1                   | 1                     |
| <b>Présence de crevasses dans les murs</b> |  |                          |                 |  |                          |            |                            |                          |              |                       |                     |                       |
| Oui  | 17/37 (46 ± 16)                                  | 8/37 (22 ± 13)           | 19/37 (51 ± 16) | 121/17 (7)                             | 16/8 (2)                 | 137/19 (7) | 121/37 (3)                 | 16/37 (0.4)              | 137/37 (3.7) | 1/37 (3 ± 5)          | 6/37 (16 ± 12)      | 18/37 (49 ± 17)       |
| Non  | 6/37 (16 ± 12)                                   | 4/37 (11 ± 10)           | 6/37 (16 ± 12)  | 43/6                                   | 5/4                      | 48/6 (8)   | 43/6 (7)                   | 5/6                      | 48/6 (8)     | 0/6                   | 0/6                 | 1/6                   |
| <b>Présence d'autres espèces animales</b>  |  |                          |                 |  |                          |            |                            |                          |              |                       |                     |                       |
| Oui  | 19/34 (56 ± 17)                                  | 11/34 (32 ± 16)          | 21/34 (62 ± 16) | 150/19 (8)                             | 16/11 (2)                | 166/21 (8) | 150/34 (4)                 | 16/34 (0.5)              | 166/34 (5)   | 1/34 (3 ± 6)          | 5/34 (15 ± 12)      | 14/34 (41 ± 16)       |
| Non  | 4/34 (12 ± 11)                                   | 1/34 (3 ± 6)             | 4/34 (12 ± 11)  | 14/4                                   | 5/1                      | 19/4       | 14/9                       | 5/9                      | 19/9         | 0/9                   | 1/9                 | 5/9                   |
| <b>Race</b>                                |  |                          |                 |  |                          |            |                            |                          |              |                       |                     |                       |
| Locale croisée                             | 20/38 (53 ± 16)                                  | 11/38 (29 ± 14)          | 22/38 (58 ± 16) | 145/20 (7)                             | 19/11 (2)                | 164/22 (8) | 145/38 (4)                 | 19/38 (0.5)              | 164/38 (4)   | 1/38 (3 ± 5)          | 6/38 (16 ± 12)      | 17/38 (45 ± 16)       |
| Autres races                               | 3/5  | 1/5                      | 3/5             | 19/3                                   | 2/1                      | 21/3 (7)   | 19/5                       | 2/5                      | 21/5 (4.2)   | 0/5                   | 0/5                 | 2/5                   |
| <b>Age</b>                                 |  |                          |                 |  |                          |            |                            |                          |              |                       |                     |                       |
| [3 mois - 1 an]                            | 10/20  | 4/20                     | 10/20           | 60/10 (6)                              | 4/4 (1)                  | 64/10 (6)  | 60/20 (3)                  | 4/20 (0.2)               | 64/20 (3)    | 0/20                  | 4/20                | 8/20                  |
| [1 - 7 ans]                                | 13/23  | 8/23                     | 15/23           | 104/13 (8)                             | 17/8 (2)                 | 121/15 (8) | 104/23 (5)                 | 17/23 (0.7)              | 121/23 (5)   | 1/23                  | 2/23                | 11/23                 |
| <b>Sexe</b>                                |  |                          |                 |  |                          |            |                            |                          |              |                       |                     |                       |
| Femelles                                   | 9/20   | 6/20                     | 11/20           | 38/9                                   | 15/6                     | 53/11      | 38/20                      | 15/20                    | 53/20        | 1/20                  | 2/20                | 10/20                 |

|  |                   |                 |                 | (4)        | (3)       | (5)        | (2)        | (0.8)       | (3)        |              |                |                 |
|--|-------------------|-----------------|-----------------|------------|-----------|------------|------------|-------------|------------|--------------|----------------|-----------------|
| <b>Mâles</b>   | 14/23             | 6/23            | 14/23           | 126/14 (9) | 6/6 (1)   | 132/14 (9) | 126/23 (6) | 6/23 (0.3)  | 132/23 (6) | 0/23         | 4/23           | 9/23            |
| <b>Symptômes</b>   |                   |                 |                 |            |           |            |            |             |            |              |                |                 |
| <b>Hypertrophie des nœuds lymphatiques pré-scapulaire/ pré-cruraux</b> | 19/32 (59 ± 17)   | 9/32 (28 ± 16)  | 20/32 (63 ± 17) | 143/19 (8) | 13/9      | 156/20 (8) | 143/32 (4) | 13/32       | 156/32 (5) | 0/1          | 4/6            | 13/19           |
| <b>Anorexie</b>  | 18/35 (51 ± 16.6) | 10/35 (29 ± 15) | 19/35 (54 ± 17) | 145/18 (8) | 15/10     | 160/19 (8) | 145/35 (4) | 15/35       | 160/35 (5) | 1/1          | 6/6            | 13/19           |
| <b>Hyperthermie</b>  | 20/35 (57 ± 16)   | 11/35 (31 ± 15) | 22/35 (63 ± 16) | 161/20 (8) | 18/11     | 179/22 (8) | 161/35 (5) | 18/35       | 179/35 (5) | 1/1          | 5/6            | 14/19           |
| <b>Pétéchies</b>   | 3/7               | 2/7             | 4/7             | 25/3       | 2/2       | 27/4       | 25/7       | 2/7         | 27/7       | 1/1          | /6             | 3/19            |
| <b>Anémie</b>  | 13/19             | 7/19            | 14/19           | 105/13 (8) | 11/7      | 116/14 (8) | 105/19 (6) | 11/19       | 116/19 (6) | 0/1          | 4/6            | 10/19           |
| <b>Ictère</b>  | 11/23             | 6/23            | 13/23           | 45/11      | 14/6      | 59/13      | 45/23      | 14/23       | 59/23      | 1/1          | 1/6            | 10/19           |
| <b>Inflammation locale</b>   | 4/4               | 2/4             | 4/4             | 68/4       | 2/2       | 70/4 (18)  | 68/4 (17)  | 2/4         | 70/4 (18)  | 0/1          | 1/6            | 2/19            |
| <b>Œdème local</b>   | 1/1               | 1/1             | 1/1             | 4/1        | 1/1       | 5/1        | 4/1        | 1/1         | 5/1        | 0/1          | 0/6            | 0/19            |
| <b>Asthénie</b>  | 18/33 (55 ± 17)   | 8/33 (24 ± 15)  | 19/33 (58 ± 17) | 135/18 (8) | 11/8      | 146/19 (8) | 135/33 (4) | 11/33       | 146/33 (4) | 0/1          | 5/6            | 15/19           |
| <b>Dyspnée</b>   | 6/11              | 4/11            | 6/11            | 32/6       | 5/4       | 37/6       | 32/11      | 5/11        | 37/11      | 0/1          | 2/6            | 3/19            |
| <b>Boiterie</b>  | 2/2               | 1/2             | 2/2             | 10/2       | 1/1       | 11/2       | 10/2       | 1/2         | 11/2       | 0/1          | 1/6            | 1/19            |
| <b>Maigrissement</b>   | 9/13              | 6/13            | 9/13            | 47/9       | 7/6       | 54/9       | 47/13      | 7/13        | 54/13      | 0/1          | 2/6            | 4/19            |
| <b>Total</b>   | 23/43 (54 ± 15)   | 12/43 (28 ± 13) | 25/43 (58 ± 15) | 164/23 (7) | 21/12 (2) | 185/25 (7) | 164/43 (4) | 21/43 (0.5) | 185/43 (4) | 1/43 (2 ± 5) | 6/43 (14 ± 10) | 19/43 (44 ± 15) |

ET : Écart-type

Parmi les 19 ovins infectés par *Anaplasma*, cinq étaient co-infectés par *Anaplasma* spp. et *Babesia* spp. et un seul était co-infecté par *Anaplasma* spp. et *Theileria* spp.

L'intensité de l'infection chez les ovins infectés par *Theileria* spp. était faible ( $0,1 \times 10^{-3}$ ). Elle a varié entre  $0,3 \times 10^{-3}$  et  $9 \times 10^{-3}$  pour *Anaplasma* spp. et entre  $0,06 \times 10^{-3}$  et  $3 \times 10^{-3}$  pour *Babesia* spp. (Tableau 5.1).

La majorité des ovins suspects de piroplasmoses et/ou d'anaplasmose présentait une hyperthermie (35/43 ;  $81 \pm 16\%$ ), une anorexie (35/43 ;  $81 \pm 12\%$ ), suivie d'une hypertrophie des nœuds lymphatiques pré-scapulaires (32/43 ;  $74 \pm 13\%$ ) (Figure 5.9). Plus de la moitié d'entre eux ont développé un ictère (23/43 ;  $53 \pm 15\%$ ) (Figure 5.10). Le plus grand nombre de tiques a été collecté sur des ovins fébriles (179/185 ;  $97 \pm 3\%$ ), dont la majorité étaient des *R. bursa* (162/179 ;  $91 \pm 2\%$ ). La boiterie était due à des tiques fixées dans l'espace interdigité. Seulement 16% (7/43) des ovins ont présenté des pétéchies (oculaires ou au niveau de la face interne de la queue).



**Figure 5.9 :** Hypertrophie du nœud lymphatique pré-scapulaire chez un ovin de race locale croisée co-infecté par *Theileria* spp. et *Anaplasma* spp. dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine.



**Figure 5.10** : Ictère visible sur la muqueuse oculaire d'un ovin de race locale co-infecté par *Anaplasma* spp. et *Babesia* spp. dans la commune de Beni Hamidéne (Wilaya de Constantine, Nord-Est de l'Algérie).

#### 5.3.4. Létalité

Parmi les 43 ovins suspects de piroplasmose et/ou d'anaplasmose, 4 ( $9 \pm 9\%$ ) sont morts juste après traitement. Deux ovins morts étaient co-infectés par *Anaplasma* spp. et *Babesia* spp. Les deux autres sont morts mais l'examen microscopique des frottis sanguins n'a révélé aucun hémopathogène.

#### 5.4. Discussion

Dans notre étude, la prévalence globale d'infestation par les tiques était estimée à 58%, elle était supérieure à celle rapportée à Adrar (Sud-ouest de l'Algérie) par BOUHOUSS et al. [404] (29,7%) et en Tunisie par RJEIBI et al. [414] (20,4%), sachant que le présent travail a été réalisé sur des ovins malades, alors

que, les deux autres auteurs ont travaillé sur des ovins apparemment sains. Seul 12% des bergers interrogés utilisaient des acaricides, cela pourrait s'expliquer par deux raisons principales : le coût élevé des acaricides et le manque de sensibilisation des bergers sur le rôle vecteur des tiques.

*Rhipicephalus bursa* représentait 88% des tiques collectées ; les facteurs abiotiques dans la commune de Beni Hamidène conviennent à la présence de cette tique. La proportion de cette espèce est plus élevée que celle rapportée par ELATI et al. [415] (4/722 ; 1%), en Tunisie. Dans le nord de l'Algérie, *R. bursa* représente l'espèce de tique la plus fréquente chez les ovins ; c'est aussi le vecteur le plus important de *B. ovis* [98] ; [416] ; [417].

À El Tarf, nord-est de l'Algérie, LEULMI et al. [418] ont rapporté que, parmi les 529 tiques collectées, 72 étaient *R. bursa*. ABDELKADIR et al. [419] ont rapporté à Sidi Bel Abbas et Saïda (nord-ouest de l'Algérie) que sur les 70 tiques engorgées ou partiellement engorgées, 59 des étaient des *R. Bursa*.

*Rhipicephalus sanguineus* sensu lato représentait seulement 8,6% des tiques collectées ; cette dernière a la capacité à s'adapter à plusieurs hôtes. Cependant, *R. sanguineus* était la tique la plus fréquente en Iran [420]. En Grèce, CHALIGIANNIS et al. [421] ont identifié une seule tique sur les 64 tiques prélevées chez les ovins.

Seules les tiques adultes ont été collectées, l'absence de stades immatures pourrait s'expliquer par le fait que les travaux ont été réalisés en été. Généralement les tiques adultes sont présentes en été [422] ; [9] ; [423].

Afin de confirmer la suspicion clinique, Nous avons utilisé l'étalement de sang coloré au Giemsa comme méthode de diagnostic car les animaux malades présentent une parasitémie élevée [424]. Sur les 43 ovins échantillonnés, 47% étaient infectés par au moins un hémopathogène.

*Anaplasma* spp. était l'hémopathogène le plus fréquent (12/25) chez les 25 ovins infestés par tiques. *Anaplasma* est transmis par plusieurs espèces de tique.

En Algérie (Nord Est), *Anaplasma ovis* a été détecté chez les ovins par la PCR en temps réel (qPCR) [95] [78]. *Anaplasma ovis* a été identifié chez les ovins au Sénégal (55,9%) [425]. Une étude sur l'anaplasmose ovine a été réalisée à Kairouan (centre de la Tunisie) sur les 8 049 ovins examinés par étalement de sang coloré au Giemsa, 282 étaient infectés par *A. ovis* [283]. En utilisant la PCR, BELKAHIA et al. [426] ont rapporté qu'en Tunisie, 70,1% (143/204) des ovins apparemment sains étaient infectés par *A. ovis*. Au Soudan, LEE et al. [427] ont rapporté qu'*A. ovis* était l'agent pathogène le plus répandu (52/62 ; 83,9%).

*Babesia* spp. a été identifié chez 14% des ovins examinés (6/43). Ce taux est supérieur à celui rapporté en Inde (État du Karnataka) par KAGE et al.[62] (8/225 ; 3,55%), ces derniers ont travaillé sur des animaux suspects et des animaux non malades en utilisant comme technique de dépistage l'étalement de sang coloré au Giemsa. Cependant, dans notre étude, nous n'avons travaillé que sur des ovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose et faible nombre d'animaux échantillonnés. La prévalence était inférieure à celle rapportée par NADERI et al. [428] (38/306 ; 9,9%) en Iran qui n'ont travaillé que sur des animaux suspects de babésiose.

Un seul ovin (2%) était infecté par *Theileria* spp. Ce taux est similaire à celui rapporté par RJEIBI et al. [93] en Tunisie (2/166) en utilisant l'étalement de sang coloré au Giemsa. Une étude basée sur le diagnostic moléculaire a été réalisée au Kenya, elle a révélé que 51,3% (39/76) des ovins étaient infectés par *Theileria* spp. [61].

En Turquie, la technique de reverse line blotting (RLB) a permis la détection de *Theileria* spp chez 28,9% (37/128) des ovins testés.

La majorité des ovins présentant des symptômes de piroplasmose et/ou d'anaplasmose (32/43 ; 74 ± 13%) présentaient une hypertrophie des nœuds lymphatiques pré-scapulaires. Elle est généralement observée chez des animaux cliniquement infectés par *T. lestoquardi*, qui est principalement transmis par *Hyalomma anatolicum* [209] ; [182] ; [187]. *Rhipicephalus turanicus* et *H. impeltatum* sont suspectées d'être des vecteurs de *T. lestoquardi* [296] ; [298].

En conclusion, *Rhipicephalus bursa* a été l'espèce de tique la plus dominante chez les ovins et *Anaplasma* spp. était l'hémopathogène le plus fréquent chez les animaux malades dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine.

Des études approfondies sont nécessaires afin d'identifier la faune ixodienne qui infestent les ovins pour pouvoir proposer une bonne stratégie de lutte contre les tiques et aussi identifier les hémopathogènes infectant les ovins.

## CHAPITRE 6

### CO-INFECTIONS DES BOVINS PAR LES HÉMOPATHOGÈNES (*THEILERIA*, *BABESIA* ET *ANAPLASMA*) ET LEURS ANALYSE PHYLOGÉNÉTIQUE DURANT LA PÉRIODE D'ACTIVITÉ DES TIQUES

#### 6.1. Introduction

Les hémopathogènes sont des maladies transmises par les tiques causant d'importantes pertes économiques pour la filière bovine. En Afrique du Nord, la theilériose tropicale bovine, les babésioses et l'anaplasmose sont les maladies les plus fréquentes.

L'anaplasmose bovine est une rickettsiose transmise par les tiques, elle est due à des bactéries intra-érythrocytaires strictes à Gram négatif, *Anaplasma marginale* est l'agent majeur de cette maladie [371] ; [393] ; [429] ; [374] ; [430] ; [377] ; [379]. *Anaplasma marginale* est transmise biologiquement par des tiques appartenant aux genres *Rhipicephalus*, *Hyalomma* et *Dermacentor*, elle peut aussi être transmise mécaniquement par plusieurs arthropodes hématophages [431] ; [432] ; [375] ; [433] ; [434]. L'anaplasmose bovine se caractérise par une fièvre, une anorexie, une anémie hémolytique mais l'absence d'hémoglobinurie, une léthargie, un ictère, une hypogalactie, un amaigrissement, un avortement et parfois la mort de l'animal [381] ; [435].

Les babésioses bovines sont des maladies à transmission vectorielle, elles sont dues à des protozoaires intra-érythrocytaires obligatoires du genre *Babesia* [21]. Les babésioses sont des maladies saisonnières dont l'apparition correspond à la période d'activité des tiques. En Algérie, l'infection est due à deux principalement à espèces : *B. bovis* et *B. bigemina*, transmises par *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. *Babesia bovis* est plus pathogène que *B. bigemina* [436]. L'infection des bovins par *B. bovis* et *B. bigemina* se manifeste principalement en été et à

l'autonome. L'animal malade présente une fièvre, une déshydratation, une anorexie, une hémoglobinurie, une anémie, un ictère, une tachycardie, une dyspnée, une hypogalactie, un amaigrissement, elle peut occasionnellement causer une létalité élevée chez les bovins de race exotiques [21] ; [399] ; [58] ; [84]. *Babesia bovis*, peut induire des signes nerveux [36].

La theilériose tropicale bovine est une maladie infectieuse non contagieuse, due à *Theileria annulata*, elle est transmise de façon transstadiale par des tiques appartenant au genre *Hyalomma*. La maladie affecte les bovins sur trois continents : l'Afrique, l'Asie et l'Europe [185] ; [181]. En Algérie, *H. scupense* est le principal vecteur de *T. annulata* [77]. La majorité des cas cliniques de theilériose tropicale sont observées entre mai et septembre [63]. La theilériose tropicale bovine se caractérise par une fièvre, une anorexie, une hypertrophie des nœuds lymphatiques, une anémie, des pétéchies oculaires et vulvaires, un ictère, une hémoglobinurie, un amaigrissement, un avortement et parfois la mort de l'animal [202] ; [355] ; [76].

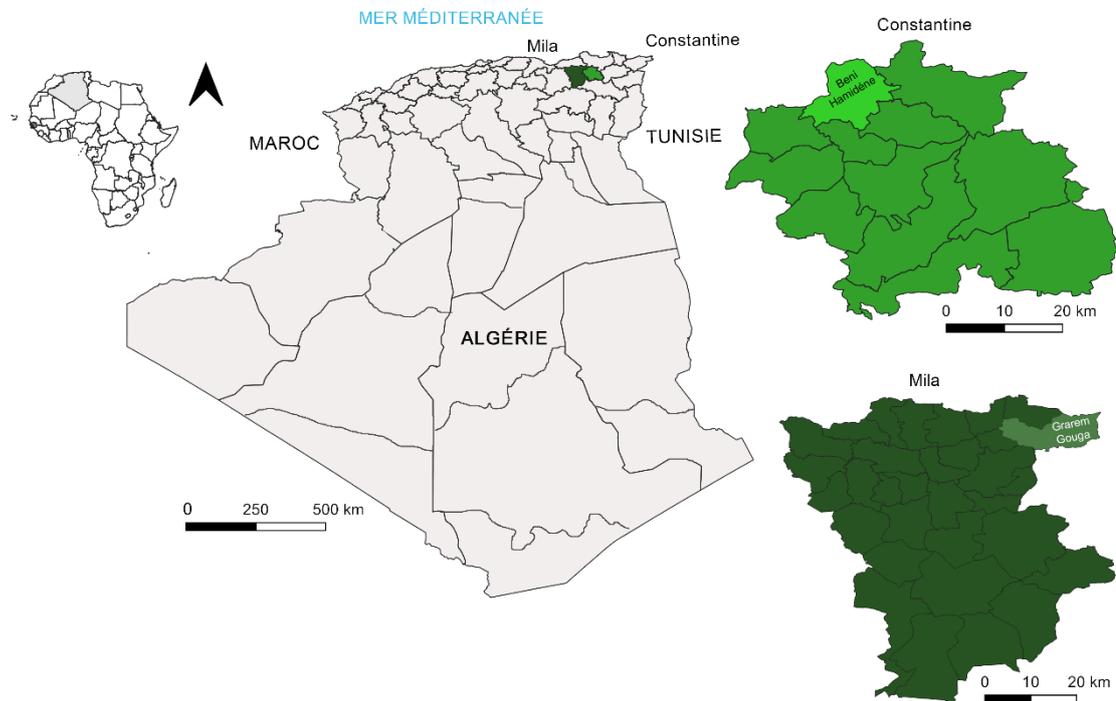
Dans les régions reculées, les bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmoses sont traités sur la base d'éléments épidémio-clinique. Cela favorise le développement de résistance aux médicaments, ce qui représente un risque potentiel pour l'élevage et augmente les pertes économiques subis par l'éleveur.

La présente étude a pour objectif d'étudier les co-infections des bovins par des hémopathogènes chez des animaux présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose en utilisant deux techniques de diagnostic : l'étalement de sang coloré au Giemsa et la réaction de polymérisation en chaîne (PCR). Des analyses phylogénétiques ont été effectuées sur les séquences obtenues à partir des amplicons ainsi que l'infestation de ces bovins par les tiques pendant la saison des tiques.

## 6.2. Matériel et méthodes

### 6.2.1. Région d'étude

La présente étude a été réalisée dans les deux communes : Beni Hamidéne (36°30'N ; 6°31'E) et Grarem Gouga (36°30'N ; 6°19'E), respectivement des Wilayas de Constantine et Mila (Nord-Est algérien) (Figure 6.1). L'étude a été effectuée durant les périodes chaudes (début mai à fin septembre) de quatre années : 2017, 2018, 2020 et 2021.



**Figure 6.1** : Carte géographique de la région d'étude [437].

La commune de Beni Hamidène a une superficie de 134 km<sup>2</sup> et une élévation maximale de 1,362 m [438]. À Beni Hamidène, le cheptel bovin est estimé à 5 750 animaux dont 2 925 vaches [439].

La commune de Grarem Gouga se situe au nord-est de la Wilaya de Mila. Elle a une superficie de 141 km<sup>2</sup>, elle se caractérise par un climat subhumide avec un été chaud et sec. Elle abrite environ 3 911 bovins, dont 1 660 vaches laitières et 599 génisses [440].

### 6.2.2. Élevage et animaux

L'étude a été réalisée dans 51 élevages contenant un nombre total de 609 bovins. La majorité des élevages (46/51 ; 90,2 %) étaient situés dans la commune de Beni Hamidène. La taille moyenne des élevages était de 12,9 (valeurs extrêmes : 6-60). La quasi-totalité des étables (50/51 ; 98%) avaient des murs crevassés. La majorité des élevages (34/51 ; 66,7%) abritaient d'autres espèces animales et

90,2% (46/51) étaient conduits selon un mode semi-intensif ; 7,8% (4/51) un mode intensif et 2% (1/51) selon un mode extensif.

L'âge moyen des bovins était de 3 ans (âges extrêmes : 3 mois à 10 ans) et plus de la moitié d'entre eux étaient des femelles (43/66 ; 65,2%) (sex-ratio M : F = 0,53). La majorité des bovins (40/66 ; 60,6 ± 6%) étaient de race croisée, suivis par les races pures exotiques (Holstein, Charolaise, Montbéliarde et Frisonne) (17/66 ; 25,8 ± 6%) et la race locale Brune de l'Atlas (9/66 ; 13,6 ± 4,2%).

Plus de la moitié des éleveurs (28/51 ; 54,9 ± 7%) utilisaient des acaricides pour lutter contre les tiques. Vingt-quatre utilisent la fluméthrine (Bayticol 1%®, Bayer, Allemagne). Trois préfèrent le phoxime (Sebacil® 50%, Bayer, Allemagne) et un seul utilise les deux.

Seuls les bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmoses (66/609 ; 10,84 ± 1,3%) ont été inclus dans la présente étude. Ils présentaient au moins un des symptômes suivants : une hypertrophie des nœuds lymphatiques, une asthénie, une fièvre, une anémie, un ictère, une anorexie, des pétéchies oculaires/vulvaires, une hypogalactie et un amaigrissement.

### 6.2.3. Collecte et identification des tiques

Les corps de tous les bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmoses ont été examinés minutieusement et toutes les tiques trouvées sur les animaux ont été collectées et conservées dans des flacons étiquetés et hermétiques contenant de l'éthanol à 70%. L'identification des tiques a été réalisée au laboratoire (Cf. chapitre 5, page 114).

### 6.2.4. Prélèvements sanguins

Les prélèvements de sang ont été effectués dans des tubes stériles contenant un anticoagulant EDTA à partir de la veine jugulaire de chaque bovin présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmoses, transféré dans des tubes Eppendorf, puis conservés à - 20°C jusqu'à utilisation.

Les étalements de sang coloré au Giemsa ont été réalisés au niveau des capillaires auriculaires des bovins présentant des symptômes d'anaplasmosse et/ou de piroplasmose (Cf. chapitre 4, page 97).

#### 6.2.5. Diagnostic moléculaire des hémopathogènes

##### 6.2.5.1. Extraction d'ADN à partir du sang

L'extraction d'ADN a été réalisée à partir du sang total en utilisant un kit Promega (Wizard® Genomic DNA Purification Kit, A1125).

Les échantillons ont été décongelés à température ambiante ou dans l'étuve à 37°C.

Un volume de 300 µl de sang contenant un anti-coagulant a été transféré dans de nouveaux tubes Eppendorf de 1,5 ml. Neuf cents microlitres de Solution de lyse des cellules « Cell Lysis Solution » ont été ajoutés et mélangés au sang, puis incubés à température ambiante pendant 5 minutes en inversant deux à trois fois les tubes afin de lyser les érythrocytes, centrifugés à 16 000 g pendant 2 minutes toujours à température ambiante.

Le surnageant a été délicatement éliminé avec une micropipette en veillant à ne pas toucher le culot. Le culot a été vortexé pendant 10 à 20 secondes. 300 µl de « Nuclei Lysis Solution » ont été déposés et mélangés au culot. La solution devient plus visqueuse.

Un volume de 1,5 µl de « RNAase Solution » a été ajouté et le tout a été mélangé en inversant 2 à 5 fois les tubes.

La solution a été incubée pendant 15 minutes à 37°C, puis laissée refroidir à température ambiante. Cent microlitres de « Protein Precipitation Solution » ont été ajoutés, vortexés pendant 10 à 20 secondes, puis centrifugés à 16 000 g pendant 5 minutes. Trois cents microlitres d'isopropanol ont été versés dans des nouveaux tubes Eppendorf identifiés.

Le surnageant a été récupéré et placé dans les nouveaux tubes et mélangé en inversant 10 fois les tubes, une pelote d'ADN se forme. Les tubes ont été centrifugés à 16 000 g pendant 5 min à température ambiante.

Le surnageant a été délicatement éliminé du côté opposé où l'ADN a été collé. Trois cents microlitres d'éthanol à 70% ont été ajoutés, mélangés en inversant les tubes puis centrifugés à 16 000 g pendant 2 min.

Le surnageant a été délicatement éliminé. Les tubes ont été séchés en laissant les couvercles ouverts sous une hotte pendant 45 min. Cent microlitres de « DNA Rehydration Solution » ont été ajoutés, et l'ADN a été laissé toute une nuit à + 4°C pour se réhydrater avant d'être stocké à -20°C.



**Figure 6.2:** Kit d'extraction d'ADN Promega (Wizard® Genomic DNA Purification Kit, A1125).

### 6.2.5.2. PCRs spécifiques aux hémopathogènes

Des PCRs spécifiques visant quatre hémopathogènes : *Anaplasma marginale*, *Theileria annulata*, *Babesia bovis* et *Babesia bigemina* ont été effectuées.

#### PCR *Anaplasma marginale*

La réaction de la PCR a été effectuée dans un volume réactionnel de 50 µl dans un tube contenant 25 µl de 2x Taq PCR Master Mix (0,25 U/µl Taq ADN polymérase, tampon 2x, 0,4 mM de chaque désoxyribonucléotide triphosphate, 3,2 mM MgCl<sub>2</sub> et 0,02% de bleu de bromophénol (A4145\_1 MI, Biomatik)), 10 pmol de chaque amorce. Le volume de la réaction est complété avec de l'eau ultra pure exempte de nucléase. Dans chaque réaction, deux contrôles ont été ajoutés : un témoin positif d'ADN pour vérifier la fiabilité des résultats et un autre négatif où l'ADN est substitué par de l'eau distillée ultra-pure pour détecter d'éventuelles contaminations.

Toutes les réactions de PCR ont été effectuées dans un thermocycleur ESCO Swift MaxPro (ESCO, Singapour) réglé sur le programme d'amplification suivant : une dénaturation initiale de 30 s à 94°C suivie de 35 cycles (dénaturation à 94°C pendant 30 s, hybridation à 65°C pendant 30 s et élongation à 72°C pendant 1 minute) et une phase d'élongation finale à 72°C pendant 10 min.

#### PCR *Theileria annulata*

L'amplification a été réalisée dans un volume réactionnel de 50 µl contenant un tampon PCR 10x, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> (100 mM), 200 µM de chaque dNTP, 70 pmol de chaque amorce, 3 µl d'ADN matrice et 2,5 U de Taq ADN polymérase (DFS\_HotTaq DNA, BIORON). Le volume de la réaction est complété avec de l'eau ultra-pure.

### PCRs *Babesia bovis* et *Babesia bigemina*

Deux PCRs nichées utilisant chacune deux couples d'amorces ont été réalisées : la première PCR niché visait le gène *rap-1* (protéine associée à la rhoptrie 1) de *B. bovis* et la deuxième le gène *gp45* (glycoprotéine de surface de mérozoïte d'un poids moléculaire 45 daltons) de *B. bigemina*.

La première PCR utilise comme couple d'amorce le premier (BbovF et BbovR) pour *Babesia bovis* et le deuxième (BbigF et BbigR) pour *Babesia bigemina*. Elle se réalise dans un volume réactionnel de 25 µl contenant un tampon PCR 10x, 2 mM MgCl<sub>2</sub> (100 mM), 0,4 mmol/L de chaque désoxyribonucléotide triphosphate, 0,4 et 0,6 µM respectivement de chaque amorce pour *B. bovis* et *B. bigemina*, 1,25 U de Taq ADN polymérase et 3 µl d'ADN matrice.

La deuxième PCR utilise 2 et 1 µl de produit de PCR 1 respectivement pour *B. bovis* et *B. bigemina* dans un volume réactionnel de 50 µl en utilisant le même volume de réactifs de la PCR 1 mais avec d'autres couples d'amorces, le premier (BbovnF et BbovnR) pour *B. bovis* et le deuxième (BbignF et BbignR) pour *B. bigemina*. Le volume de la réaction est complété avec de l'eau ultra-pure.

La séquence de chaque amorce, le poids moléculaire et la température d'hybridation sont indiqués dans le tableau 6.1.

Les échantillons ont été amplifiés dans un thermocycleur selon le programme décrit par D'OLIVEIRA et al. [304] pour *Theileria annulata* et par MTSHALI et MTSHALI [58] pour *B. bovis* et *B. bigemina* (Tableau 6.1).

#### 6.2.5.3. Électrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse sur gel d'agarose a pour but la séparation des fragments en fonction de leur taille et de leur charge électrique.

Tous les produits de PCR spécifiques ont été analysés par une électrophorèse sur un gel d'agarose à 1% pour *T. annulata* et 1,2% pour *A. marginale*, *B. bovis* et *B. bigemina*.

#### Principe de l'électrophorèse sur gel d'agarose

Un mélange de 1,5 g d'agarose et 150 ml de Tris Acétate EDTA (TAE) a été fondu dans un micro-onde, puis refroidit puis 9 µl de bromure d'éthidium (BET) a été ajouté. Le gel obtenu a été coulé dans le moule avec un peigne. Après le refroidissement et la gélification du gel, le peigne a été enlevé, et le moule a été placé dans la cuve de migration, en s'assurant que cette dernière contient un volume suffisant de solution tampon (TAE).

Au total, 3 µl de tampon de charge (Bleu de bromophénol) a été mélangé avec 5 µl de chaque produit d'amplification, et déposé dans chaque puits du gel. Cinq microlitres de marqueur de taille ont été placés dans le premier puits. Le gel a été soumis à un courant électrique en appliquant une tension de 10 v/cm de gel pendant 30 à 45 min. Enfin, les produits ont été visualisés par transillumination aux ultraviolets, et le gel a été photographié.

**Tableau 6.1 :** Amorces oligonucléotidiques de *Theileria annulata*, *Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina* et *Babesia bovis* utilisées dans la présente étude pour la PCR simple et la PCR nichée.

| Espèce                     | Gène         | Couple d'amorces (5' - 3')  | Poids moléculaire (pb) | Nombre de cycles | Température d'hybridation (°C) | Références                |
|----------------------------|--------------|---|------------------------|------------------|--------------------------------|---------------------------|
| <b>PCR simple</b>          |              |   |                        |                  |                                |                           |
| <i>Theileria annulata</i>  | <i>Tams1</i> | N516 : GTAACCTTTAAAAACGT<br>N517 : GTTACGAACATGGGTTT  | 721                    | 30               | 55                             | d'OLIVEIRA et al. [304]   |
| <i>Anaplasma marginale</i> | <i>mSP4</i>  | MSP45 :<br>GGGAGCTCCTATGAATTACAGAGAATTGTTTAC<br>MSP43 : CCGGATCCTTAGCTGAACAGGAATCTTGC                               | 867                    | 35               | 65                             | DE LA FUENTE et al. [441] |
| <b>PCR nichée</b>          |              |   |                        |                  |                                |                           |
| <i>Babesia bigemina</i>    | <i>gp45</i>  | BbigF : GTGCTGCTTAATCGCACAAAC   | 963                    | 35               | 55                             | MTSHALI et MTSHALI. [58]  |
|                            |              | BbigR : AAGATGCCTTCTTCGGTGATG<br>BbignF : CGGATCCTGTTATCGTTCCTG<br>BbignR : GAAGTTACGCCTGGAGTTGG                    | 853                    | 35               | 56                             |                           |
|                            |              |   |                        |                  |                                |                           |
| <i>Babesia bovis</i>       | <i>rap-1</i> | BbovF : TCAGATTGTTCAAAGAGAGTGCATCC  | 1,280                  | 35               | 55                             | MTSHALI et MTSHALI. [58]  |
|                            |              | BbovR : GTCTTCACCGTTGGAAGTAGTTGAGTC<br>BbovnF : CACGAGGAAGGAACACTACCGATGTTGA<br>BbovnR : CCTTTGTAGGTTGGCCAACAGTTTCG | 1,009                  | 35               | 64                             |                           |
|                            |              |   |                        |                  |                                |                           |

#### 6.2.5.4. Séquençage et analyses phylogénétiques

Le séquençage est une synthèse *in vitro* d'ADN en ajoutant de manière aléatoire des di-désoxyribonucléotides (ddNTP), ces derniers sont différents des dNTP par l'absence d'un groupement OH.

L'ADN purifié appelé matrice doit être présent en grande quantité et mis en contact avec un mélange réactionnel comprenant une ADN polymérase (Taq polymérase), une amorce s'hybridant en 3' du fragment à séquencer, un tampon et un mélange de dNTP + ddNTP. Chaque ddNTP porte un fluorochrome spécifique et agit comme un terminateur de chaîne. La réaction de séquençage se réalise avec un très grand nombre de copies de la matrice avec incorporation d'un ddNTP à toutes les positions possibles et par conséquent, la formation de fragments néosynthétisés porteur de ddNTP fluorescent de différentes tailles. Les séquences obtenues ainsi sont alignées, comparées et analysées.

Dans cette étude, 10, 7, 4 et 2 amplicons respectivement de *T. annulata*, *B. bovis*, *A. marginale* et *B. bigemina* ont été choisis au hasard pour être séquencés.

Les amplicons ont été expédiés à la plateforme Microsynth France (Vaulx en Velin, France) au sein de laquelle ils ont été purifiés avec un Kit pour purification d'ADN (ExoSAP-IT®, Thermo Fisher Scientific) conformément aux instructions du fabricant. Les réactions de séquençages ont été réalisées à l'aide du kit BigDye Terminator V3.1 (Thermo Fisher Scientific). Le marquage de chaque a été réalisé à l'aide du kit BigDye XTerminator™ (Thermo Fisher Scientific) puis analysé avec le 3730xl DNA Analyzer en utilisant la méthode de Sanger. Les amplicons ont été séquencés dans les deux sens.

#### 6.2.5.5. Analyse bio-informatique

L'analyse des séquences obtenues (électrophorégramme) a été effectuée en utilisant le logiciel **Chromas** (version 2.6.6). L'alignement des séquences a été réalisé avec le logiciel **BLAST** (*Basic Local Alignment SearchTool*). Les

séquences obtenues ont été comparées aux séquences d'ADN disponibles dans la base des données de séquences (**GenBank**), développé par le Centre américain pour les informations biotechnologiques (**NCBI**). Le logiciel **MEGA** 11. 0.13 a été utilisé pour réaliser les alignements multiples [442]. Toutes les séquences obtenues présentant une identité de 100% ont été considérées comme une seule et même séquence.

Les arbres phylogénétiques ont été établis selon la méthode de neighbour-joining (NJ) en utilisant le logiciel MEGA 11. 0.13, chacun a été analysé par un Bootstrap après 10 000 itérations.

Les séquences partielles de *Tams1*, *mSP4*, *rap-1*, *gp45*, respectivement, de *T. annulata*, *A. marginale*, *B. bovis* et *B. bigemina* obtenues dans cette étude ont été déposées dans GenBank sous les numéros d'accès OP105161, OP749972, OP649851, OP762688, OP762689 et OP762687.

Il n'y avait pas un groupe externe (outgroup) approprié pour la construction des arbres phylogénétiques de *B. bigemina* et *B. bovis*.

#### 6.2.6. Indicateurs épidémiologiques et analyses statistiques

L'estimation des indicateurs épidémiologiques et les intensités d'infections ont été décrits dans le chapitre 5 pages 115.

Les tests de chi carré et de khi-deux de Mantel-Haenszel au seuil de 5% ont été utilisés pour comparer les différents pourcentages en utilisant le logiciel Épi info [386].

#### 6.2.7. Traitements

À l'exception d'un seul éleveur qui a refusé de traiter son veau femelle, tous les animaux présentant des symptômes de piroplasmose et/ou d'anaplasmosse (65/66 ; 98,5 ± 1,5%) ont reçu une injection de buparvaquone (Butacof 5<sup>®</sup>,

Boehringer Ingelheim, Allemagne) à la dose conventionnelle de 2,5 mg/kg par la voie intramusculaire. Les animaux atteints d'anaplasmoses ont reçu de l'oxytétracycline (Tenaline<sup>®</sup> L.A., Ceva, France) à la dose conventionnelle de 20 mg/kg. La méloxicam (Melovem<sup>®</sup> 20 mg/ml, Dopharma, Pays-Bas) a été administrée aux bovins fébriles par voie sous-cutanée à la dose conventionnelle de 0,5 mg/kg (46/65 ; 70,8 ± 5,6%). Le diminazène (FA.TRY.BANIL<sup>®</sup>, Fatro, Italie) a été injecté à la dose conventionnelle de 3,3 mg/kg aux bovins présentant les signes cliniques de babésioses. Les bovins anémiques (27/65 ; 41,5 ± 6,1%) ont reçu un traitement antianémique (Hematofos B12<sup>®</sup>, Agrovet Market, Pérou) à la dose conventionnelle de 5-10 et 10-12 mL respectivement pour les jeunes bovins et les bovins adultes. Les bovins souffrants de troubles digestifs et hépatiques ont reçu par voie orale pendant 5 jours du Sodiazot<sup>®</sup> (Biove, France) (30 et 50 à 80 mL respectivement pour les jeunes bovins et les bovins adultes). Une Poudre pour suspension buvable (Aluminal<sup>®</sup>, Merial, France) a été administrée *per os* aux animaux présentant une diarrhée (8/65 ; 12,31 ± 4,1%) à la dose conventionnelle de 15 et 30 g. les animaux souffrant de troubles digestifs (8/65 ; 12,31 ± 4,1%) ont reçu par voie orale 30 à 60 mg de Rumicen Poudre Complex (Cenavisa, Espagne).

### 6.3. Résultats

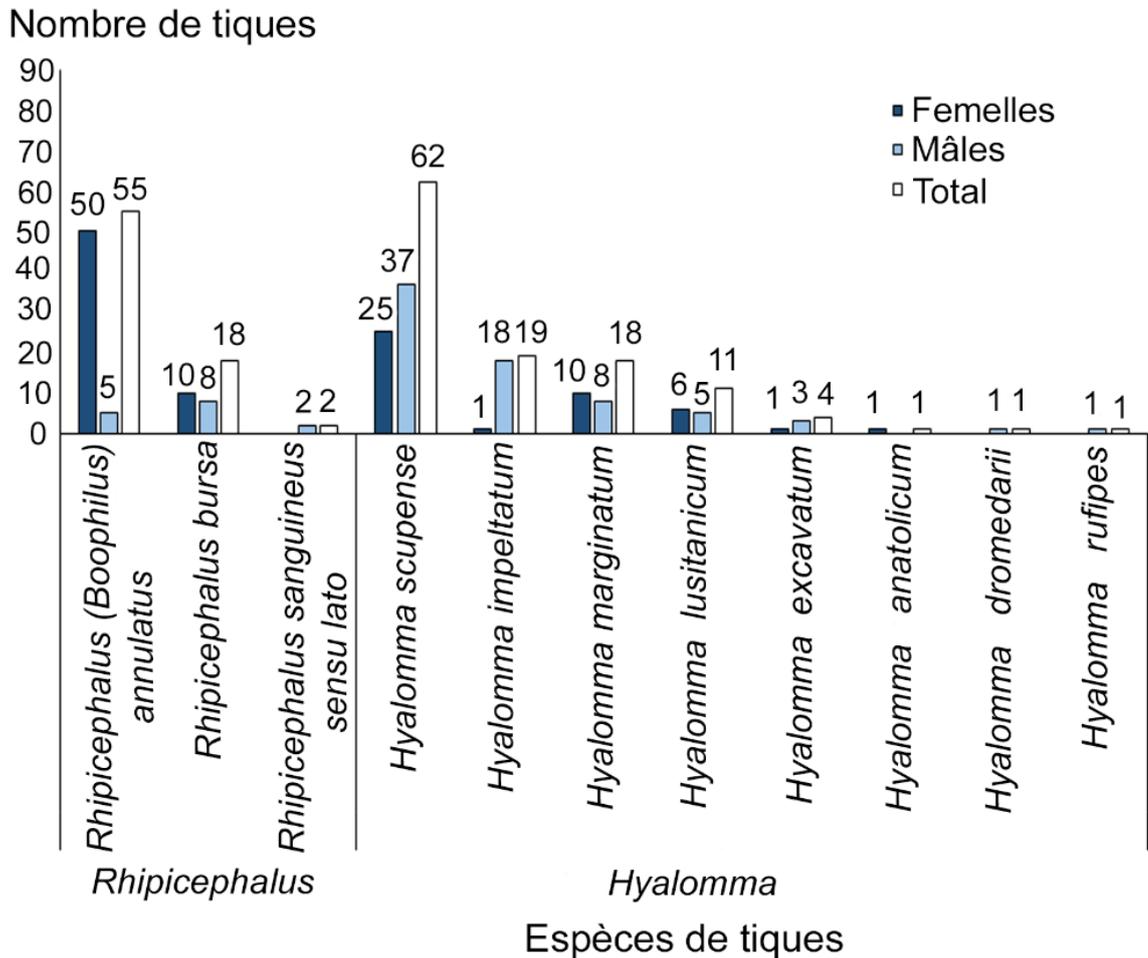
#### 6.3.1. Indicateurs parasitologiques

##### 6.3.1.1. Infestation par les tiques

La moitié des bovins présentant des symptômes d'anaplasmoses et/ou de piroplasmose (33/66 ; 50 ± 6,2%) étaient infestés par au moins une tique. Au total 200 tiques ont été collectées, dont 192 adultes et 8 nymphes (5 *Rhipicephalus* (*Boophilus*) spp. et 4 *Rhipicephalus* spp.) ( $p < 0,001$ ). Parmi les 192 tiques adultes, 108 étaient des femelles (sex-ratio M : F = 0,85).

Dans cette étude, onze espèces de tiques appartenant à deux genres : *Rhipicephalus* (83/200 ; 41,5 ± 3,5%) et *Hyalomma* (117/200 ; 58,5 ± 3,5%) ont été collectées ( $p < 0,001$ ). *Hyalomma scupense* (62/192 ; 32,29 ± 3,4%) et

*Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* (55/192 ; 28,65 ± 3,3%) représentaient plus de la moitié des tiques adultes (60,9 ± 3,5%) (Figure 6.3).



**Figure 6.3 :** Espèce de tiques collectées chez les bovins présentant des symptômes d'anaplasmosse et/ou de piroplasmose, dans les deux communes de Beni Hamidéne et de Grarem Gouga, respectivement des Wilayas de Constantine et de Mila.

L'intensité d'infestation et l'abondance moyenne globale étaient respectivement de 6,06 et 3,03. La majorité des bovins infestés (23/33 ; 70 ± 8%) étaient co-infestés par au moins deux espèces de tiques dont deux animaux étaient co-infestés par quatre espèces et un par cinq espèces de tiques.

Parmi les 33 bovins infestés, 23 (69,7 ± 8%) étaient des femelles ( $p > 0,05$ ). Plus de la moitié des tiques adultes (132/192 ; 68,8 ± 3,3%) et toutes les nymphes

(n=8) ont été retrouvées sur des bovins femelles ( $p < 0,001$ ). Presque toutes les tiques adultes de *Rh. (Boophilus) annulatus* (52/55 ;  $94,5 \pm 3,1\%$ ) ont été collectés sur des bovins femelles ( $p < 0,001$ ).

Presque la moitié des tiques adultes ont été collectées en juin (87/192 ;  $45,31 \pm 3,6\%$ ). En revanche, plus d'un tiers de *Rh. (Boophilus) annulatus* ont été collectées en septembre (21/55 ;  $38,2 \pm 6,6\%$ ) et presque toutes les tiques *Hy. scupense* (59/62 ;  $95,2 \pm 2,7\%$ ) ont été collectées en juin (29/62) et en juillet (30/62).

Les figures 6.4, 6.5 et 6.6 représentent quelques spécimens de tiques collectées et identifiées sous la loupe binoculaire.



**Figure 6.4 :** *Hyalomma rufipes* mâle, face dorsale, collecté chez un bovin de race croisée infecté par *Theileria annulata* (Photo de l'auteur).



**Figure 6.5 :** *Hyalomma excavatum* mâle, face dorsale, collecté chez un bovin de race croisée infecté par *Theileria annulata* (Photo de l'auteur).



**Figure 6.6 :** *Hyalomma lusitanicum* mâle, face dorsale, collecté chez un bovin de race croisée co-infecté par *Theileria annulata* et *Anaplasma marginale* (Photo de l'auteur).

### 6.3.2. Sites de prédilection anatomique des tiques

Chez les bovins mâles, les adultes d'*Hy. Scupense* ont été retrouvés sur plusieurs sites de fixation avec une forte infestation au niveau des testicules (11/62 ;  $17,7 \pm 4,9\%$ ). Chez les bovins femelles, les adultes de *Rh. (Boophilus) annulatus* ont été surtout observés au niveau du ventre (19/55 ;  $34,5 \pm 6,4\%$ ) et de la mamelle (12/55 ;  $21,8 \pm 5,6\%$ ).

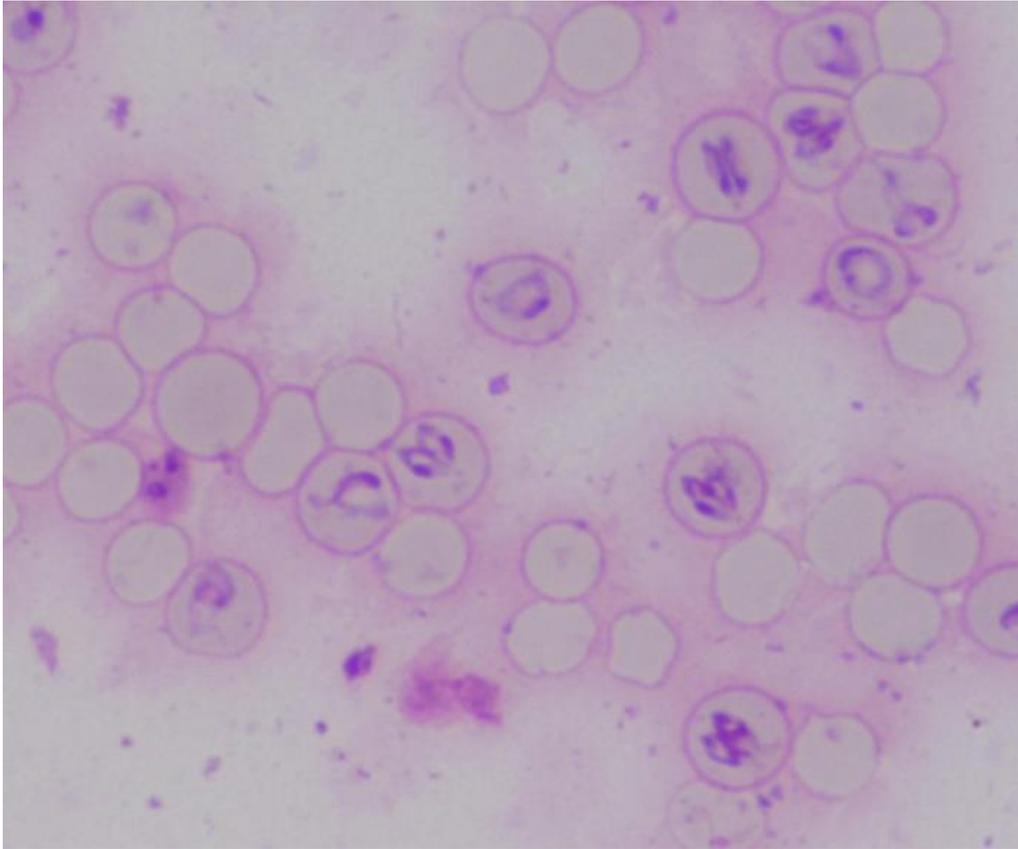
### 6.3.3. Infection par les hémopathogènes

Tous les élevages visités (n=51) contenaient au moins un bovin infecté par au moins un hémopathogène et dans chacune d'eux, il y avait au moins un bovin infecté par *T. annulata*. En outre, la PCR a montré que  $39,2 \pm 5,7\%$  (20/51) ;  $29,4 \pm 6,4\%$  (15/51) et  $5,9 \pm 2,6\%$  (3/51) des élevages visités respectivement contenaient au moins un bovin infecté par *B. bovis*, *A. marginale* et *B. bigemina* ( $p < 0,001$ ). La technique d'étalement de sang coloré au Giemsa a révélé que  $72,5 \pm 6,2\%$  (37/51) ;  $11,8 \pm 4,5\%$  (6/51) et  $13,7 \pm 4,8\%$  (7/51) des fermes visitées respectivement contenaient au moins un bovin infecté par *T. annulata*, *A. marginale* et *Babesia* spp. ( $p = 0,002$ ).

La PCR a révélé que tous les bovins présentant des symptômes de piroplasmose et/ou d'anaplasmoses (n=66) étaient infectés par *T. annulata*, suivi par *B. bovis* (21/66 ;  $31,8 \pm 5,7\%$ ), *A. marginale* (15/66 ;  $22,7 \pm 5,2\%$ ) et *B. bigemina* (3/66 ;  $4,5 \pm 3,2\%$ ) ( $p < 0,001$ ). Cependant, La technique d'étalement de sang coloré au Giemsa a révélé que  $66,7 \pm 5,8\%$  (44/66) ;  $10,6 \pm 3,8\%$  (7/66) et  $9,1 \pm 3,5\%$  (6/66) des bovins respectivement étaient infectés par *T. annulata*, *Babesia* spp. et *A. marginale* ( $p < 0,001$ ).

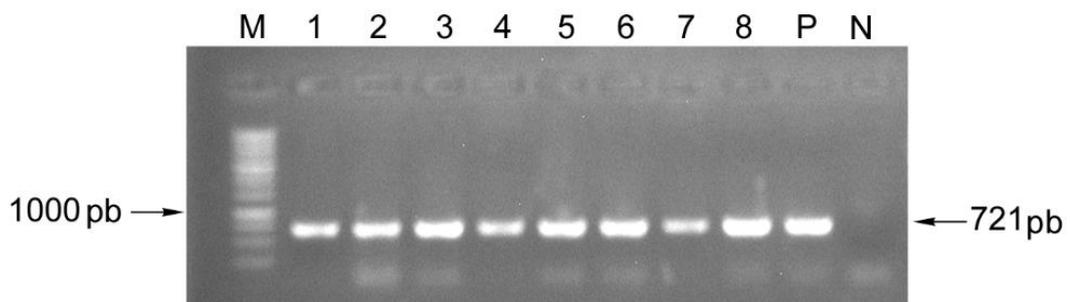
Sept co-infections ont été identifiées : *T. annulata/A. marginale* (15/66 ;  $22,7 \pm 5,2\%$ ) ; *T. annulata/B. bovis* (21/66 ;  $31,8 \pm 5,7\%$ ) ; *T. annulata/B. bigemina* (3/66 ;  $4,5 \pm 2,6\%$ ) ; *T. annulata/A. marginale/B. bovis* (7/66 ;  $10,6 \pm 3,8\%$ ) ; *T. annulata/B. bovis/B. bigemina* (2/66 ;  $3 \pm 2,1\%$ ) ; *T. annulata/A. marginale/B. bigemina* (1/66 ;  $1,5 \pm 1,5\%$ ) et *T. annulata/A. marginale/B. bigemina/B. bovis* (1/66 ;  $1,5 \pm 1,5\%$ ) (Tableau 6.2). En considérant que la PCR comme technique de référence pour la détection de *T. annulata*, la sensibilité de l'étalement de sang coloré au Giemsa était de 67%.

La figure 6.7 montre un étalement de sang coloré au Giemsa d'un bovin infecté par *Babesia bigemina*.



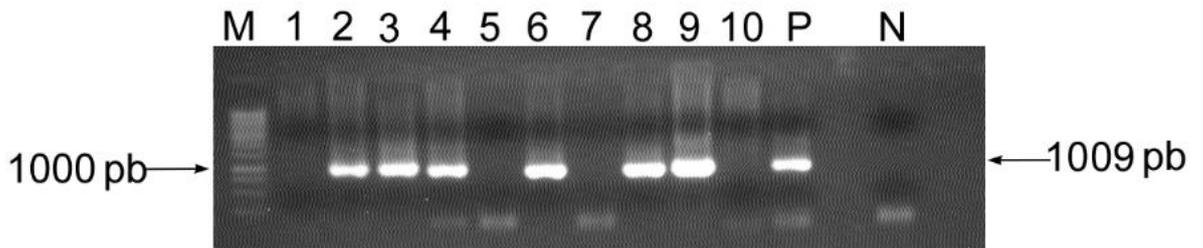
**Figure 6.7 :** Étalement de sang coloré au Giemsa montrant *Babesia bigemina* (objectif x 1000) [147].

Les figures 6.8 ; 6.9 ; 6.10 et 6.11 montrent respectivement les profils d'amplifications des gènes *Tams1* de *Theileria annulata* ; *rap-1* de *Babesia bovis*, *msp4* de *Anaplasma marginale* et *gp45* de *Babesia bigemina*.



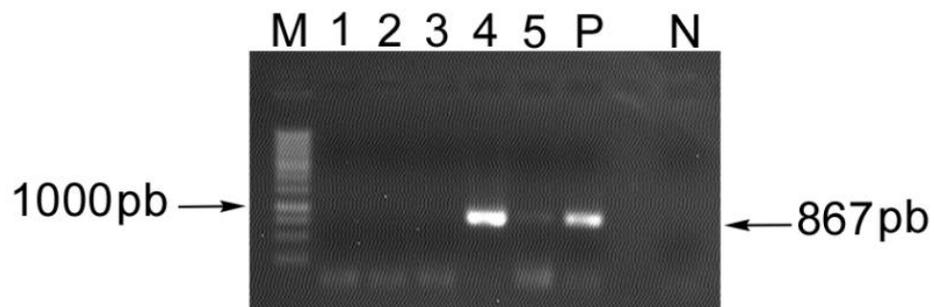
**Figure 6.8 :** Photographie d'un gel d'agarose à 1% montrant le résultat d'amplification du gène *Tams1* de *Theileria annulata* de huit échantillons de bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose.

M : marqueur de taille ; 1 à 8 : échantillons positifs, P : témoin positif ; N : témoin négatif.



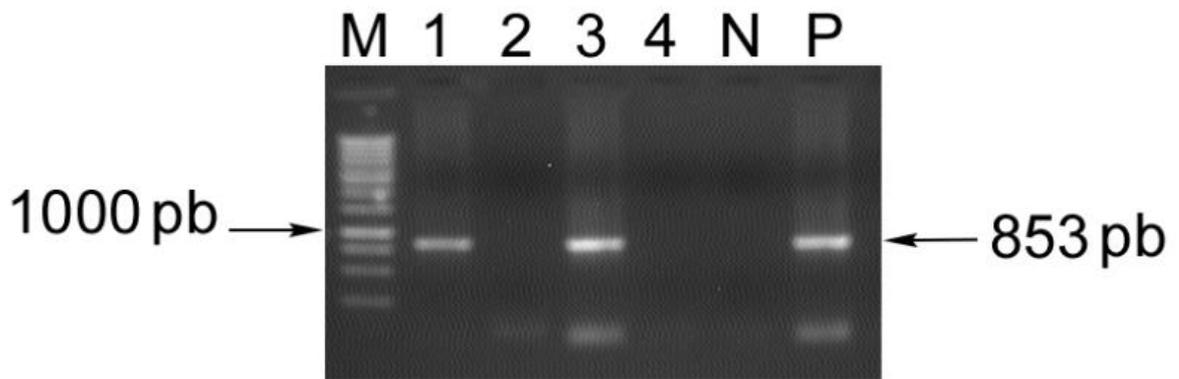
**Figure 6.9 :** Photographie d'un gel d'agarose à 1,2% montrant le résultat d'amplification du gène *rap-1* de *Babesia bovis* de dix échantillons de bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose.

M : marqueur de taille ; 1, 5 et 7 : échantillons négatifs ; 2, 3, 4, 6, 8 et 9 : échantillons positifs ; P : témoin positif ; N : témoin négatif.



**Figure 6.10 :** Photographie d'un gel d'agarose à 1,2% montrant le résultat d'amplification du gène *msp4* de *Anaplasma marginale* de cinq échantillons de bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose.

M : marqueur de taille ; 1,2 et 3 : échantillons négatifs ; 4 et 5 : échantillons positifs ; P : témoin positif ; N : témoin négatif.



**Figure 6.11** : Photographie d'un gel d'agarose à 1,2% montrant le résultat d'amplification du gène *gp45* de *Babesia bigemina* de quatre échantillons de bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose.

M : marqueur de taille ; 1 et 3 sont des échantillons positifs ; 2 et 4 sont des échantillons négatifs ; P : témoin positif ; N : témoin négatif.

L'intensité de l'infection était très faible pour tous les hémopathogènes, elle variait entre 0,03 et 4% pour *A. marginale* et entre  $57 \times 10^{-4}$  et  $86 \times 10^{-3}\%$  pour *Babesia* spp.

L'intensité de l'infection par *T. annulata* était inférieure à 1% chez la majorité des bovins (35/44 ;  $79,5 \pm 6,1\%$ ) dont 18 ( $51,4 \pm 8,4\%$ ) étaient infectés uniquement par *T. annulata*. Pour le reste des bovins positifs (9/44 ;  $20,5 \pm 6,1\%$ ), l'intensité de l'infection variait entre 1,4 et 26%, parmi lesquels, 4 animaux étaient co-infectés.

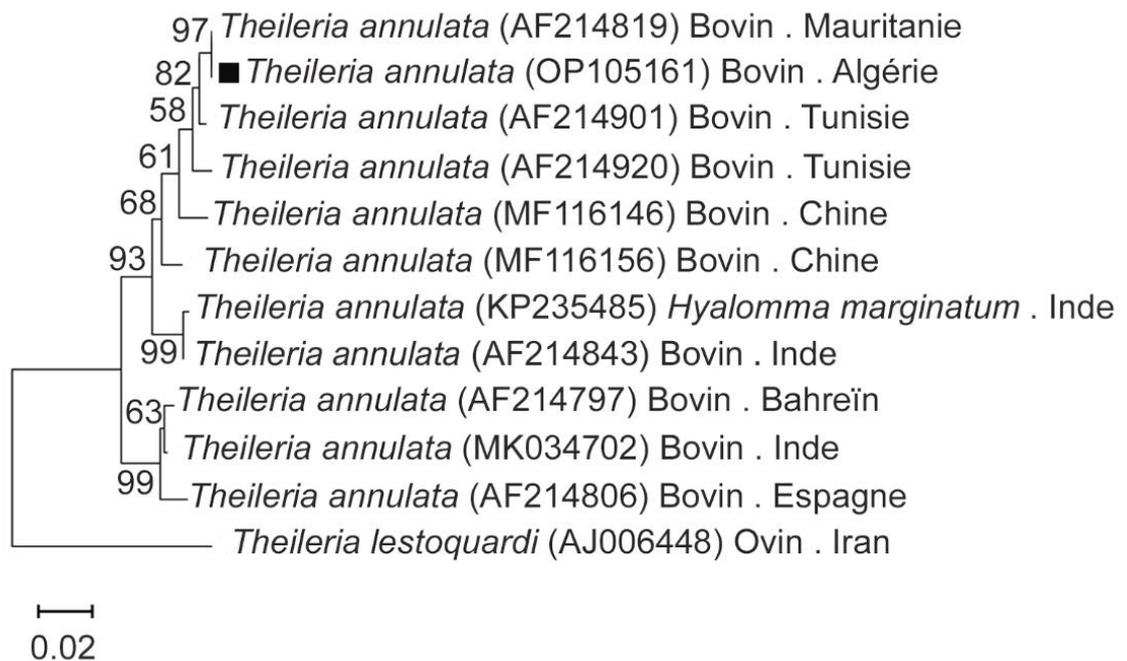
Parmi les 66 bovins présentant des symptômes de piroplasmose et/ou d'anaplasmose, deux ( $3 \pm 2,1\%$ ) étaient morts juste après traitement, la PCR a révélé que ces deux animaux étaient infectés par *T. annulata* dont un était positif par examen microscopique avec une intensité d'infection de 9%.

**Tableau 6.2 :** Caractéristiques des bovins ayant une mono-infection ou une co-infection diagnostiquée par la technique de PCR, dans les deux communes de Beni Hamidéne et de Grarem Gouga, respectivement des Wilayas de Constantine et de Mila.

| Caractéristiques épidémiologiques | Mono-infections  |                            |                      |                         | Co-infections                                  |  |   |   |  |  |   |   |  |  |  |
|-----------------------------------|--|----------------------------|----------------------|-------------------------|--|--|---|---|--|--|---|---|--|--|--|
|                                   | <i>Theileria annulata</i>                                      | <i>Anaplasma marginale</i> | <i>Babesia bovis</i> | <i>Babesia bigemina</i> | <i>Theileria annulata/ Anaplasma marginale</i> | <i>Theileria annulata/ Babesia bovis</i> | <i>Theileria annulata/ Babesia bigemina</i> | <i>Anaplasma marginale/ Babesia bovis</i> | <i>Anaplasma marginale/ Babesia bigemina</i> | <i>Babesia bovis/ Babesia bigemina</i> | <i>Theileria annulata/ Anaplasma marginale/ Babesia bovis</i> | <i>T. annulata/ B. bovis/ B. bigemina</i> | <i>T. annulata/ Anaplasma marginale/ B. bigemina</i> | <i>Anaplasma marginal/ Babesia bovis/ Babesia bigemina</i> |  |
| <b>Animaux</b>                    | Nombre d'animaux positifs / nombre d'animaux examinés (% ± ET) |                            |                      |                         |  |  |   |   |  |  |   |   |  |  |  |
| <b>Sexe</b>                       |  |                            |                      |                         |  |  |   |   |  |  |   |   |  |  |  |
| Femelles                          | 43/43<br>(100)   | 0/43                       | 0/43                 | 0/43                    | 10/43<br>(23,3 ± 6,4)                          | 12/43<br>(26,1 ± 6,8)                    | 2/43 (4,7 ± 3,2)                            | 5/43 (11,6 ± 4,9)                         | 1/43 (2,3 ± 2,3)                             | 1/43 (2,3 ± 2,3)                       | 5/43 (11,6 ± 4,9)   | 1/43 (2,3 ± 2,3)                          | 1/43 (2,3 ± 2,3)                                     | 1/43 (2,3 ± 2,3)   |  |
| Mâles                             | 23/23  | 0/23                       | 0/23                 | 0/23                    | 5/23   | 9/23                                     | 1/23  | 2/23                                      | 0/23   | 1/23                                   | 2/23  | 1/23                                      | 0/23   | 0/23   |  |
| <b>Race</b>                       |  |                            |                      |                         |  |  |   |   |  |  |   |   |  |  |  |
| Brune de l'Atlas                  | 9/9  | 0/9                        | 0/9                  | 0/9                     | 3/9  | 3/9                                      | 0/9   | 1/9                                       | 0/9  | 0/9                                    | 1/9   | 0/9                                       | 0/9  | 0/9  |  |
| Pure exotique                     | 17/17  | 0/17                       | 0/17                 | 0/17                    | 2/17   | 3/17                                     | 0/17  | 1/17                                      | 0/17   | 0/17                                   | 1/17  | 0/17                                      | 0/17   | 0/17   |  |
| Croisée                           | 40/40<br>(100)   | 0/40                       | 0/40                 | 0/40                    | 10/40 (25 ± 6,8)                               | 15/40 (37,5 ± 7,7)                       | 3/40 (7,5 ± 4,2)                            | 5/40 (12,5 ± 5,2)                         | 1/40 (2,5 ± 2,5)                             | 2/40 (5 ± 3,4)                         | 5/40 (12,5 ± 5,2)   | 2/40 (5 ± 3,4)                            | 1/40 (2,5 ± 2,5)                                     | 1/40 (2,5 ± 2,5)   |  |
| <b>Age</b>                        |  |                            |                      |                         |  |  |   |   |  |  |   |   |  |  |  |
| [3-8 mois]                        | 14/14  | 0/14                       | 0/14                 | 0/14                    | 1/14   | 3/14                                     | 1/14  | 0/14                                      | 0/14   | 0/14                                   | 0/14  | 0/14                                      | 0/14   | 0/14   |  |
| ]8 mois -2 ans [                  | 18/18  | 0/18                       | 0/18                 | 0/18                    | 5/18   | 6/18                                     | 1/18  | 2/18                                      | 0/18   | 1/18                                   | 2/18  | 1/18                                      | 0/18   | 0/18   |  |
| ≥2 ans                            | 34/34<br>(100)   | 0/34                       | 0/34                 | 0/34                    | 9/34 (26,5 ± 7,6)                              | 12/34 (35,3 ± 8,2)                       | 1/34 (2,9 ± 2,9)                            | 5/34 (14,7 ± 6,1)                         | 1/34 (2,9 ± 2,9)                             | 1/34 (2,9 ± 2,9)                       | 5/34 (14,7 ± 6,1)   | 1/34 (2,9 ± 2,9)                          | 1/34 (2,9 ± 2,9)                                     | 1/34 (2,9 ± 2,9)   |  |
| <b>Total</b>                      | 66/66<br>(100)   | 0/66                       | 0/66                 | 0/66                    | 15/66<br>(22,7 ± 5,2)                          | 21/66<br>(31,8 ± 5,7)                    | 3/66 (4,5 ± 2,6)                            | 7/66 (10,6 ± 3,8)                         | 1/66 (1,5 ± 1,5)                             | 2/66 (3 ± 2,1)                         | 7/66 (10,6 ± 3,8)   | 2/66 (3 ± 2,1)                            | 1/66 (1,5 ± 1,5)                                     | 1/66 (1,5 ± 1,5)   |  |

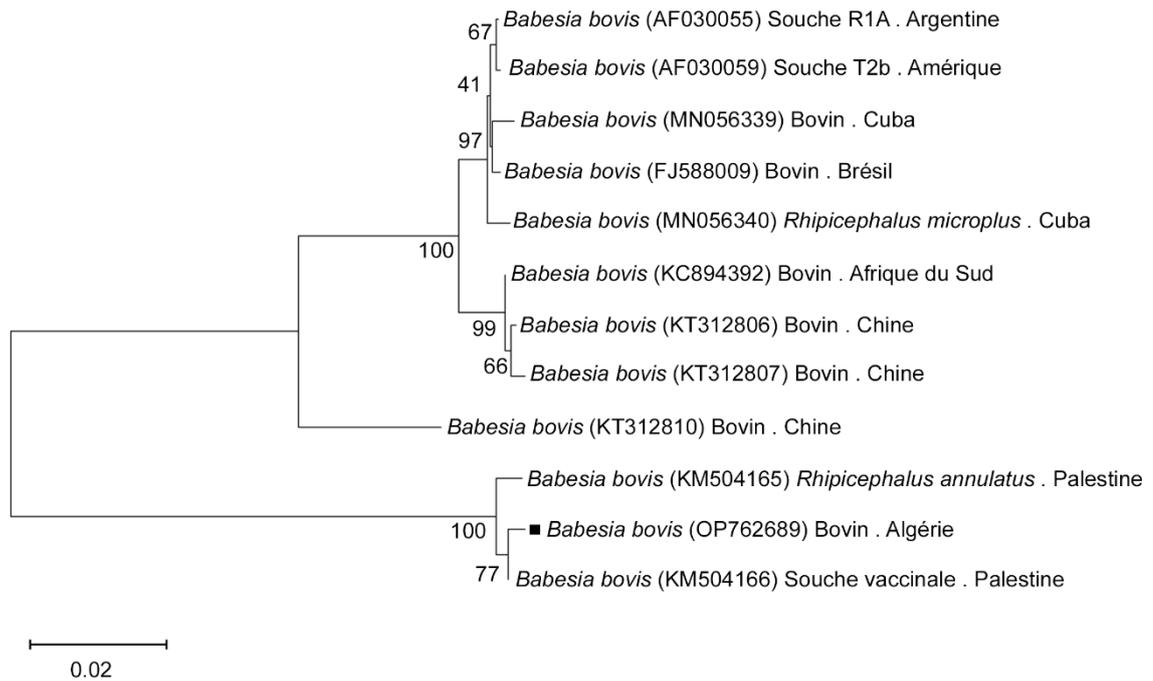
#### 6.3.4. Analyse phylogénétique

La comparaison des dix amplicons de *T. annulata* obtenues dans cette étude a montré une homologie de 100% entre elles. Une séquence partielle du gène *Tams1* de *T. annulata* a été déposée dans la base des données GenBank sous le numéro d'accès OP105161 (variant : TACCA1). Cette séquence a montré une homologie de 100% avec celle isolée en Mauritanie (AF214819) et une homologie de 99,27% avec l'amplicon isolé en Tunisie (AF214901). Le variant TACCA1 de 687 pb de taille obtenu dans cette étude a montré des identités de 94,91 ; 94,91 et 95,2% respectivement avec les isolats espagnols, bahreïniens et indiens (Figure 6.12).



**Figure 6.12 :** Arbre phylogénétique des séquences partielles du gène *Tams1* de *Theileria annulata* (687 pb) généré en utilisant la méthode de Neighbor-Joining. Les nombres sur les branches sont établis après un test de bootstrap de 10,000 réplifications. *Theileria lestoquardi* a été utilisé comme un groupe externe.

Dans cette étude, un nouveau variant (BBOVCCA) du gène *rap-1* de *Babesia bovis* de 957 pb de long a été obtenu (numéro d'accès : OP762689). La construction de l'arbre phylogénétique a montré que notre séquence est regroupée dans un même clade que la souche vaccinale (KM504166) isolé en Palestine avec une homologie de 99,90% (Figure 6.13).



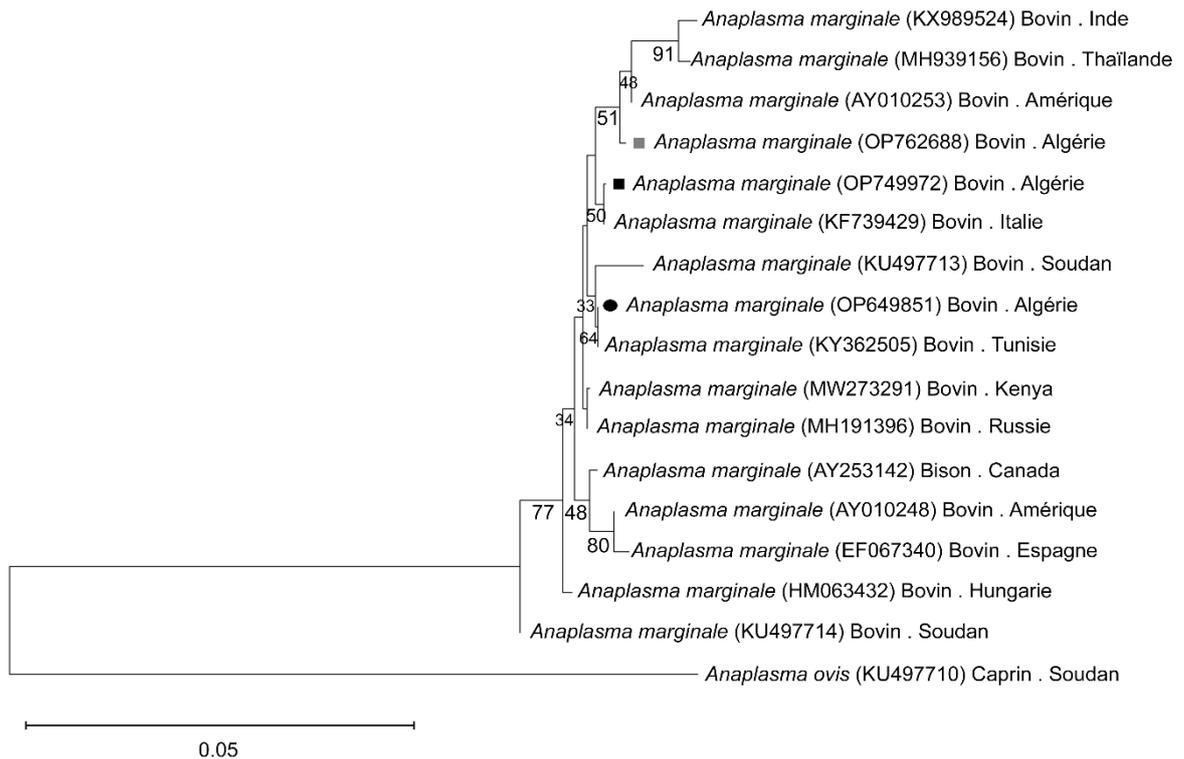
**Figure 6.13 :** Arbre phylogénétique des séquences partielles du gène *rap-1* de *Babesia bovis* (957 pb) généré en utilisant la méthode de Neighbor-Joining. Les nombres sur les branches sont établis après un test de bootstrap de 10,000 réplifications.

Trois séquences partielles du gène *MSP4* (protéines de surface du mérozoïte) de *Anaplasma marginale* (taille 805 pb) trouvées dans cette étude étaient déposées dans le GenBank sous les numéros d'accès : OP649851, OP749972 et OP762688 (AMCCFGH). Ces séquences avaient une homologie de 99,63 à 99,88% entre elles et sont regroupées dans trois clades différents. Ces trois séquences ont montré une homologie de 99,13 ; 99,01 et 99,38% respectivement pour OP749972 ; OP649851 et OP762688 à 100% avec les séquences d'*Anaplasma marginale* publié dans le GenBank et se distinguaient entre elles par trois nucléotides.

L'amplicon OP649851 se distingue des deux autres amplicons (OP762688 et OP749972) par un nucléotide à la position 289 : A pour OP762688 et OP749972 et G pour OP649851. Le nouveau variant (AMCCFGH) se distingue des deux autres isolats par deux nucléotides aux positions 58 (A, G) et 301 (G, A) respectivement pour OP762688 et les deux autres amplicons (OP749972 et OP649851).

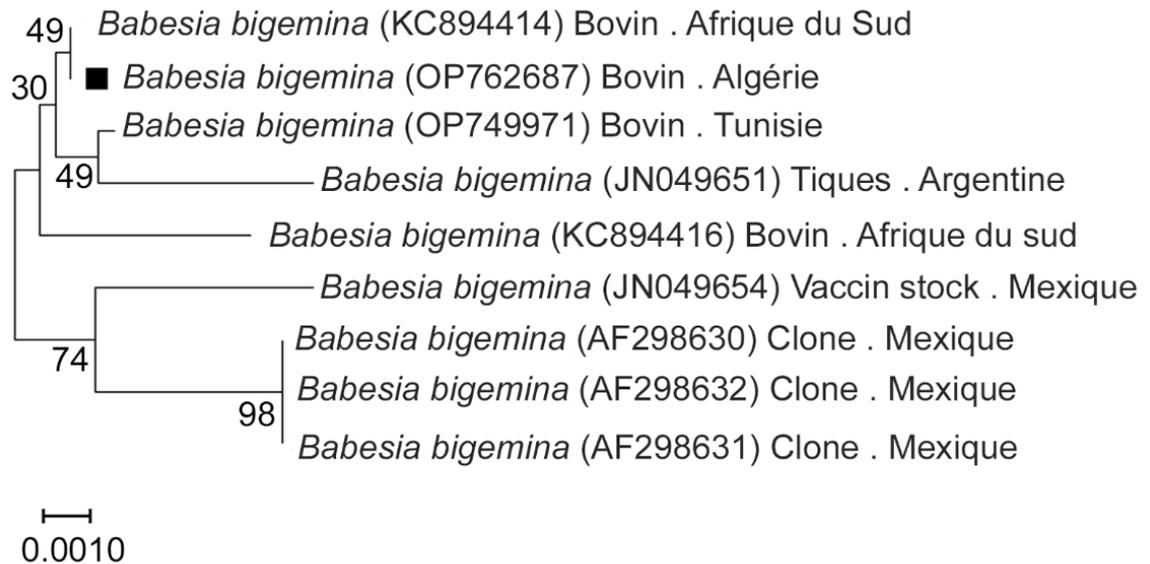
Ces différences sont silencieuses puisqu'elles touchent le troisième nucléotide du codon.

Les séquences (OP749972) et (OP649851) ont montré une homologie de 100% respectivement avec les séquences isolées en Italie (KF739429) et en Tunisie (KY362505) (Figure 6.14).



**Figure 6.14** : Arbre phylogénétique des séquences partielles du gène *MSP4* de *Anaplasma marginale* (805 pb) généré en utilisant la méthode de Neighbor-Joining. Les nombres sur les branches sont établis après un test de bootstrap de 10,000 réplifications. *Anaplasma ovis* a été utilisé comme un groupe externe.

Une séquence partielle d'une longueur de 812 pb du gène *gp45* de *Babesia bigemina* étaient déposées dans le GenBank sous le numéro d'accès : OP762687. Cette séquence a montré une homologie de 100% avec celle isolée en Afrique du Sud (KC894414) et 99,88% d'identité avec celle isolée en Tunisie. Elle avait également une 99,26% d'homologie avec les souches clonales mexicaines (numéros d'accès : AF298630, AF298631 et AF298632) (Figure 6.15).



**Figure 6.15 :** Arbre phylogénétique des séquences partielles du gène *gp45* de *Babesia bigemina* (812 pb) généré en utilisant la méthode de Neighbor-Joining. Les nombres sur les branches sont établis après un test de bootstrap de 10,000 réplifications.

#### 6.4. Discussion

Dans les régions enzootiques, l'anaplasmose bovine, les babésioses et la theilériose tropicale bovine sont des maladies qui causent d'importantes pertes économiques [443] ; [203] ; [204]. Après guérison, les bovins deviennent des porteurs latents et un réservoir pour ces hémopathogènes pendant plusieurs années [382] ; [444] ; [445] ; [436]. Dans cette étude, nous avons travaillé sur des bovins présentant des symptômes de piroplasmose et/ou d'anaplasmose entre début mai à fin septembre.

La moitié des bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose étaient infestés par les tiques. FESSEHA et al. [84] ont rapporté des résultats similaires au sud de l'Éthiopie, environ la moitié des bovins examinés entre septembre et août (253/470 ; 53%) étaient infestés par des tiques. Un taux plus élevé (64,36%, 186/289) a été rapporté par BEDOUHENE et al. [446] dans la région de Djurdjura, nord-centre de l'Algérie. Cependant un faible taux a été rapporté par BOULKABOUL et al. [422] à Tiaret, nord-ouest de l'Algérie (368/1240 ; 29,6%). Les

deux études précédentes ont été réalisées sur des périodes plus longues respectivement 24 mois et une année.

Le nombre de tiques adultes était significativement plus élevé (192/200) que celui des nymphes (8/200) ( $p < 0,001$ ). Ceci pourrait être dû au fait que cette étude a été réalisée durant la période d'activité des tiques adultes (entre début mai et fin septembre).

La quasi-totalité des tiques collectées (192/200) appartenait à deux genres : *Hyalomma* (58,5 ± 3,5%) et *Rhipicephalus* (41,5 ± 3,5%). Cependant, DERRADJ et KOHIL [287] ont rapporté à Jijel, Nord-est de l'Algérie que sur les 1 214 tiques collectées durant la saison des tiques, *Rhipicephalus* (85,42%) était le genre le plus fréquent suivi de *Hyalomma* (14,58%). Un total de 570 tiques a été collecté sur des bovins apparemment sains par AL-HOSARY et al. [447] dans trois régions égyptiennes. Ces tiques appartenait à deux genres *Hyalomma* spp. (398) et *Rhipicephalus* spp. (172). Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que nous n'avons travaillé que sur des bovins présentant des signes cliniques de piroplasmose et/ou d'anaplasmosse pendant la période d'activité des tiques vectrices.

*Hyalomma scupense* représentait 32,29% (62/192) des tiques collectées. En Tunisie, GHARBI et DARGHOUTH [423] ont rapporté que les adultes de *Hy. scupense* parasitent les bovins en été. La quasi-totalité des adultes de *Hy. scupense* ont été collectés en juin (29/62) et en juillet (30/62). Les adultes de *Hy. scupense* sont actifs durant l'été avec un pic à la fin juin et début juillet en Tunisie [261], en juin au Maroc [9] et en juillet en Algérie [77].

Toutes les nymphes (n=8) et la majorité des tiques adultes (68,8%) ont été collectées sur des bovins femelles ( $p < 0,001$ ). DERRADJ et KOHIL [287] ont rapporté que la prévalence de l'infestation était significativement plus élevée chez les bovins femelles que chez les bovins mâles. Ceci pourrait être dû au fait que les tiques sont attirées par les bovins femelles plus que les bovins mâles. Une tendance similaire a été rapporté par d'autres auteurs [448] ; [449].

Dans cette étude, un total de 55 spécimens ( $28,65 \pm 3.3\%$ ) de *Rh. (Boophilus) annulatus* a été collecté. *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* est le principal vecteur des babésioses bovines en Algérie. À Tiaret, nord-ouest de l'Algérie, BOULKABOUL et al. [422] ont rapporté une faible proportion de *Rh. (Boophilus) annulatus* (3%). Dans une étude réalisée entre octobre et novembre au nord de la Tunisie, M'GHIRBI et al. [79] ont trouvé que *Rh. (Boophilus) annulatus* était l'espèce de tique la plus fréquente (423/950 ; 44,5%). Chez les bovins femelles, les adultes de *Rh. (Boophilus) annulatus* ont été surtout observés dans la région du ventre (34,5%) et au niveau de la mamelle (21,8%). Le nombre le plus élevé de tiques de *Rh. (Boophilus) annulatus* a été collecté en septembre (38,2%), la même tendance a été rapporté à Djurdjura nord-centre de l'Algérie par BEDOUHENE et al. [446] qui ont trouvé que parmi les 2 280 spécimens de *Rh. (Boophilus) annulatus*, 670 ont été collectés en septembre.

Dans cette étude, peu de spécimens de *Hy. lusitanicum*, vecteur naturel de la theilériose tropicale bovine en Espagne et au Portugal [288]; [243] ont été collectées. *Hyalomma lusitanicum* est une tique triphasique dont les larves et les nymphes infestent principalement les lagomorphes et les adultes les ruminants [450] ; [451]. D'autres études sont nécessaires afin de déterminer le rôle vectoriel de cette tique en Algérie car elle a une phénologie et un comportement totalement différent conduisant à un profil épidémiologique différent de la theilériose tropicale bovine.

Le diagnostic des hémopathogènes a été effectué à l'aide de deux techniques : l'étalement de sang coloré au Giemsa et la PCR, cette dernière a une sensibilité et une spécificité plus élevées.

L'examen microscopique des 66 bovins présentant des symptômes de piroplasmose et/ou d'anaplasmosse a révélé que 66,7 ; 10,6 et 9,1% des bovins étaient infectés respectivement par *T. annulata*, *Babesia* spp. et *A. marginale*, ( $p < 0,001$ ). En Inde, Kumar et al. [452] ont rapporté que les bovins présentant les symptômes de maladies transmises par les tiques étaient infectés par *B. bigemina* (47/87 ; 54,0%), *T. annulata* (3/87 ; 3,4%) et *A. marginale* (1/87 ; 1,1%). FOUGHALI et a. [453] ont rapporté à Beni Hamidène, Wilaya de Constantine, Nord-Est de

l'Algérie que parmi les 169 bovins examinés, 65 (38%) ; 22 (13%) ; 5 (3%) étaient infectés respectivement par *T. annulata*, *A. marginale* et *B. bovis*. En Égypte, ABDEL-SHAFY et al. [430] ont trouvé trois co-infections : *T. annulata/B. bigemina* (2/112 ; 1,78%) ; *A. marginale/B. bigemina* (3/112 ; 2,68%) et *T. annulata/A. marginale/B. bigemina* (2/112 ; 1,78%).

Dans la présente étude, la PCR a révélé sept co-infections : *T. annulata/A. marginale* (22,7%) ; *T. annulata/B. bovis* (31,8%) ; *T. annulata/B. bigemina* (4,5%) ; *T. annulata/A. marginale/B. bovis* (10,6%) ; *T. annulata/B. bovis/B. bigemina* (3%) ; *T. annulata/A. marginale/B. bigemina* (1,5%) et *T. annulata/A. marginale/B. bigemina/B. bovis* (1,5%).

Toutes les fermes visitées contenaient au moins un bovin infecté par *T. annulata*, ceci pourrait être dû à la présence de crevasses et de fissures dans les murs de la quasi-totalité des étables qui sont les gîtes favorables pour l'hibernation des nymphes et la ponte des femelles *Hy. scupense* [423] ; [181].

La PCR a révélé que tous les bovins présentant des symptômes de piroplasmose et/ou d'anaplasmose (n=66) étaient infectés par *T. annulata*. Ce taux est supérieur à celui rapporté en Algérie [454] (108/132 ; 81,8%), en Tunisie [252] (59/96 ; 61%), en Inde [271] (2/278 ; 0,7%), en Turquie [444] (51/73 ; 1/334), en Égypte [455] (33/150 ; 22%), au Kazakhstan [456] (636/766 : 83%) et en Chine [457] (1/168 ; 0,6%) en utilisant la même technique. Cela pourrait être dû au fait que nous avons travaillé exclusivement sur des bovins présentant des symptômes de piroplasmose et/ou d'anaplasmose durant la période d'activité des tiques vectrices. Selon FOUGHALI et al. [458], en Algérie, la theilériose tropicale bovine est la principale maladie estivale dans les régions endémique. Selon GHARBI et al. [202], l'incidence des cas cliniques augmente deux semaines après la vague des chaleurs. La faible population de tique et la présence de cas cliniques chez les bovins de tous âges indiquent que les élevages visités étaient dans une situation d'endémie instable.

La sensibilité de l'étalement de sang coloré au Giemsa était de 67% pour *T. annulata*. C'est la technique la plus utilisée lors de suspicion de la theilériose

tropicale bovine [265]. Les faibles performances de l'étalement de sang coloré au Giemsa observées dans la présente étude pourrait s'expliquer par le fait que les échantillons ont été prélevés durant la phase précoce de l'infection alors que les parasites étaient sous la forme de schizontes avant l'apparition des formes érythrocytaires et au cours de laquelle la parasitémie est faible. Cette valeur est similaire à celle décrite au Pakistan par ULLAH et al. [273] (69%).

Les deux bovins morts étaient infectés par *T. annulata*. L'infection est souvent mortelle en absence d'un traitement précoce. De plus, des cas de résistance de *T. annulata* à la buparvaquone ont été rapportés par plusieurs auteurs [322]. L'infection par un seul hémopathogène a été observée chez les animaux infectés par *T. annulata*.

La co-infection des bovins par *Babesia bovis/T. annulata* a été observée chez 31,8% (21/66) des bovins examinés. Ce taux est supérieur à celui rapporté par FOUGHALI et al. [453] à Beni Hamidène, Wilaya de Constantine (est algérien) (2/169 ; 1%) et au Portugal par SILVA et al. [459] (1/1,104 ; 0,1%). La majorité des bovins co-infectés par *Babesia bovis/T. annulata* (18/21) étaient âgés de plus de 8 mois. Les bovins âgés sont plus exposés à l'infection par *B. bovis* car ils paissent sur des pâtures où *Rh. (Boophilus) annulatus* est présente [453]. En outre, les jeunes veaux sont plus résistants à l'infection par *B. bovis* [460].

Dans notre étude, le taux de co-infection par *A. marginale/T. annulata* était significativement plus élevé par la PCR (15/66 ; 22,7 ± 5,2%) que par l'étalement de sang coloré au Giemsa (6/66 ; 9,1%) ( $p=0,03$ ). Ce taux est supérieur à celui rapporté par ZIAM et al. [76] (11/161 ; 6,8%) à Annaba et El Tarf, nord-est de l'Algérie qui ont travaillé durant la saison estivale sur des bovins présentant des symptômes en utilisant comme méthode de diagnostic l'étalement de sang coloré au Giemsa. En utilisant la PCR, ELHACHIMI et al. [461] ont trouvé que parmi les 84 co-infections diagnostiquées, 16 (19%) étaient *A. marginale/T. annulata*.

Pratiquement tous les bovins co-infectés par *A. marginale/T. annulata* (14/15) étaient âgés de plus de 8 mois. En effet, KOCAN et ses collaborateurs [382] ont rapporté que les veaux sont moins sensibles à *A. marginale*.

Dans la présente étude, seuls trois bovins (4,5%) étaient co-infectés par *T. annulata*/*B. bigemina*. Ce taux est similaire à celui rapporté par EL-DAKHLY et al. [455] en Égypte (3/50 ; 6%), Ceci pourrait être expliqué par le faible taux d'infection des tiques par *B. bigemina* [462,463].

L'analyse phylogénétique de *T. annulata* basée sur le gène *Tams1* a été réalisée par plusieurs auteurs [315] ; [252] ; [464]. Le *Tams1* est un gène très polymorphe [222] ; [210]. La comparaison de la séquence partielle de *T. annulata* a montré une homologie de 100% avec la séquence isolée en Mauritanie, ce qui pourrait être dû au commerce d'animaux entre l'Algérie et ce pays.

Le gène *msp4* d'*A. marginale* est un marqueur stable, il est utilisé pour sa caractérisation phylogénétique [431] ; [465]. Dans cette étude, nous avons trouvé trois séquences partielles d'*Anaplasma marginale* très proche entre elles. L'une était identique à la séquence isolée en Italie et la seconde à celle isolée en Tunisie, ceci pourrait être dû au commerce des animaux entre l'Algérie et ces pays.

La glycoprotéines (GP) de surface de mérozoïte possède un poids moléculaire de 45 Daltons (*gp45*) est un gène polymorphe, ce dernier est le plus utilisé pour étudier *B. bigemina* [466]. En Algérie, BOULARIAS et al. [462] ont trouvé *B. bigemina* dans des tiques (6/235 ; 2,5%) en utilisant la PCR en temps réel et en ciblant le gène de l'ARNr 18S.

Le gène de la protéine 1 associée à la rhoptries (*RAP-1*) a été utilisé pour l'étude phylogénétique de *B. bovis*. *RAP-1* est une protéine variable exprimée à différents stades de développement des mérozoïtes de *B. bovis* [467].

## 6.5. Conclusion

Cette étude a permis d'identifier quatre hémopathogènes et sept co-infections chez les bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose, dans les deux communes de Beni Hamidéne et de Grarem Gouga, respectivement des Wilayas de Constantine et de Mila. Elle a aussi permis d'identifier la fauve

ixodidienne infestant les bovins dans ces deux régions pendant la belle saison. Cette étude a révélé que tous les bovins étaient infectés par *T. annulata*. De plus, la co-infection *T. annulata/B. bovis* était la plus fréquente. L'absence de médicaments ciblant les quatre hémopathogènes ainsi que le prix élevé des médicaments en particulier les theiléricides incitent les vétérinaires à effectuer des examens de laboratoire afin d'identifier l'hémopathogène responsable de la maladie et par conséquent choisir le traitement adéquat et prévenir la résistance aux médicaments ainsi que les échecs thérapeutiques.

## CONCLUSION GÉNÉRALE

En Algérie, les cheptels bovins et ovins payent un lourd tribut aux maladies transmises par les tiques en particulier les theilérioses, les babésioses et les anaplasmoses. Ces infections induisent d'importantes pertes économiques dans les élevages ou elles sévissent en raison de la morbidité élevée, les coûts associés aux traitements, le portage asymptomatique et la co-infection avec un ou plusieurs agents pathogènes, aux avortements et à la létalité. La prophylaxie contre ces hémopathogènes repose essentiellement sur la lutte anti-vectorielle représentant une charge financière supplémentaire non négligeable pour les éleveurs. Toutefois, cette dernière n'est généralement pas faite correctement pour plusieurs raisons.

La présente thèse s'est intéressée aux tiques et aux hémopathogènes qu'elles transmettent en particulier, les theilérioses, les babésioses et les anaplasmoses.

Dans la première partie de l'étude expérimentale, nous avons réalisé une enquête participative auprès de 73 éleveurs de bovins de la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine, durant la saison d'apparition de cas cliniques des piroplasmoses bovines. Cette étude a permis de décrire les connaissances, les attitudes et les perceptions des éleveurs de bovins relatifs aux piroplasmoses bovines. Nous avons utilisé comme outil d'investigation, la technique d'empilement proportionnel dans le but de répertorier les différentes maladies bovines connues par les éleveurs de la région et d'estimer leurs pertes économiques qu'elles induisent.

Durant cette enquête, aucune maladie zoonotique n'a été citée par les éleveurs. Il est important de ce fait urgent d'éduquer et de sensibiliser les éleveurs sur le risque des maladies zoonotiques transmises par les ruminants. Il s'agit notamment de la brucellose, de la tuberculose et de l'échinococcose kystique (qui ne se transmet pas directement à l'être humain).

Bien que presque un tiers des éleveurs sont conscients de la résistance de la race locale Brune de l'Atlas aux piroplasmoses si elle est comparée aux autres races bovines, l'élevage de cette race locale a beaucoup périclité ces dernières années. Il faudrait encourager l'élevage de la race locale bovin, la Brune de l'Atlas, qui est résistante non seulement aux piroplasmoses mais aussi à plusieurs autres entités pathologiques.

La présente étude a montré que les piroplasmoses sont une priorité pour les éleveurs. En effet, 67,1 et 60,3% des éleveurs interviewés ont cité respectivement la theilériose et les babésioses comme des maladies fréquentes dans leurs élevages et 19,2% ont cité la piroplasmose sans préciser s'il s'agissait de la babésiose ou de la theilériose. En outre, certains éleveurs confondaient la theilériose et les babésioses, ils citaient l'hypertrophie des nœuds lymphatiques et pétéchies oculaires/vulvaires comme symptômes de la babésiose. Nous recommandons de mettre en place des programmes d'éducation sanitaire ciblant les éleveurs sur les maladies transmises par les tiques, en particulier les piroplasmoses. Ces programmes permettront une meilleure connaissance de ces entités pathologiques par les éleveurs permettant ainsi une meilleure lutte.

Les données collectées dans le cadre de la présente enquête participative doivent être prises en considération lors de l'élaboration de programmes de lutte contre les piroplasmoses bovines.

Dans la deuxième partie de notre travail, nous avons réalisé une enquête transversale visant à estimer la prévalence des hémopathogènes chez les bovins de la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine.

Nous avons visité 25 élevages et nous avons constaté que la quasi-totalité des étables présentaient des murs crevassés qui sont des gîtes favorables à l'hibernation des nymphes et la ponte des femelles de *H. scupense*, le principal vecteur de la theilériose tropicale bovine en Algérie. Nous proposons une mise en norme des locaux d'élevage des bovins ciblant ainsi l'habitat des tiques endophiles *Hyalomma scupense*.

En utilisant le diagnostic direct par examen microscopique d'étalements de sang, l'étude a révélé que presque la moitié des bovins (46%) étaient infectés par au moins un des trois hémopathogènes. *Theileria annulata* était l'hémopathogène ayant la prévalence la plus élevée (38%), suivi d'*Anaplasma marginale* (13%) et de *Babesia bovis* (3%). Les prévalences des co-infections étaient de 1,2% pour *T. annulata/B. bovis* et de 7,69% pour *T. annulata/A. marginale*. Cette enquête a aussi permis de décrire les grandes caractéristiques de la theilériose tropicale bovine.

Le portage asymptomatique était fréquent chez les bovins infectés par *T. annulata* et chez la quasi-totalité des bovins infectés par *A. marginale*. Le portage asymptomatique persiste plusieurs mois voire, plusieurs années après la guérison de l'animal, il est souvent à l'origine de faibles pertes en production mais qui durent plusieurs années. Il est impératif de prendre en considération cette catégorie d'animaux lors de l'élaboration des programmes de lutte.

Les fermes que nous avons visitées étaient dans un état d'enzootie instable pour la theilériose tropicale bovine. Un programme de lutte contre cette maladie devrait être mis en place en prenant en considération la biologie et de la dynamique saisonnière des tiques vectrices de *T. annulata*.

Les piroplasmes et les anaplasmes risquent de continuer à représenter un problème de santé animale majeur en Algérie du fait de la grande superficie du pays et des difficultés inhérentes au manque de technicité de la majorité des éleveurs algériens. Il serait intéressant de mettre en place des programmes de formations certifiantes et diplômantes pour les éleveurs algériens afin d'augmenter leur niveau général de technicité.

La troisième partie du travail expérimental avait pour but d'étudier l'infestation par les tiques ainsi que l'infection par les hémopathogènes des ovins suspects de piroplasmose et/ou d'anaplasme pendant la saison des tiques.

Nous avons travaillé sur 43 ovins présentant des symptômes d'anaplasme et/ou de piroplasmose répartis dans 34 élevages provenant de la commune de Beni Hamidène, Wilaya de Constantine.

L'enquête a révélé que seulement quatre bergers appliquaient des acaricides sur leurs ovins pour lutter contre les tiques. Dans cette étude, un total de 185 tiques adultes ont été collectées dont la majorité ont été collectées sur des ovins fébriles (97%). Ces tiques appartenaient à deux genres : *Rhipicephalus* et *Hyalomma* et quatre espèces : *Rhipicephalus bursa* (88,6%), *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (8,6%), *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* (2,2%) et *Hyalomma scupense* (0,5%). Nous proposons d'appliquer un traitement acaricide en respectant les doses, le protocole et la périodicité et nous recommandons de mettre en place des plans régionaux de lutte contre les tiques et les maladies transmises par les tiques chez les ruminants. Nous proposons aussi de réaliser des études élargies sur toute l'Algérie afin de répertorier les tiques vectrices de piroplasmose et d'anaplasmose.

La technique d'étalement de sang coloré au Giemsa a révélé que plus de la moitié des élevages (53%) contenaient au moins un ovin infecté par au moins un hémopathogène. *Anaplasma* spp. était l'hémopathogène le plus fréquent (44%) ; suivi de *Babesia* spp. (14%) et *Theileria* spp. (2%). Toutefois, Il aurait été intéressant de procéder à des études phylogénétiques des hémopathogènes chez les ovins en Algérie. Ces études permettront de mieux comprendre le polymorphisme clinique chez ces animaux.

Il serait intéressant de sensibiliser les vétérinaires praticiens sur la nécessité d'équiper leurs cabinets d'un mini laboratoire permettant d'effectuer une coloration Giemsa afin de procéder à un diagnostic microscopique des infections par les piroplasmose et les anaplasmose et par conséquent, administrer un traitement étiologique et précoce.

La quatrième partie du travail expérimental avait pour but d'étudier les infections et les co-infections par les hémopathogènes chez des bovins présentant des symptômes d'anaplasmose et/ou de piroplasmose en utilisant deux techniques de diagnostic : l'étalement de sang coloré au Giemsa et la PCR. L'étude a montré que la PCR a une meilleure sensibilité et spécificité que l'étalement de sang coloré au Giemsa dans la mise en évidence des hémopathogènes.

Dans cette étude, quatre hémopathogènes *A. marginale*, *T. annulata*, *B. bovis*, et *B. bigemina* et sept co-infections ont été identifiés. Tous les bovins (66/66) étaient infectés par *T. annulata* et la co-infection *T. annulata/B. bovis* était la plus fréquente. Les résultats obtenus peuvent être utilisés pour améliorer les programmes de lutte contre ces hémopathogènes. À défaut de traitement visant les quatre hémopathogènes à la fois, il est crucial de procéder à un diagnostic de laboratoire afin d'identifier le ou les hémopathogènes responsable de la maladie.

Onze espèces de tiques ont été collectées dans le cadre de cette étude. Il serait intéressant de prendre en considération les spécificités régionales lors de l'élaboration des programmes de lutte contre les tiques.

Dans la présente étude, de rares spécimens d'*Hyalomma lusitanicum*, la tique vectrice de *T. annulata* en Espagne et au Portugal ont été collectés. Il serait intéressant de quantifier le rôle d'*Hyalomma lusitanicum* dans l'épidémiologie de la theilériose en Algérie.

À l'issue de ce travail, vu l'omniprésence de l'infection par *T. annulata*, nous proposons de développer un vaccin efficace et facile à conserver contre la theilériose tropicale bovine. Nous suggérons d'encourager et sensibiliser les vétérinaires libres-praticiens et les éleveurs de bovins sur l'importance du diagnostic de laboratoire des infections par les hémopathogènes chez les ruminants.

Nous préconisons de modéliser la distribution des tiques vectrices des hémopathogènes et d'élaborer une cartographie des risques d'exposition aux hémopathogènes en Algérie.

## APPENDICE A

### FICHE D'IDENTIFICATION DES BOVINS

#### 1. Propriétaire

Nom : .....

Adresse : .....

#### 2. Élevage

Effectif :

Type d'élevage : Semi-extensif       Intensif       Extensif

Bovin laitier       Bovin d'engraissement       Élevage mixte

Veau      Veau femelle      Génisse      Taurillon      Vache      Taureau

Pathologies les plus fréquentes :

#### 3. Prélèvements

Numéro d'identification du cheptel :

Numéro d'identification de l'animal :

Date du prélèvement :

Race : Brune de l'Atlas       Croisée       Pure exotique

L'âge :

Sexe :                      Femelle                       Mâle

#### Symptômes

|   |   |   |
|---|---|---|
| Hypertrophie des nœuds lymphatiques pré-scapulaires | Hypertrophie des nœuds lymphatiques des pré-cruraux | Congestion intense des muqueuses                                |
| Pétéchies oculaires                                 | Pétéchies vulvaires                                 | Anémie    Ictère    Anorexie    Température    Asthénie    Toux |
| Jetage nasal  | Dyspnée    Constipation                             | Surcharge du rumen    Diarrhée    Amaigrissement                |
| Hypogalactie  | Avortement  | Autres symptômes  |

**4. Traitement**

Traitement établi lors de la suspicion des hémopathogènes :

.....

.....

**5. Partie tique**

Présence d'une réaction inflammatoire (Rougeur) : Oui  Non

Présence d'un œdème local : Oui  Non

| Région anatomique          | Numéro d'étiquette | Nombre de tiques |
|----------------------------|--------------------|------------------|
| Tête-Encolure              |                    |                  |
| Oreilles                   |                    |                  |
| Dos-flancs-thorax          |                    |                  |
| Périnée-pourtour de l'anus |                    |                  |
| Ventre-région inguinale    |                    |                  |
| Membres                    |                    |                  |
| Face interne de la queue   |                    |                  |
| Autres sites de fixation   |                    |                  |

**Lutte contre les tiques** (mode de lutte utilisé par les éleveurs) :

Présence de fissures et crevasses dans les murs : .....

Présence d'autres espèces animales dans l'étable : .....

## APPENDICE B FICHE D'IDENTIFICATION DES OVINS

### 1. Propriétaire

Nom : .....

Adresse : .....

### 2. Élevage

Ovins

Nombre de têtes :

Type d'élevage : Semi-extensif       Intensif       Extensif

Engraissement       Lait       Reproduction

Bergerie       Clôture en fil de fer       Bergerie semi couverte

Pathologies les plus fréquentes :

### 3. Prélèvements

Numéro d'identification du cheptel :

Numéro d'identification du cheptel :

Date du prélèvement :

Race : Importée       Locale       Croisée

L'âge :

Sexe :                      Mâle                       Femelle

Ovin :

Agneau       Agnelle       Antenais       Antenaïse

Bélier                       Brebis

### Symptômes

#### Fréquence cardiaque :

|              |             |        |        |          |        |   |
|--------------|-------------|--------|--------|----------|--------|---|
| Hypogalactie | Température | Ictère | Anémie | Diarrhée | Tiques | Hypertrophie des nœuds lymphatiques pré-scapulaires |
|--------------|-------------|--------|--------|----------|--------|---|

T°= \_\_\_\_\_

|                          |                     |          |                |          |             |
|--------------------------|---------------------|----------|----------------|----------|-------------|
| Hypertrophie généralisée | Pétéchies oculaires | Anorexie | Amaigrissement | Asthénie | Larmoïement |
|--------------------------|---------------------|----------|----------------|----------|-------------|

|              |         |      |                  |
|--------------|---------|------|------------------|
| Jetage nasal | Dyspnée | Toux | Autres symptômes |
|--------------|---------|------|------------------|

#### **4. Traitement**

Traitement établi lors de la suspicion des hémopathogènes :

.....  
 .....

#### **5. Partie tique**

Présence d'une réaction inflammatoire (Rougeur) : Oui  Non

Présence d'un œdème local : Oui  Non

#### **Localisation sur l'hôte :**

| Région anatomique          | Numéro d'étiquette | Nombre de tiques |
|----------------------------|--------------------|------------------|
| Tête-Encolure              |                    |                  |
| Oreilles                   |                    |                  |
| Dos-flancs-thorax          |                    |                  |
| Périnée-pourtour de l'anus |                    |                  |
| Ventre-région inguinale    |                    |                  |
| Membres                    |                    |                  |
| Espace interdigité         |                    |                  |
| Mamelle                    |                    |                  |
| Autres sites de fixation   |                    |                  |

**Lutte contre les tiques** (mode de lutte utilisé par les éleveurs) :

Présence de fissures et crevasses dans les murs :

Présence d'autres espèces animales dans la bergerie :

## APPENDICE C

### LISTE DES SYMBOLES

|                   |   |
|-------------------|---|
| Ac                | : Anticorps                                       |
| ADN               | : Acide désoxyribonucléique                       |
| ALAT              | : Alanine aminotransférase                        |
| ASAT              | : Aspartate aminotransférase                      |
| BLAST             | : Basic Local Alignment Search Tool               |
| °C                | : Degré Celsius                                   |
| CD4+              | : Lymphocytes T auxiliaires                       |
| CD8+              | : Lymphocytes T cytotoxiques                      |
| Cf                | : Du latin confer, signifiant « reportez-vous à » |
| cm                | : Centimètre                                      |
| dNTP              | : Désoxynucléotides triphosphates                 |
| ELISA             | : Enzyme Linked Immunosorbent Assay               |
| F                 | : Femelle   |
| g                 | : Gramme  |
| L                 | : Litre   |
| m                 | : Mètre   |
| M                 | : Mâle  |
| MEGA              | : Molecular evolutionary genetics analysis        |
| mg                | : Milligramme                                     |
| MgCl <sub>2</sub> | : Chlorure de magnésium                           |
| ml                | : Millilitre                                      |
| mm                | : Millimètres                                     |
| mM                | : Milli-molaire                                   |
| NK                | : Natural killer                                  |
| GGT               | : Gamma-glutamyl-transpeptidase                   |
| GMQ               | : Gain moyen quotidien                            |
| IFI               | : Immunofluorescence indirecte                    |
| IFN- $\gamma$     | : Interféron gamma                                |

|        |  |
|--------|--|
| IgG    | : Immunoglobuline G                        |
| kg     | : Kilogramme                               |
| pb     | : Paire de bases                           |
| PCR    | : Réaction de polymérisation en chaîne     |
| pmol   | : pico moles                               |
| RFLP   | : Restriction Fragment Length Polymorphism |
| s      | : Secondes                                 |
| sp.    | : species                                  |
| spp.   | : spp. species pluralis.                   |
| TAE    | : Tris, Acétate, EDTA                      |
| TMO    | : Theilériose ovine maligne                |
| µl     | : Microlitre                               |
| µm     | : Micromètre                               |
| µM     | : micro-molaire                            |
| v      | : Volt                                     |
| VGM    | : Volume globulaire moyen                  |
| Wilaya | : Gouvernement, préfecture                 |

# APPENDICE D

## KNOWLEDGE, ATTITUDE AND PERCEPTION OF BOVINE PIROPLASMOSIS BY CATTLE OWNERS IN CONSTANTINE, NORTH-EAST OF ALGERIA, USING PARTICIPATORY EPIDEMIOLOGY

Tropical Animal Health and Production (2021) 53:167  
<https://doi.org/10.1007/s11250-021-02608-3>

REGULAR ARTICLES



### Knowledge, attitude and perception of bovine piroplasmosis by cattle owners in Constantine, North-East of Algeria, using participatory epidemiology

Asma Amina Foughali<sup>1,2</sup> · Safa Amairia<sup>3</sup> · Idir Bitam<sup>1,4</sup> · Ali Berber<sup>5</sup> · Mohamed Gharbi<sup>3</sup>

Received: 23 September 2020 / Accepted: 8 February 2021  
 © The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. part of Springer Nature 2021

#### Abstract

Cattle piroplasmoses are tick-borne diseases, spread worldwide that cause significant economic losses. A participatory epidemiological study was conducted individually or in focus groups with 73 cattle owners in Beni Hamidene locality (district of Constantine, Algeria). The aim of this study was to study cattle owners' knowledge, attitude and perception on cattle piroplasmosis. Proportional piling technique was used to determinate most common cattle diseases, and to evaluate economic impact of diseases according to the interviewed farmers. Theileriosis (49/73; 67.1%) and babesiosis (44/73; 60.3%) were considered the most important bovine diseases. No zoonotic disease was cited by the interviewed cattle owners. According to the majority of cattle owners, theileriosis and babesiosis are deadly diseases (87.3 and 78.1%, respectively). All cattle owners (73/73) cited fever as the most common symptom of tropical theileriosis. Some of them (14/73; 19.2%) do not make distinction between theileriosis and babesiosis. According to cattle owners (65/73; 89.0%), the use of acaricide is the most appropriate tick control method. This study provides information about knowledge on bovine piroplasmoses in Algeria. These information could be considered when performing control programmes by both animal decision-makers and field veterinarians.

**Keywords** Babesiosis · Beni Hamidene · Cattle · Participatory epidemiology · Theileriosis · Ticks

#### Introduction

Piroplasmoses (babesiosis and theileriosis) are the most common cattle tick-borne diseases in tropical and sub-tropical

areas of the world (Uilenberg 1995; Brown et al. 2006; Nene and Morrison 2016). These protozoa are transmitted by several tick genera: *Rhipicephalus*, *Ixodes* and *Hyalomma* (Barré and Camus 1983; Bouattour et al. 2004; Antunes et al. 2012; Gharbi et al. 2014; Young et al. 2019).

# APPENDICE E

## CROSS-SECTIONAL SURVEY OF CATTLE HAEMOPATHOGENS IN CONSTANTINE, NORTHEAST ALGERIA

DOI: 10.1002/vms3.459

ORIGINAL ARTICLE

WILEY

### Cross-sectional survey of cattle haemopathogens in Constantine, Northeast Algeria

Asma Amina Foughali<sup>1,2</sup>  | Hocine Ziam<sup>2,3</sup>  | Asma Aiza<sup>4</sup> | Halima Boulkrout<sup>5</sup> |  
Ali Berber<sup>4</sup>  | Idir Bitam<sup>1,6</sup>  | Mohamed Gharbi<sup>7</sup> 

<sup>1</sup>Laboratoire de Biodiversité et Environnement : Interactions et Génomes. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumédiène, Algiers, Algeria

<sup>2</sup>Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahlab, Ouled Yaich, Blida, Algeria

<sup>3</sup>Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé, Université Saad Dahlab, Blida, Algeria

<sup>4</sup>Laboratoire des Biotechnologies Liées à la Reproduction Animale (LBRA), Université Blida 1, Blida, Algeria

<sup>5</sup>Private Veterinary Surgeon, Beni Hamidène, Algeria

<sup>6</sup>École Supérieure en Sciences de l'Aliment et des Industries Agroalimentaires (ESSAIA), El Harrach, Alger, Algeria

<sup>7</sup>Laboratoire de Parasitologie, École Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet, Univ. Manouba, Sidi Thabet, 2020, Tunisia

Correspondence  
Asma Amina Foughali, Laboratoire de Biodiversité et Environnement : Interactions et Génomes, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumédiène, BP 32 Rah Zouar 1611 Algiers, Algeria; Institut

#### Abstract

This aim of the present study was to estimate the prevalence of haemopathogens in cattle in Beni Hamidene locality, district of Constantine (Northeastern Algeria). Between June and October 2014, 169 bovines from 25 farms were included in this survey, 32 (18.9%) among them were suspected of piroplasmiasis and/or anaplasmosis. Infection prevalences were estimated by microscopic examination of Giemsa-stained blood smears and blood samples from all included cattle ( $n = 169$ ). Animals were infected by *Theileria annulata* (65/169; 38.46%), *Anaplasma marginale* (22/169; 13%) and *Babesia bovis* (5/169; 3%). Two co-infection patterns were found: *Theileria annulata/Anaplasma marginale* (7.69%) and *Theileria annulata/Babesia bovis* (1.18%). Only one farm had no cattle infected by any of the haemopathogens. There was a significant difference of *T. annulata* infection prevalence according to age category ( $p = .04$ ). These results emphasised mainly the presence of bovine tropical theileriosis in northeastern, Beni Hamidene locality, province of Constantine, Algeria.

#### KEYWORDS

Algeria, *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis*, Bovine, *Theileria annulata*

# APPENDICE F

## INFECTION BY HAEMOPATHOGENS AND TICK INFESTATION OF SHEEP DURING SUMMER SEASON IN CONSTANTINE REGION, NORTHEAST ALGERIA

DOI: 10.1002/vms3.551

ORIGINAL ARTICLE

WILEY

### Infection by haemopathogens and tick infestation of sheep during summer season in Constantine region, Northeast Algeria

Asma Amina Foughali<sup>1,2</sup> | Mohamed Jedidi<sup>3</sup> | Moktar Dhibi<sup>3</sup> | Moez Mhadhbi<sup>3</sup> | Limam Sassi<sup>3</sup> | Ali Berber<sup>4</sup> | Idir Bitam<sup>1,5</sup> | Mohamed Gharbi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Biodiversité et Environnement: Interactions et Génomes, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumédiène, Algiers, Algeria

<sup>2</sup> Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahlab, Blida, Algeria

<sup>3</sup> Laboratoire de Parasitologie, Institution de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur Agricoles & Univ. Manouba, École Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet, Sidi Thabet, Tunisia

<sup>4</sup> Laboratoire des Biotechnologies Liées à la Reproduction Animale (LBRA), Université Blida 1, Blida, Algeria

<sup>5</sup> École Supérieure en Sciences de l'Aliment et des Industries Agroalimentaires (ESSAIA), El Harrach, Alger, Algeria

#### Correspondence

Asma Amina Foughali, Laboratoire de Biodiversité et Environnement: Interactions et Génomes, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumédiène, BP 32 Bab Zouar, 1611, Algiers, Algeria; Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahlab, BP 270, Ouled Yaich, 9000 Blida, Algeria.  
Email: asma.amina.foughali@gmail.com

#### Abstract

A study on tick infestation of 43 sheep with clinical symptoms of piroplasmiasis and anaplasmosis was carried out during summer seasons of 2016 and 2017 in 34 sheep flocks from Beni Hamidene locality, district of Constantine, Northeast Algeria. Only animals with clinical symptoms of piroplasmiasis and/or anaplasmosis were checked for tick infestation. Among the 43 examined sheep,  $58 \pm 15\%$  were infested by ticks. A total of 185 adult ticks (100 males and 85 females) were collected from the 25 sheep. Two tick genera, *Rhipicephalus* and *Hyalomma* consisting of four species were collected, *Rhipicephalus bursa* was the most frequent tick (164/185;  $88.6 \pm 4.6\%$ ), followed by *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (16/185;  $8.6 \pm 4\%$ ), *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* (4/185;  $2.2 \pm 2.1\%$ ) and *Hyalomma scupense* (1/185;  $0.5 \pm 1\%$ ). Mean overall tick infestation intensity was 7.4. Mixed infestations with two tick species were found in 10 sheep ( $23.3 \pm 12.6\%$ ). All farmers (34/34) used ivermectin, and only 11% of them used acaricide to control ticks. The majority of *R. bursa* ticks (87/185;  $45 \pm 7\%$ ) were located on the ears (37/185;  $20 \pm 6\%$ ) and the testicles (50/185;  $27 \pm 6\%$ ). Giemsa-stained blood smears examination showed the presence of three haemopathogens: *Anaplasma* spp. (19/43;  $44 \pm 15\%$ ); *Babesia* spp. (6/43;  $14 \pm 10\%$ ) and *Theileria* spp. (1/43;  $2 \pm 4\%$ ). These results showed the presence of several low infestation burdens by ticks transmitting three haemopathogens.

# APPENDICE G

## CATTLE CO-INFECTION PATTERNS BY HEMOPATHOGENS AND THEIR PHYLOGENETIC ANALYSIS DURING THE TICK SEASON IN CONSTANTINE AND MILA, NORTHEAST ALGERIA

Parasitology Research  
<https://doi.org/10.1007/s00436-023-07916-1>

RESEARCH



### Cattle co-infection patterns by hemopathogens and their phylogenetic analysis during the tick season in Constantine and Mila, Northeast Algeria

Asma Amina Foughali<sup>1,2</sup> · Moez Mhadhbi<sup>3</sup> · Safa Amairia<sup>3</sup> · Mokhtar Dhibi<sup>3</sup> · Idir Bitam<sup>1,4</sup> · Hadjer Boukabache<sup>5</sup> · Ali Berbar<sup>6</sup> · Mohamed Ridha Rjeibi<sup>3,7</sup> · Mohamed Gharbi<sup>3</sup>

Received: 24 May 2023 / Accepted: 27 June 2023  
 © The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2023

#### Abstract

Tropical theileriosis, babesiosis, and anaplasmosis are the most dominant tick-borne infections in North Africa where they cause significant economic losses in ruminants' industry. The aim of the present work was to study infections and co-infection patterns in 66 cattle with clinical signs of piroplasmosis and/or anaplasmosis in two localities, Beni Hamidene and Grarem Gouga, districts of Constantine and Mila (Northeast of Algeria), respectively. This study was conducted between early May and late September during four years 2017, 2018, 2020, and 2021. PCR showed that the most frequent pathogen in cattle with clinical signs of piroplasmosis and/or anaplasmosis was *Theileria annulata* (66/66; 100%) followed by *Babesia bovis* (21/66; 31.8%), *Anaplasma marginale* (15/66; 22.7%), and *Babesia bigemina* (3/66; 4.5%) ( $p < 0.001$ ). Giemsa-stained blood smears examinations revealed that 66.7% (44/66); 10.6% (7/66); and 9.1% (6/66) of cattle were infected by *T. annulata*, *Babesia* spp., and *A. marginale*, respectively ( $p < 0.001$ ). PCR revealed seven co-infection patterns: *T. annulata/A. marginale* (15/66; 22.7%), *T. annulata/B. bovis* (21/66; 31.8%), *T. annulata/B. bigemina* (3/66; 4.5%), *T. annulata/A. marginale/B. bovis* (7/66; 10.6%), *T. annulata/B. bovis/B. bigemina* (2/66; 3%), *T. annulata/A. marginale/B. bigemina* (1/66; 1.5%), and *T. annulata/A. marginale/B. bigemina/B. bovis* (1/66; 1.5%). Phylogenetic analyses showed that *T. annulata Tams1* and *B. bigemina gp45* sequences were identical to isolates from Mauritania and South Africa, respectively. The three *A. marginale* amplicons obtained herein had 99.63 to 99.88% similarity between them. This study provides data that can be used to improve control programs targeting these cattle hemopathogens.

**Keywords** *Theileria annulata* · *Anaplasma marginale* · *Babesia* · Bovine · Algeria

## APPENDICE H

### COMMUNICATIONS ORALES

**Asma Amina FOUGHALI**, Rachid Rida TRIKI YAMANI, Idir BITAM, Hocine ZIAM. Étude sur la theilériose bovine dans la région de Constantine.

**1<sup>er</sup> séminaire international « SIMA V1 » sur les maladies vectorielles en Afrique du nord.**

22 - 22 octobre 2018, Université Mohammed Boudiaf, M'sila, Algérie.

**Asma Amina FOUGHALI**, Mohamed GHARBI. Apport du laboratoire dans le diagnostic des piroplasmoses des ruminants.

**1<sup>er</sup> webinar international « WVIMVTASE » sur l'impact des maladies vectorielles transmises par les arthropodes sur la santé et l'environnement.**

2 juillet 2022, École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, Algérie.

**Asma Amina FOUGHALI**, Mohamed JEDIDI, Moktar DHIBI, Moez MHADHBI, Limam SASSI, Ali BERBER, Idir BITAM, Mohamed GHARBI. Étude de l'infestation par les tiques et l'infection par les hémopathogènes chez les ovins dans la commune de Beni Hamidéne, wilaya de Constantine, Algérie.

**1<sup>st</sup> International Seminar on Veterinary Parasitology.**

3 – 4 octobre 2022, Université Chadli Bendjedid, El Tarf, Algérie.

## APPENDICE I

### COMMUNICATIONS AFFICHÉES

**Asma Amina FOUGHALI**, Rachid Rida TRIKI YAMANI, Hocine ZIAM, Asma AIZA.  
Enquête sur les principales parasitoses en élevage bovin.

***2<sup>ème</sup> édition de l'espace vétérinaire, organisé par le club Lumière veto.***

17 - 18 décembre 2017, Institut des Sciences Vétérinaires, Université Blida 1, Algérie.

**Asma Amina Foughali**, Idir Bitam, Hocine Ziam. Caractérisation des élevages ovins dans la commune de Beni Hamidéne, Wilaya de Constantine.

**9<sup>ème</sup> Séminaire international de la médecine vétérinaire.**

15 - 16 décembre 2018, Université Frères Mentouri Constantine 1, Algérie.

## APPENDICE J

### AUTRES TRAVAUX

Médiha Khamassi Khbou., Rihab Romdhane., **Asma Amina Foughali.**, Limam Sassi., Vanessa Suin., Mourad Rekik., M'hammed Benzarti. "Presence of antibodies against tick-borne encephalitis virus in sheep in Tunisia, North Africa". BMC Veterinary Research. 2020. DOI :10.1186/s12917-020-02651-6.

Mohamed Gharbi., Zied Idoudi., **Asma Amina Foughali.**, Assessment of the animal health situation in Tunisia. Lebanon: International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA). <https://hdl.handle.net/20.500.11766/10824>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Zoubeidi, M. et Chehat, F., “Le fonctionnement du marché des ovins dans les hautes plaines steppiques de l’ouest Algérien : entre contraintes et répartition de la valeur”, *Livest. Res. Rural. Dev.*, 23, (2011), 9.
2. Mebirouk-Boudechiche, L., Boudechiche, L., Ferhat, R., Tahar, A., “Relation entre disponibilités en herbe, ingestion et activités alimentaires de béliers au pâturage”. *Arch. Zootec.*, 63, 242, (2014), 277 – 287.
3. Yabrir, B., Laoun, A., Chenouf, N.S., Mati, A., “Caractéristiques des élevages ovins de la steppe centrale de l’Algérie en relation avec l’aridité du milieu : Cas de la wilaya de Djelfa”, *Livest. Res. Rural. Dev.*, 27, (2015), 10.
4. Saidani, K., Ziam, H., Hamiroune, M., Righi, S., Benakhla, A., “Elevage des petits ruminants en Kabylie, Algérie, et perspectives de développement”, *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 72, 2, (2019), 49 – 54.
5. Bouchama, B., DIK, B., Benia, F., Mouffok, C., “Dynamique saisonnière des tiques (*Acari : Ixodidae*) parasites des bovins dans la région semi-aride de la wilaya de Sétif Algérie”, *Bull. Soc. zool. Fr.*, 145, 2, (2020), 71 – 81.
6. Mollong, E., Nuto, Y., Rawa, R., Amevoin, K., “Diversité des tiques de bovins et variation saisonnière des infestations dans la région maritime au Togo”, *Tropicultura*, 36, 4, (2018), 684 – 696.
7. Jongejan, F. et Uilenberg, G., “The global importance of ticks”, *Parasitology*, 129, S1, (2004), S3 – S14.
8. de la Fuente, J., Estrada-Pena, A., Venzal, J.M., Kocan, K.M., Sonenshine, D.E., “Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals”, *Front. Biosci.*, 13, 18, (2008), 6938 – 6946.

9. Laamari, A., EL Kharrim, K., Mrifag, R., Boukbal, M., Belghyti, D., “Dynamique des populations de tiques parasites des bovins de la région du Gharb au Maroc”, *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 65, 3 - 4, (2012), 57 – 62.
10. Mirzaei, M. et Khedri, J., “Ixodidae ticks in cattle and sheep in Sistan and Baluchestan Province (Iran)”, *Vet. Ital.*, 50, 1, (2014), 65 – 68.
11. rech-Angelini, S., Stachurski, F., Moutailler, S., Boissier, J., Vayssier-Taussat, M., Lancelot, R., Allienne, J.F., Devilliers, E., Maestrini, O., Marco, S., “Étude des tiques et maladies transmises en milieu insulaire méditerranéen ; l'exemple du cheptel bovin corse ticks and tick-borne pathogens on a Mediterranean island environment : the Corsican cattle”, *Renc. Rech. Ruminants*, 23, (2016), 335 – 338.
12. Onyiche, T.E. et MacLeod, E.T., “Hard ticks (Acari: Ixodidae) and tick-borne diseases of sheep and goats in Africa: A review”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 14, 6, (2023), 102232.
13. Sergent, E., Donatien, A.L., Parrot, L.M., Lestoquard, F., Plantureux, F., Rougebief, H., “Les piroplasmoses bovines d’Algérie”, *Arch. Instit. Pasteur Algérie*. 1, (1924), 1 – 149.
14. Zhou, M., Cao, S., Sevinc, F., Sevinc, M., Ceylan, O., Moumouni, P.F.A., Jirapattharasate, C., Liu, M., Wang, G., Iguchi, A., Vudriko, P., Suzuki, H., Xuan, X., “Molecular detection and genetic identification of *Babesia bigemina*, *Theileria annulata*, *Theileria orientalis* and *Anaplasma marginale* in Turkey”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 7, 1, (2016), 126 – 134.
15. Bursakov, S.A. et Kovalchuk, S.N., “Co-infection with tick-borne disease agents in cattle in Russia”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 10, 3, (2019), 709 – 713.
16. Li, Y., Galon, E.M., Guo, Q., Rizk, M.A., Moumouni, P.F.A., Liu, M., Li J, Ji S, Chahan, B., Xuan, X., “Molecular detection and identification of *Babesia* spp., *Theileria* spp., and *Anaplasma* spp. in sheep from Border regions, Northwestern China”, *Front. Vet. Sci.*, 7, (2020), 630.

17. Ziam, H., Kernif, T., Khelaf, S., Kelanemer, R., Hammaz, Z., Geysen, D., “Bovine piroplasmosis-anaplasmosis and clinical signs of tropical theileriosis in the plains of Djurdjura (north Algeria)”, *Vet. Med. Sci.*, 6, 4, (2020), 720 – 729.
18. Maslin, J., Beugnet, F., B, Davoust, B., Klotz, F., “Babésioses Babesiosis”, *EMC - Mal. Infect.*, 1, 4, (2004), 281 – 292.
19. Gray, J.S., Gray, Estrada-Peña, A., Zintl, A., “Vectors of babesiosis”, *Annu. Rev. Entomol.*, 64, (2019), 149 – 165.
20. Ozubek, S, Bastos, R.G., Alzan, H.F., Inci, A., Aktas, M., Suarez, C.E., “Bovine babesiosis in Turkey: Impact, current gaps, and opportunities for intervention”, *Pathogens*, 9, 12, (2020), 1041.
21. Bock, R., Jackson, L., de Vos, A., Jorgensen, W., “Babesiosis of cattle”, *Parasitology*, 129, S1, (2004), S247 – S269.
22. Bouattour, A., Ghammam, M., Darghouth, M.A., Touil, S., Tahri, M., Ben Hamouda, F., “Séroépidémiologie de la babésiose bovine à *Babesia divergens* en Tunisie”, *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 57, 1 - 2, (2004), 59 – 64.
23. Gray, J.S., “Identity of the causal agents of human babesiosis in Europe”, *Int. J. Med. Microbiol.*, 296, S1, (2006), 131 – 136.
24. Lempereur, L., Shiels, B., Heyman, P., Moreau, E., Saegerman, C., Losson, B., Malandrin, L., “A retrospective serological survey on human babesiosis in Belgium”, *Clin. Microbiol. Infect.*, 21, 1, 96, (2015), e1-96.e7.
25. Niu, Q., Liu, Z., Yu, P., Yang, J., Abdallah, M.O., Guan, G., Liu, G., Luo, J., Yin, H., “Genetic characterization and molecular survey of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Babesia ovata* in cattle, dairy cattle and yaks in China”, *Parasit. Vectors.*, 8, (2015), 518.
26. Jaimes-Dueñez, J., Triana-Chávez, O., Holguín-Rocha, A., Tobon-Castaño, A.,

Mejía-Jaramillo, A.M., “Molecular surveillance and phylogenetic traits of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in cattle (*Bos taurus*) and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Colombia”, *Parasit. Vectors.*, 11, (2018), 510.

27. Hakimi, H., Templeton, T.J., Sakaguchi, M., Yamagishi, J., Miyazaki, S., Yahata, K., Uchihashi, T., Kawazu, S.I., Kaneko, O., Asada, M., “Novel *Babesia bovis* exported proteins that modify properties of infected red blood cells”, *PLoS Pathog.*, 16,10, (2020), e1008917.

28. Sachman-ruiz, B., Lozano, L., Lira, J.J., Martínez, G., Rojas, C., Álvarez, J.A., Figueroa, J.V., “A Comparative genomic study of attenuated and virulent strains of *Babesia bigemina*”, *Pathogens*, 10, 3, (2021), 318.

29. Hassan, H., Asada, M., Ishizaki, T., Shinichiro, K., “Isolation of viable *Babesia bovis* merozoites to study parasite invasion”, *Sci. Rep.*, 16, (2021), 16959.

30. Taboada, J. et Merchant, S.R., “Babesiosis of companion animals and man”, *Vet. Clin. N. Am. Small Anim. Pract.*, 21, 1, (1991), 103 – 123.

31. Zintl, A., Mulcahy, G., Skerrett, H.E., Taylor, S.M., Gray, J.S., “*Babesia divergens*, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance”, *Clin. Microbiol. Rev.*, 16, 4, (2003), 622 – 636.

32. Blaschitz, M., Narodoslavsky-Gföller, M., Kanzler, M., Stanek, G., Walochnik, J., “*Babesia* species occurring in Austrian *Ixodes ricinus* ticks”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, 15, (2008), 4841 – 4846.

33. Mosqueda, J., Olvera-Ramirez, A., Aguilar-Tipacamu, G., Canto, G.J., “Current advances in detection and treatment of Babesiosis”, *Curr. Med. Chem.*, (2012), 19, 10, 1504 – 1518.

34. Akel, T. et Mobarakai, N., “Hematologic manifestations of babesiosis”, *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 16, 1, (2017), 6.

35. Alvarez, J.A., Rojas, C., Figueroa, J.V., “Diagnostic tools for the identification of *Babesia* sp. in persistently infected cattle”, *Pathogens*, 8, 3, (2019), 143.
36. Schnittger, L., Rodriguez, A.E., Florin-Christensen, M., Morrison, D.A., “*Babesia*: A world emerging”, *Infect. Genet. Evol.*, 12, 8, (2012), 1788 – 1809.
37. Alvarez, J.A., Rojas, C., Figueroa, J. V., “An Overview of current knowledge on in vitro *Babesia* cultivation for production of live attenuated vaccines for bovine babesiosis in Mexico”, *Front. Vet. Sci.*, 7, (2020), 364.
38. Mohammadi, S., Mohammadi, V., Esmailnejad, B., “Evaluation of some acute phase proteins in cattle naturally infected with *Babesia bigemina*”, *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 76, (2021), 101642.
39. Babes, V., “Sur l’hémoglobinurie bactérienne du bœuf”, *C. R. Acad. Sci., Paris*, 107, (1888), 692 – 694.
40. Uilenberg, G., “*Babesia* - a historical overview”, *Vet. Parasitol.*, 138, 1 - 2, (2006), 3 – 10.
41. M’Fadyeann, J. et Stockman, S., “A new species of piroplasm found in the blood of British cattle”, *J. Comp. Pathol.*, 24, (1911), 340 – 354.
42. Bouattour, A. et Darghouth, M.A., “First report of *Babesia divergens* in Tunisia”, *Vet. Parasitol.*, 63, 1 - 2, (1996), 161 – 165.
43. Yin, H. et Luo, J., “Ticks of small ruminants in China”, *Parasitol. Res.*, 101, (2007), 187 – 189.
44. Silva, J.H.D, Rebesquini, R., Setim, D.H., Scariot, C.A., Vieira, M.I.B., Zanella, R., Motta, A.C.D., Alves, L.P., Bondan, C., “Chemoprophylaxis for babesiosis and anaplasmosis in cattle : case report Quimioprofilaxia para babesiose e anaplasmoze em bovinos : relato de caso”, *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 29, 4, (2020), e010520.

45. He, L., Bastos, R.G., Sun, Y., Hua, G., Guan, G., Zhao, J., Suarez, C.E., “Babesiosis as a potential threat for bovine production in China”, *Parasit. Vectors.*, 14, (2021), 460.
46. Galon, E.M., Zafar, I., Ji, S., Li, H., Ma, Z., Xuan, X., “Molecular reports of ruminant *Babesia* in Southeast Asia”, *Pathogens*, 11, 8, (2022), 915.
47. Wilkowsky, S., Farber, M., Gil, G., Echaide, I., Mosqueda, J., Alcaraz, E., Suarez, C.E., Florin-Christensen, M., “Molecular characterization of *Babesia bovis* strains using PCR restriction fragment length polymorphism analysis of the *msa2-a/b* genes”, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1149, 1, (2008), 141 – 144.
48. Liyanagunawardena, N., Sivakumar, T., Kothalawala, H., Silva, S.S.P., Battsetseg, B., Lan, D.T., Inoue, N., Igarashi, I., Yokoyama, N., “Type-specific PCR assays for *Babesia bovis msa-1* genotypes in Asia: Revisiting the genetic diversity in Sri Lanka, Mongolia, and Vietnam”, *Infect. Genet. Evol.*, (2016), 37, 64 – 69.
49. Ganzinelli, S., Benitez, D., Gantuya, S., Guswanto, A., Florin-Christensen, M., Schnittger, L., Igarashi, I., “Highly sensitive nested PCR and rapid immunochromatographic detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in a cattle herd with acute clinical and fatal cases in Argentina”, *Transbound. Emerg. Dis.*, 67, S2, (2020), 159 – 164.
50. Guswanto, A., Allamanda, P., Mariamah, E.S., Sodirun, S., Wibowo, P.E., Indrayani, L., Nugroho, R.H., Wirata, I.K., Jannah, N., Dias, L.P., Wirawan, H.P., Yanto, R., Tuvshintulga, B., Sivakumar, T., Yokoyama, N., Igarashi, I., “Molecular and serological detection of bovine babesiosis in Indonesia”, *Parasit. Vectors.*, 10, (2017), 550.
51. Schoch, C.L., et al., “NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford)”, (2020), baaa062. PubMed: 32761142 PMC:PMC7408187,(2020),<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=5865>.

52. Sivakumar, T., Tagawa, M., Yoshinari, T., Ybañez, A.P., Igarashi, I., Ikehara, Y., Hata, H., Kondo, S., Matsumoto, K., Inokuma, H., Yokoyama, N., “PCR detection of *Babesia ovata* from cattle reared in Japan and clinical significance of coinfection with *Theileria orientalis*”, J. Clin. Microbiol., (2012), 50, 6, 2111 – 2113.
53. Wang, J., Liu, A., Zhang, S., Gao, S., Rashid, M., Li, Y., Liu, J., Ma, Q., Li, Z., Liu, Z., Luo, J., Guan, G., Yin, H., “High resolution melting analysis of the 18S rRNA gene for the rapid diagnosis of bovine babesiosis”, Parasit. Vectors., 12, (2019), 523.
54. Otgonsuren, D., Sivakumar, T., Amgalanbaatar, T., Enkhtaivan, B., Narantsatsral, S., Tuvshintulga, B., Zoljargal, M., Munkhgerel, D., Davkharbayar, B., Baatarjargal, P., Davaasuren, B., Myagmarsuren, P., Battsetseg, B., Battur, B., Yokoyama, N., “Molecular epidemiological survey of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Babesia* sp. Mymensingh infections in Mongolian cattle”, Parasitol. Int., 77, (2020), 102107.
55. Sivakumar, T., Tuvshintulga, B., Kothalawala, H., Silva, S.S.P., Lan, D.T.B., Long, P.T., Ybañez, A.P., Ybañez, R.H.D., Benitez, D.F., Tayebwa, D.S., De Macedo, A.C.C., Schnittger, L., Yokoyama, N., “Host range and geographical distribution of *Babesia* sp. Mymensingh”, Transbound. Emerg. Dis., 67, 5, (2020), 2233 – 2239.
56. Hashemi-Fesharki, R. et Uilenberg, G., “*Babesia crassa* n.sp. (Sporozoa, Babesiidae) of domestic sheep in Iran”, Vet. Q., 3, 1, (1981), 1 – 8.
57. Aktaş, M., Altay, K., Dumanli, N., “Development of a polymerase chain reaction method for diagnosis of *Babesia ovis* infection in sheep and goats”, Vet. Parasitol., 133, 4, (2005), 277 – 281.
58. Mtshali, M.S. et Mtshali, P.S., “Molecular diagnosis and phylogenetic analysis of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* hemoparasites from cattle in South Africa”, BMC Vet. Res., 9, (2013), 154.

59. Jirapattharasate, C., Adjou Moumouni, P.F., Cao, S., Iguchi, A., Liu, M., Wang, G., Zhou, M., Vudriko, P., Efstratiou, A., Changbunjong, T., Sungpradit, S., Ratanakorn, P., Moonarmart, W., Sedwisai, P., Weluwanarak, T., Wongsawang, W., Suzuki, H., Xuan, X., “Molecular detection and genetic diversity of bovine *Babesia* spp., *Theileria orientalis*, and *Anaplasma marginale* in beef cattle in Thailand”, *Parasitol. Res.*, 116, (2017), 751 – 762.
60. Almazan, C., Tipacamu, G.A., Rodriguez, S., Mosqueda, J., Perez de Leon, A., “Immunological control of ticks and tick-borne diseases that impact cattle health and production”, *Front. Biosci.*, 23, 8, (2018), 1535 – 1551.
61. Ringo, A.E., Aboge, G.O., Adjou Moumouni, P.F., Hun Lee, S. Jirapattharasate, C., Liu, M., Gao, Y., Guo, H., Zheng, W., Efstratiou, A., Galon, E.M., Li, J., Thekiso, O., Inoue, N., Suzuki, H., Xuan, X., “Molecular detection and genetic characterisation of pathogenic *Theileria*, *Anaplasma* and *Ehrlichia* species among apparently healthy sheep in central and western Kenya”, *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 86, 1, (2019), a1630.
62. Kage, S., Mamatha, G.S., Lakkundi, J.N., Shivashankar, B.P., D’Souza, P.E., “Detection of incidence of *Babesia* spp. in sheep and goats by parasitological diagnostic techniques”, *J. Parasit. Dis.*, 43, (2019), 452 – 457.
63. Ceylan, O., Xuan, X., Sevinc, F., “Primary tick-borne protozoan and rickettsial infections of animals in Turkey”, *Pathogens*, 10, 2, (2021), 231.
64. Ibrahim, H.M., Galon, E.M.S., Tumwebaze, M.A., Byamukama, B., Liu, M., Mohammed-Geba, K., Sheir, S.K., Galal-Khallaf, A., Abd El Latif, H.M., Morsi, D.S., Bishr, N.M., Xuan, X., “Serological Survey of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in Cattle and Water Buffaloes from Menoufia Province, Egypt”, *Acta Parasitol.*, 66, (2021), 1458 – 1465.
65. M’ghirbi, Y. et Bouattour, A., “Séroprévalences de *Babesia bovis* et de *Babesia bigemina* chez les bovins en Tunisie”, *Revue Méd. Vét.*, 160, 4, (2009), 209 – 214.

66. Johnson, N., Johnson, N., Paul Phipps, L., McFadzean, H., Barlow, A.M., “An outbreak of bovine babesiosis in February, 2019, triggered by above average winter temperatures in southern England and co-infection with *Babesia divergens* and *Anaplasma phagocytophilum*”, *Parasit. Vectors.*, 13, (2020), 305.
67. Ahmed, B.M., Taha, K.M., Enan, K.A., Elfahal, A.M., El Hussein AR., “Attenuation of *Theileria lestoquardi* infected cells and immunization of sheep against malignant ovine theileriosis”, *Vaccine*, 31, 42, (2013), 4775 – 4781.
68. Darghouth, M.A., “Piroplasmids of livestock in Tunisia. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*”, 81, 1 - 4, (2004), 21 – 25.
69. Dhararesha, N.K., Giridhar, P., Byregowda, S.M., Venkatesh, M.D., Ananda KJ. “Seasonal prevalence of blood parasitic diseases in crossbred cattle of Mysore and its surrounding districts of Karnataka”, *J. Parasit. Dis.*, (2017), 41, 773 – 777.
70. Benedicto, B., Ceylan, O., Moumouni, P.F.A., Lee, SH, Tumwebaze, M.A., Li, J., Galon, E.M., Liu, M., Li, Y., Ji. S., Ringo, A., Rizk, M., Sevinc, F., Xuan, X., “Molecular detection and assessment of risk factors for tick-borne diseases in sheep and goats from Turkey”, *Acta Parasitol.*, 65, (2020), 723 – 732.
71. Suarez, C.E., Alzan, H.F., Silva, M.G., Rathinasamy, V., Poole, W.A., Cooke, B.M., “Unravelling the cellular and molecular pathogenesis of bovine babesiosis: is the sky the limit ?”, *Int. J. Parasitol.*, 49, 2, (2019), 183 – 197.
72. Jacob, S.S., Sengupta, P.P., Paramanandham, K., Suresh, K.P., Chamuah, J.K., Rudramurthy, G.R., Roy, P., “Bovine babesiosis: An insight into the global perspective on the disease distribution by systematic review and meta-analysis”, *Vet. Parasitol.*, 283, (2020), 109136.
73. Gallego-Lopez, G.M., Cooke, B.M., Suarez, C.E., “Interplay between attenuation-and virulence-factors of *Babesia Bovis* and their contribution to the establishment of persistent infections in cattle”, *Pathogens*, 8, 3, (2019), 97.

74. Hakimi, H., Ishizaki, T., Kegawa, Y., Kaneko, O., Kawazu, S.I., Asada, M., "Genome editing of *Babesia bovis* Using the CRISPR/Cas9 System", *mSphere*, 4, 3, (2019), e00109-19.
75. Ziam, H. et Benaouf, H., "Prevalence of blood parasites in cattle from wilayates of Annaba and El Tarf east Algeria", *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 81, 1 - 4, (2004), 27 – 30.
76. Ziam, H., Ababou, A., Kazadi, J.M., Harhoura, KH., Aissi, M., Geysen, D., Berkvens, D., "Prévalences et signes cliniques associés des piroplasmoses bovines dans les Wilayates d'Annaba et El Tarf, Algérie", *Revue Méd. Vét.*, 9, 167, (2016), 241 – 249.
77. Benchikh Elfegoun, M.C., Gharbi, M., Merzekani, Z., Kohil, K., "Bovine piroplasmosis in the provinces of Skikda and Oum El Bouaghi (Northeastern Algeria): Epidemiological study and estimation of milk yield losses", *Revue Élev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 70, 3, (2017), 105 – 110.
78. Sadeddine, R., Diarra, A.Z., Laroche, M., Mediannikov, O., Righi, S., Benakhla, A., Benakhla, A., Dahmana, H., Raoult, D., Parola, P., "Molecular identification of protozoal and bacterial organisms in domestic animals and their infesting ticks from north-eastern Algeria", *Ticks Tick Borne Dis.*, 11, 2, (2020), 101330.
79. M'ghirbi, Y., Hurtado, A., Brandika, J.F., Khelif, K., Ketata, Z., Bouattour, A., "A molecular survey of *Theileria* and *Babesia* parasites in cattle, with a note on the distribution of ticks in Tunisia", *Parasitol. Res.*, 103, (2008), 435 – 442.
80. Rahali, T., Sahibi, H., Sadak, A, Ait Hamou, S., Losson, B., Goff, W.L., Rhalem, A., "Séroprévalence et facteurs de risque des hémoparasitoses (theilériose, babésiose et anaplasmose) chez les bovins dans quatre grandes régions d'élevage du Maroc", *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 67, 4, (2014), 235 – 240.
81. Sahibi, H., Rhalem, A.B., Berrag, B., Goof, W.L., "Bovine babesiosis: seroprevalence and ticks associated with cattle from two different regions of

Morocco”, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 849, 1, (1998), 213 – 218.

82. Al-Hosary, A., Răileanu, C., Tauchmann, O., Fischer, S., Nijhof, A.M., Silaghi, C., “Epidemiology and genotyping of *Anaplasma marginale* and co-infection with piroplasms and other *Anaplasmataceae* in cattle and buffaloes from Egypt”, *Parasit. Vectors.*, 13, (2020), 495.

83. Abdela, N., Ibrahim, N., Begna, F., “Prevalence, risk factors and vectors identification of bovine anaplasmosis and babesiosis in and around Jimma town, Southwestern Ethiopia”, *Acta Trop.*, (2018), 177, 9 – 18.

84. Fesseha, H., Mathewos, M., Eshetu, E., Tefera, B., “Babesiosis in cattle and ixodid tick distribution in Dasenech and Salamago Districts, southern Ethiopia”, *Sci. Rep.*, 12, (2022), 6385.

85. Toure, A., Sanogo, M., Sghiri, A., Sahibi, H., “Diagnostic Accuracy of an Indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay (iELISA) for Screening of *Babesia bovis* in Cattle from West Africa”, *Life*, 13, 1, (2023), 203.

86. Boularias, G., Azzag, N., Gandoin, C., Bouillin, C., Chomel, B., Haddad, N., Boulouis, H.J., “Bovines harbor a diverse array of vector-borne pathogens in Northeast Algeria”, *Pathogens*, 9, 11, (2020), 883.

87. Homer, M.J., Aguilar-delfin, I., Telford, S.R., Krause PJ, Persing, D.H., “Babesiosis”, *Clin. Microbiol. Rev.*, 13, 3, (2000), 451 – 469.

88. Andersson, M.o., Víchová, B., Tolf, C., Krzyzanowska, S., Waldenström, J., Karlsson, M.E., “Co-infection with *Babesia divergens* and *Anaplasma phagocytophilum* in cattle (*Bos taurus*), Sweden”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 8, (2017), 933 – 935.

89. Springer, A., Höltershinken, M., Lienhart, F., Ermel, S., Rehage, J., Hülskötter, K., Lehmbecker, A., Wohlsein, P., Barutzki, D., Gietl, C., Baumgärtner, W., Hoedemaker, M., Strube, C., “Emergence and epidemiology of bovine Babesiosis

due to *Babesia divergens* on a Northern German Beef production farm”, *Front. Vet. Sci.*, 7, (2020), 649.

90. Rojko, T., Duh, D., Avšič-Županc, T., Strle, F., Lotric-Furlan, S., “Seroprevalence of *Babesia divergens* infection among forestry workers in Slovenia”, *Int. J. Med. Microbiol.*, 298, S1, (2008), 347 – 350.

91. Ghafar, M.W. et Amer, S.A.M., “A preliminary molecular survey of *Babesia divergens* and first evidence of *Theileria annulata* in cattle from Saudi Arabia”, *Vet. World*, 12, 2, (2019), 266 – 270.

92. Zintl, A., McGrath, G., O’Grady, L., Fanning, J., Downing, K., Roche, D., Casey, M., Gray, J.S., “Changing incidence of bovine babesiosis in Ireland”, *Ir. Vet. J.*, 67, (2014), 19.

93. Rjeibi, M.R., Gharbi, M., Mhadhbi, M., Mabrouk, W., Ayari, B., Nasfi, I., Jedidi, M., Sassi, L., Rekik, M., Darghouth, M.A., “Prevalence of piroplasms in small ruminants in North-West Tunisia and the first genetic characterisation of *Babesia ovis* in Africa”, *Parasite*, 21, (2014), 23.

94. Carletti, T., Barreto, C., Mesplet, M., Mira, A., Weir, W., Shiels, B., Oliva, A.G., Schnittger, L., Florin-Christensen, M., “Characterization of a papain-like cysteine protease essential for the survival of *Babesia ovis* merozoites”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 7, 1, (2016), 85 – 93.

95. Aouadi, A., Leulmi, H., Boucheikhchoukh, M., Benakhla, A., Raoult, D., Parola, P., “Molecular evidence of tick-borne hemoprotozoan-parasites (*Theileria ovis* and *Babesia ovis*) and bacteria in ticks and blood from small ruminants in Northern Algeria”, *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 50, (2017), 34 – 39.

96. Ranjbar-Bahadori, S., Eckert, B., Omidian, Z., Shirazi, N.S., Shayan, P., “*Babesia ovis* as the main causative agent of sheep babesiosis in Iran”, *Parasitol. Res.*, 110, (2012), 1531 – 1536.

97. Erster, O., Roth, A., Wolkomirsky, R., Leibovich, B., Savitzky, I., Shkap, V., "Transmission of *Babesia ovis* by different *Rhipicephalus bursa* developmental stages and infected blood injection", *Ticks Tick-borne Dis.*, 7, 1, (2015), 13 – 19.
98. Esmailnejad, B., Tavassoli, M., Asri-Rezaei, S., Dalir-Naghadeh, B., Mardani, K., Jalilzadeh-Amin, G., Golabi, M., Arjmand, J., "PCR-based detection of *Babesia ovis* in *Rhipicephalus bursa* and small ruminants", *J. Parasitol. Res.*, 294704, (2014), 1–6.
99. Cantu-C, A., Ortega-S, J.A., García-Vázquez, Z., Mosqueda, J., Henke, S.E., George, J.E., "Epizootiology of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in free-ranging White-tailed deer in northeastern Mexico", *J. Parasitol.*, 95, 3, (2009), 536 – 542.
100. Beugnet, F. et Moreau, Y., "Babesiosis", *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 34, 2, (2015), 627 – 639.
101. Zwart, D., "Hémoparasitoses bovines", *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 4, 3, (1985), 459 – 468.
102. Christensson, D.A., "Inverse age resistance to experimental *Babesia Divergens* infection in cattle", *Acta Vet. Scand.*, 30, (1989), 453 – 464.
103. Zulfiqar, S., Shahnawaz, S., Ali, M., Bhutta, A.M., Iqbal, S, Hayat, S., Qadir, S., Latif, M., Kiran, N., Saeed, A., Ali, M., Iqbal., F., "Detection of *Babesia bovis* in blood samples and its effect on the hematological and serum biochemical profile in large ruminants from Southern Punjab", *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 2, 2, (2012), 104 – 108.
104. Taha, E.M., Mahmoud, A.A., El-Rahman, A.H., Fadly, R.S., "Epidemiological, clinical and diagnostic studies on blood parasites in cattle and Buffaloes in ElBehera Province", *Alexandria. J. Vet. Sci.*, 56, 1, (2018), 45 – 55.
105. Ceylan, O. et Sevinc, F., "Endemic instability of ovine babesiosis in Turkey: A country-wide sero-epidemiological study", *Vet. Parasitol.*, 278, (2020), 109034.

106. Bock, R.E., de Vos, J., Kingston, T.G., McLellan, D.J., “Effect of breed of cattle on innate resistance to infection with *Babesia bovis*, *B. bigemina* and *Anaplasma marginale*”, *Aust. Vet. J.*, 75, 5, (1997), 337 – 340.
107. Stuen, S., “Haemoparasites—challenging and wasting infections in small ruminants: A review”, *Animals*, 10, 11, (2020), 2179.
108. Giglioti, R., Okino, C.H., Azevedo, B.T., Wedy, B.C.R., Gutmanis, G., Veríssimo, C.J., Katiki, L.M., Filho, A.E.V., de Oliveira, H.N., Oliveira, M.C.S., “Semi-quantitative evaluation of *Babesia bovis* and *B. bigemina* infection levels estimated by HRM analysis”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 12, 5, (2021), 101753.
109. El-Haj, N., Kachani, M., Ouhelli, H., Bouslikhane, M., Ahami, A.T., El-Guennouni, R., El Hasnaoui, M., Katende, J.M., Morzaria, S.P., “Etudes épidémiologiques sur *Babesia bigemina* au Maroc”, *Revue Méd. Vét.*, 153, 12, (2002), 809 – 814.
110. Morel, N., Mastropaolo, M., de Echaide, S.T., Signorini, M.L., Mangold, A.J., “Risks of cattle babesiosis (*Babesia bovis*) outbreaks in a semi-arid region of Argentina”, *Prev. Vet. Med.*, 170, (2019), 104747.
111. Matos, C.A., Gonçalves, L.R., Alvarez, D.O., Freschi, C.R., Silva, J.B.D., Val-Moraes, S.P., Mendes, N.S., André, M.R., “Longitudinal evaluation of humoral immune response and merozoite surface antigen diversity in calves naturally infected with *Babesia bovis*, in São Paulo, Brazil”, *Braz. J. Vet. Parasitol.*, Jaboticabal, 26, 4, (2017), 479 – 490.
112. Mahoney, D.F., Wright, I.G., Mirre, G.B., “Bovine babesiosis: the persistence of immunity to *Babesia argentina* and *B. Bigemina* in calves (*Bos taurus*) after naturally acquired infection”, *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 67, 2, (1973), 197 – 203.
113. Dorchies P, Duncan J, Lossan B, Alzieu J. “Vade Mecum, Parasitologie clinique des bovins”, Édition MED’COM, (2012), 342 p.

114. Gharbi, M., Hayouni, M.T., Sassi, L., Dridi, W., Darghouth, M.A., “*Hyalomma scupense* (Acari, Ixodidae) in northeast Tunisia: seasonal population dynamics of nymphs and adults on field cattle”, *Parasite*, 20, 12, (2013), 1 – 8.
115. L’Hostis, M. et Seegers, H., “Tick-borne parasitic diseases in cattle: Current knowledge and prospective risk analysis related to the ongoing evolution in french cattle farming systems”, *Vet Res.*, 33, 5, (2002), 599 – 611.
116. Norval, R.A.I., Fivaz, B.H., Lawrence, J.A., Daillecourt, T., “Epidemiology of tick-borne diseases of cattle in Zimbabwe. I. Babesiosis”, *Trop. Anim. Health. Prod.*, 15, (1983), 87 – 94.
117. Regassa, A., Penzhorn, B.L., Bryson, N.R., “Progression towards endemic stability to bovine babesiosis in cattle introduced onto a game ranch”, *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 71, 4, (2004), 333 – 336.
118. Patarroyo, J.H., Vargas, M.I., Bicudo, P.L., “Description of lesions in cattle in a natural outbreak of *Babesia bovis* infection in Brazil”, *Vet. Parasitol.*, 11, 4, (1982), 301 – 308.
119. Brown, W.C., Norimine, J., Goff, W.L., Suarez, C.E., McElwain, T.F., “Prospects for recombinant vaccines against *Babesia bovis* and related parasites”, *Parasite Immunol.*, 28, 7, (2006), 315 – 327.
120. Jaramillo Ortiz, J.M., Paoletta, M.S., Gravisaco, M.J., López Arias, L.S., Montenegro, V.N., de la Fournière, S.A.M., Valenzano, M.N., Guillemi, E.C., Valentini, B., Echaide. I., Farber, M.D., Wilkowsky, S.E., “Immunisation of cattle against *Babesia bovis* combining a multi-epitope modified vaccinia Ankara virus and a recombinant protein induce strong Th1 cell responses but fails to trigger neutralising antibodies required for protection”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 10, 6, (2019), 101270.
121. Rathinasamy, V., Poole, W.A., Bastos, R.G., Suarez, C.E., Cooke, B.M., “Babesiosis vaccines: Lessons learned, challenges ahead, and future glimpses”,

Trends Parasitol., 35, 8, (2019), 622 – 635.

122. Montenegro-James, S., Toro Benitez, M., Leon, E., Lopez, R., Ristic, M., “Bovine babesiosis: induction of protective immunity with culture-derived *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* immunogens”, Parasitol. Res., 74, (1987), 142 – 150.

123. Silva, M.G., Knowles, D.P., Mazuz, M.L., Cooke, B.M., Suarez, C.E., “Stable transformation of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* using a single transfection plasmid”, Sci. Rep., 8, (2018), 6096.

124. Sivakumar, T., Tuvshintulga, B., Zhyldyz, A., Kothalawala, H., Yapa, P.R., Kanagaratnam, R., Vimalakumar, S.C., Abeysekera, T.S., Weerasingha, A.S., Yamagishi, J., Igarashi, I., Silva, S.S.P., Yokoyama, N., “Genetic analysis of *Babesia* isolates from cattle with clinical Babesiosis in Sri Lanka”, J. Clin. Microbiol., 56, 11, (2018), e00895-18.

125. Pupin, R.C., Guizelini, C.C, Lemos, R.A.A., Martins, T.B., Borges, F.A., Borges, D.G.L., Gomes, D.C., “Retrospective study of epidemiological, clinical and pathological findings of bovine babesiosis in Mato Grosso do Sul, Brazil (1995 – 2017)”, Ticks Tick Borne Dis., 10, 1, (2019), 36 – 42.

126. Ueti, M.W., Olafson, P.U., Freeman, J.M., Johnson, W.C., Scoles, G.A., “A virulent *Babesia bovis* strain failed to infect white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*)”, PLoS One, 10, 6, (2015), e0131018.

127. Chung, C.J., Suarez, C.E., Bandaranayaka-Mudiyanselage, C.L., Bandaranayaka-Mudiyanselage, C.B., Rzepka, J., Heiniger, T.J., Chung, G., Lee, S.S., Adams, E., Yun, G., Waldron, S.J., “A novel modified-indirect ELISA based on spherical body protein 4 for detecting antibody during acute and long-term infections with diverse *Babesia bovis* strains”, Parasit. Vectors., 10, (2017), 77.

128. Uilenberg, G., “Diagnostic microscopique des maladies transmises par les tiques au maghreb”, Arch. Inst. Pasteur Tunis, 81, 1 - 4, (2004), 35 – 40.

129. Henker, L.C., Lorenzetti, M.P., Fagundes-Moreira, R., Dalto, A.G.C., Sonne, L., Driemeier, D., Soares, J.F., Pavarini, S.P., “Bovine abortion, stillbirth and neonatal death associated with *Babesia bovis* and *Anaplasma* sp. infections in southern Brazil”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 11, 4, (2020), 101443.
130. Brown, W.C, McElwain, T.F., Hötzel, I., Ruef, B.J., Rice-Ficht, A.C., Stich, R.W., Suarez, C.E., Estes, D.M., Palmer, G.H., “Immunodominant T-cell antigens and epitopes of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*”, *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 92, 4, (1998), 473 – 482.
131. Esteve-Gasent, M.D., Rodríguez-Vivas, R.I., Medina, R.F., Ellis, D., Schwartz, A., Cortés Garcia, B., Hunt, C., Tietjen, M., Bonilla, D., Thomas, D., Logan, L.L., Hasel, H., Alvarez Martínez, J.A., Hernández-Escareño., J.J., Mosqueda Gualito, J., Alonso Díaz, M.A., Rosario-Cruz, R., Soberanes Céspedes, N., Merino Charrez, O., Howard, T., Chávez Niño, V.M., Pérez de León, A.A., “Research on integrated management for cattle fever ticks and bovine babesiosis in the United States and Mexico: Current status and opportunities for binational coordination”, *Pathogens*, 9, 11, (2020), 871.
132. Yeruham, I., Hadani A, Galker F, Avidar Y, Bogin E. “Clinical, Clinico-Pathological and Serological Studies of *Babesia ovis* in Experimentally Infected Sheep”, *J. Vet. Med.*, B 45, (1998), 385 – 394.
133. Sevinc, F., Sevinc, M., Ekici, O.D., Yildiz, R., Isik, N., Aydogdu, U., “*Babesia ovis* infections: Detailed clinical and laboratory observations in the pre- and post-treatment periods of 97 field cases”, *Vet. Parasitol.*, (2013), 191, 1 - 2, 35 – 43.
134. Ijaz, M., Rehman, A., Ali, M.M., Umair, M., Khalid, S., Mehmood, K., Hanif, A., “Clinico-epidemiology and therapeutical trials on babesiosis in sheep and goats in Lahore, Pakistan”, *J. Anim. Plant. Sci.*, 23, 2, (2013), 666 – 669.
135. Sun, M., Wang, J., Liu, Z., Guan, G., Li, Y., Liu, J., Xu, J., Yin, H., Luo, J., “First molecular evidence of *Babesia occultans* and *Theileria separata* infection in ticks and sheep in China”, *Exp. Appl. Acarol.*, (2019), 78, 223 – 229.

136. Ceylan, O., Byamukama, B., Ceylan, C., Galon, E.M., Liu, M., Masatani, T., Xuan, X., Sevinc, F., “Tick-borne hemoparasites of sheep: A molecular research in Turkey”, *Pathogens*, 10, 2, (2021), 162.
137. Amorim, S.L., Wenceslau, A.A., Carvalho, F.S., Carneiro, P.L.S., Albuquerque, G.R., “Bovine babesiosis and anaplasmosis complex: diagnosis and evaluation of the risk factors from Bahia, Brazil”, *Braz. J. Vet. Parasitol.*, 23, 3, (2014), 328 – 336.
138. Aktas, M., Altay, K., Dumanli, N., “Determination of prevalence and risk factors for infection with *Babesia ovis* in small ruminants from Turkey by polymerase chain reaction”, *Parasitol. Res.*, 100, (2007), 797 – 802.
139. Shayan, P., Hooshmand, E., Nabian, S., Rahbari, S., “Biometrical and genetical characterization of large *Babesia ovis* in Iran”, *Parasitol. Res.*, (2008), 103, 217 – 221.
140. Shayan, P. et Rahbari, S., “Simultaneous differentiation between *Theileria* spp. and *Babesia* spp. on stained blood smear using PCR”, *Parasitol. Res.*, 97, (2005), 281 – 286.
141. Shahzad, W., Noor, H., Ahmad, M.U, Munir, R., Sharif Saghar, M., Hassan Mushtaq, M., Ahmad, N., Akbar, G., Mehmood, F., “Prevalence and molecular diagnosis of *Babesia ovis* and *Theileria ovis* in Lohi sheep at Livestock Experiment Station (LES), Bahadurnagar, Okara, Pakistan”, *Iran. J. Parasitol.*, 8, 4, (2013), 570 – 578.
142. Mahmoud, M.S., Kandil, O.M., Nasr, S.M., Hendawy, S.H., Habeeb, S.M., Mabrouk, D.M., Silva, M.G., Suarez, CE., “Serological and molecular diagnostic surveys combined with examining hematological profiles suggests increased levels of infection and hematological response of cattle to babesiosis infections compared to native buffaloes in Egypt”, *Parasit. Vectors.*, 8, (2015), 319.
143. Romero-Salas, D., Mira, A., Mosqueda, J., García-Vázquez Z, Hidalgo-Ruiz M, Vela, N.A., de León, A.A., Florin-Christensen, M., Schnittger, L., “Molecular and

serological detection of *Babesia bovis*- and *Babesia bigemina*-infection in bovines and water buffaloes raised jointly in an endemic field”, *Vet. Parasitol.*, 217, (2016), 101 – 107.

144. Parodi, P., Corbellini, L.G., Leotti, V.B., Rivero, R., Miraballes, C., Riet-Correa, F., Venzal, J.M., Armúa-Fernández, M.T., “Validation of a multiplex PCR assay to detect *Babesia* spp. and *Anaplasma marginale* in cattle in Uruguay in the absence of a gold standard test”, *J. Vet. Diagn. Invest.*, 33, 1, (2020), 73 – 79.

145. Laha, R., Das, M., Sen, A., “Morphology, epidemiology, and phylogeny of *Babesia*: An overview”, *Trop. Parasitol.*, 5, (2015), 94 – 100.

146. Gordon Thomson, J. et Norman Hall, G., “The occurrence of *Babesia motasi* Wenyon, 1926, in sheep in Northern Nigeria, with a discussion on the classification of the Piroplasms”, *J. Comp. Pathol. Ther.*, (1933), 46, 218 – 231.

147. Darghouth, M.A., Gharbi, M., Uilenberg, G., “Major pathogens of erythrocytes in livestock Magreb region”, Poster présenté à l'international consortium on ticks and tick-borne diseases II, (11-14 décembre 2002), Tunisie.

148. Muraleedharan, K., “*Babesia* and babesiosis in livestock of Karnataka State, India- An Overview”, *Vet Res Int.*, (2015), 3, 81 – 88.

149. Theodoropoulos, G., Gazouli, M., Ikonomopoulos, J.A., Kantzoura, V., Kominakis, A., “Determination of prevalence and risk factors of infection with *Babesia* in small ruminants from Greece by polymerase chain reaction amplification”, *Vet. Parasitol.*, 135, 2, (2006), 99 – 104.

150. Mohammed-Ahmed, G.M., Hassan, S.M., El Hussein, A.M., Salih, D.A., “Molecular, serological and parasitological survey of *Theileria annulata* in North Kordofan State, Sudan”, *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.*, 13, (2018), 24 – 29.

151. Alanazi, A.D., Said, A.E., Ghoneim, A.M., Alyousif, M.S., Alanazi, I.O., “A comprehensive evaluation and first molecular report of *Theileria ovis* infection in

small ruminants in Saudi Arabia”, *Trop. Anim. Health. Prod.*, 51, (2019), 89 – 98.

152. Liu, J., Guan, G., Liu, A., Li, Y., Yin, H., Luo, J., “A PCR method targeting internal transcribed spacers: The simultaneous detection of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in cattle”, *Acta Parasitol.*, 59, 1, (2014), 132 – 138.

153. Rjeibi, M.R., Darghouth, M.A., Gharbi, M., “Prevalence of *Theileria* and *Babesia* species in Tunisian sheep”, *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 83, 1, (2016), a1040.

154. Nayel, M., El-Dakhly, K.M., Aboulaila, M., Elsify, A., Hassan, H., Ibrahim, E., Salama, A., Yanai, T., “The use of different diagnostic tools for *Babesia* and *Theileria* parasites in cattle in Menofia, Egypt”, *Parasitol. Res.*, 111, (2012), 1019 – 1024.

155. Mans, B.J., Pienaar, R., Latif, A.A., “A review of *Theileria* diagnostics and epidemiology”, *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.*, 4, 1, (2015), 104 – 118.

156. Katende, J., Morzaria, S., Toye, P., Skilton, R., Nene V, Nkonge, C., Musoke, A., “An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Theileria parva* antibodies in cattle using a recombinant polymorphic immunodominant molecule”, *Parasitol. Res.*, 84, (1998), 408 – 416.

157. Santamaria, R.M., Lira, J.J, Vargas, P., Alvarez., J.A, Rojas, C., Figueroa, J., V., “Validation of an indirect ELISA using recombinant proteins as antigen to identify animals exposed to *Babesia bigemina*”, *Transbound. Emerg. Dis.*, 67, S2, (2020), 201 – 207.

158. Salih, D.A., Hassan, S.M., El Hussein, A.M., “Comparisons among two serological tests and microscopic examination for the detection of *Theileria annulata* in cattle in northern Sudan”, *Prev. Vet. Med.*, 81, 4, (2007), 323 – 326.

159. Al-Hosary, A.A.T., Ahmed, J., Nordengrahn, A., Merza, M., “Assessment of the First Commercial ELISA Kit for the Diagnosis of *Theileria annulata*”, *J. Parasitol.*

Res., (2015), 2015, 787812.

160. Masih, A., Rafique, A., Siddique, A.B., Nawaz, Z., Ali, S., Aslam, R., Mahmood, M.S., Abbas, R.Z., Mehmood, T., “*Babesia bovis* in large ruminants in Pakistan-molecular detection and haemato-biochemical alterations”, *Acta. Sci. Vet.*, 50, (2022), 1890.

161. Everitt, J.I., Shadduck, J.A., Steinkamp, C., Clabaugh, G., “Experimental *Babesia bovis* infection in Holstein calves”, *Vet. Pathol.*, 23, 5, (1986), 556 – 562.

162. Tuvshintulga, B., Sivakumar, T., Yokoyama, N., Igarashi, I., “Development of unstable resistance to diminazene aceturate in *Babesia bovis*”, *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.*, 9, (2019), 87 – 92.

163. Byaruhanga, C., Oosthuizen, M.C., Collins, N.E, Knobel, D., “Using participatory epidemiology to investigate management options and relative importance of tick-borne diseases amongst transhumant zebu cattle in Karamoja Region, Uganda”, *Prev. Vet. Med.*, 122, 3, (2015), 287 – 297.

164. Yawa, M., Nyangiwe, N., Jaja, I.F., Kadzere, C.T., Marufu, M.C., “Communal cattle farmer’s knowledge, attitudes and practices on ticks (Acari: Ixodidae), tick control and acaricide resistance”, *Trop. Anim. Health. Prod.*, 52, (2020), 3005 – 3013.

165. Abbas RZ, Zaman MA, Colwell DD, Gilleard J, Iqbal Z. Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: The state of play. *Vet Parasitol. Elsevier B.V.*; 2014;203:6–20.

166. Hüe, T., Petermann, J., Hurlin, J.C., Gaia, H., Cauquil, L., “Etat des lieux des résistances de la tique du bétail *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) à la deltaméthrine, l’amitrazé et la moxidectine en Nouvelle-Calédonie : quelles perspectives de lutte ?”, *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 68, 4, (2015), 167 – 174.

167. Hüe, T., “La tique du bétail en Nouvelle-Calédonie : synthèse sur 75 ans de

présence et 60 ans de recherche. Une histoire locale pour un enseignement global”, *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 72, 3, (2019), 123 – 132.

168. Miraballes, C., Aráoz, V., Riet-Correa, F., “*Rhipicephalus microplus*, babesiosis and anaplasmosis in Uruguay: current situation and control or elimination programs on farms”, *Exp. Appl. Acarol.*, 78, (2019), 579 – 593.

169. Ndawula, C.Jr. et Tabor, A.E., “Cocktail anti-tick vaccines: The unforeseen constraints and approaches toward enhanced efficacies”, *Vaccines*, 8, 3, (2020), 457.

170. Willadsen, P., “Anti-tick vaccines”, *Parasitology*, 129, (2004), S367 – S387.

171. Nuttall, P.A., Trimnell, A.R., Kazimirova, M., Labuda, M., “Exposed and concealed antigens as vaccine targets for controlling ticks and tick-borne diseases”, *Parasite Immunol.*, 28, 4, (2006), 155 – 163.

172. de Waal, D.T. et Combrink, M.P., “Live vaccines against bovine babesiosis”, *Vet. Parasitol.*, 138, 1 - 2, (2006), 88 – 96.

173. Florin-Christensen, M., Suarez, C.E., Rodriguez, A.E., Flores, D.A., Schnittger, L., “Vaccines against bovine babesiosis: Where we are now and possible roads ahead”, *Parasitology*, 141, 12, (2014), 1563 – 1592.

174. Bastos, R.G., Laughery, J.M., Ozubek, S., Alzan, H.F., Taus, N.S., Ueti, M.W., Suarez, CE., “Identification of novel immune correlates of protection against acute bovine babesiosis by superinfecting cattle with in vitro culture attenuated and virulent *Babesia bovis* strains”, *Front. Immunol.*, 13, (2022), 1045608.

175. Rauf, U., Suleman, M., Abid, A., Jamil, H., Menghwar, H., Durrani, A.Z., Rashid, M.I, Akbar. H., “Humoral and cell-mediated immune response validation in calves after a live attenuated vaccine of *Babesia bigemina*”, *Pathogens*. 9, 11, (2020), 936.

176. Uilenberg, G., “*Theileria* infections other than East Coast Fever”, In: Ristic, M.,

McIntyre, I. (eds) Diseases of Cattle in the Tropics. Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science, vol. 6. Springer, Dordrecht., (1981), 411 – 427 p.

177. Awad, H., Al-Hamidhi, S., El Hussein, A.M., Yousif, Y.M. Z, Taha, K.M., Salih D.A., Weir, W, Babiker, H.A., “*Theileria lestoquardi* in Sudan is highly diverse and genetically distinct from that in Oman”, *Infect. Genet. Evol.*, 62, (2018), 46 – 52.

178. Rahmani-Varmale, M., Tavassoli, M., Esmaeilnejad, B., “Molecular detection and differentiation of *Theileria lestoquardi*, *T. ovis* and *T. Annulata* in blood of goats and ticks in Kermanshah Province, Iran”, *J. Arthropod Borne Dis.*, 13, 3, (2019), 297 – 309.

179. Bilgic, H.B., Aksulu, A., Bakırcı, S., Unlu, A.H., Kose, O., Hacılarlıoğlu, S., Weir, W., Karagenc, T., “Infection dynamics of *Theileria annulata* over a disease season following cell line vaccination”, *Vet. Parasitol.*, 265, (2019), 63 – 73.

180. Gebrekidan, H., Perera, P.K., Ghafar, A., Abbas T, Gasser, R.B., Jabbar, A., “An appraisal of oriental theileriosis and the *Theileria orientalis* complex, with an emphasis on diagnosis and genetic characterization”, *Parasitol. Res.*, 119, (2020), 11 – 22.

181. Gharbi, M., Darghouth, M.A., Elati, K., AL-Hosary, A.A.T., Ayadi, O., Salih D.A., El Hussein, A.M., Mhadhbi, M., Khamassi Khbou. M., Hassan, S.M., Obara, I., Ahmed, L.S., Ahmed, J., “Current status of tropical theileriosis in Northern Africa: A review of recent epidemiological investigations and implications for control”. *Transbound. Emerg. Dis.*, 67, S1, (2020), 8 - 25.

182. Taha, K.M. et Elhussein, A.M., “Experimental transmission of *Theileria lestoquardi* by developmental stages of *Hyalomma anatolicum* ticks”, *Parasitol. Res.*, 107, (2010), 1009 – 1012.

183. Neitz, W., “Theileriosis, gonderioses and cytauxzoonoses: A review”, *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 27,3, (1957), 275 – 326.

184. Gill, B.S., Bhattacharyulu, Y., Kaur, D., “Symptoms and pathology of experimental bovine tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection)”, *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 52, 6, (1977), 597 – 608.
185. Gharbi, M., Rjeibi, M.R., Darghouth, M.A., “Epidémiologie de la theilériose tropicale bovine (infection par *Theileria annulata*) en Tunisie : une synthèse”, *Rev Elev Méd Vét Pays Trop*, 67, 4, (2014), 241 – 247.
186. Morrison, W.I., “The aetiology, pathogenesis and control of theileriosis in domestic animals”, *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 34, 2, (2015), 599 – 611.
187. Ali, A.M., Salih, D.A., Njahira, M.N., Hassan, S.K., EL Hussein, A.M., Liu, Z., Yin, H., Pelle, R., Skilton, R.A., “Genotyping of *Theileria lestoquardi* from sheep and goats in Sudan to support control of malignant ovine theileriosis”, *Vet. Parasitol.*, 239, (2017), 7 – 14.
188. Soosaraei, M., Haghi, M.M., Etemadifar, F., Fakhar, M., Teshnizi, S.H., Hezarjaribi, H.Z., Asfaram, S., “Status of theileriosis among herbivores in Iran: A systematic review and meta-analysis”, *Vet. World*, 11, 3, (2018), 332 – 341.
189. Jia, L., Zhao, S., Xie, S., Li, H., Wang, H., Zhang, S., “Molecular prevalence of *Theileria* infections in cattle in Yanbian, north-eastern China”, *Parasite*, 27, (2020), 19.
190. Zeb, J., Shams, S., Din, I.U., Ayaz, S., Khan, A., Nasreen, N., Khan H, Khan, M.A, Senbill, H., “Molecular epidemiology and associated risk factors of *Anaplasma marginale* and *Theileria annulata* in cattle from North-western Pakistan”, *Vet. Parasitol.*, 279, (2020), 109044.
191. Mohammad Al-Saeed, A.T., Omer, L.T., Abdo, J., Habibi, G., Salih, D.A., Seitzer, U., Ahmed, J., “Epidemiological studies on tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection of cattle) in Kurdistan Region, Iraq”, *Parasitol. Res.*, 106, (2010), 403 – 407.

192. Sivakumar, T., Hayashida, K., Sugimoto, C., Yokoyama, N., “Evolution and genetic diversity of *Theileria*”, *Infect. Genet. Evol.*, 27, (2014), 250 – 263.
193. Abdullah, D.A., Ali, M.S., Omer, S.G., Ola-Fadunsin, S.D., Ali, F.F., Gimba, F.I., “Prevalence and climatic influence on hemoparasites of cattle and sheep in Mosul, Iraq”, *J. Adv. Vet. Anim. Res.*, 6, 4, (2019), 492 – 498.
194. Mortelmans, J et Kageruka, P., “L’histoire de 80 années d’observations et de recherches sur la theilériose au Zaire, Rwanda et Burundi”, *Ann.soc.belge Méd.trop.*, (1986), 66, 199 – 212.
195. Sergent, E.D., Donatien, A., Parrot, L., Lestoquard, F., “ Études sur les piroplasmoses bovines”, ED. L’Institut Pasteur Algérie, (1945), 816 p.
196. Kamau, J., De Vos, A.J., Playford, M., Salim, B, Kinyanjui, P., Sugimoto, C., “Emergence of new types of *Theileria orientalis* in Australian cattle and possible cause of theileriosis outbreaks”, *Parasit. Vectors.*, 4, (2011), 22.
197. Littlewood, W., “Annual report for 1914”, Ministry of Agriculture Egypt, *Vet. Ser.*, 39, (1915), 5.
198. El Imam, A.H. et Taha, K.M., “Malignant ovine theileriosis (*Theileria lestoquardi*): A review”, *Jordan. J. Biol. Sci.*, 8, 3, (2015), 165 – 174.
199. Uilenberg, G. et Andreasen, M.P., “*Haematoxenus separatus* sp. n. (*Sporozoa, Theileriidae*), a new blood parasite of domestic sheep in Tanzania”, *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 27, 4, (1974), 459 – 465.
200. Bakheit, M. et Latif, A.A., “The innate resistance of Kenana cattle to tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection) in the Sudan”, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 969, 1, (2002), 159 – 63.
201. Gharbi, M., Touay, A., Khayeche, M., Laarif, J., Jedidi, M., Sassi, L., Darghouth, M.A., “Ranking control options for tropical theileriosis in at-risk dairy

cattle in Tunisia, using benefit-cost analysis”, *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 30, 3, (2011), 763 – 778.

202. Gharbi, M., Mhadhbi, M., Darghouth, M.A., “Diagnostic de la theileriose tropicale du bœuf (infection par *Theileria annulata*) en Afrique du Nord”, *Revue Méd. Vét*, 163, 12, (2012), 563 – 571.

203. Gharbi, M., Rekik, B., Mabrouk, M., Hassni, M., Zroud, W., Mhadhbi, M., Sassi, L., Jedidi, M., Darghouth, M.A., “Impact of the carrier state by *Theileria annulata* on milk yield in Tunisian crossbred (*Bos taurus*) cattle”, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 5, 11, (2015), 884 – 887.

204. Ayadi, O., Gharbi M, Benchikh Elfegoun, M.C., “Milk losses due to bovine tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection) in Algeria”, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 6, 9, (2016), 801 – 802.

205. Rashid, M., Akbar, H., Rashid, I., Saeed, K., Ahmad, L., Ahmad, A.S., Shehzad, W., Islam, S., Farooqi, S., “Economic Significance of Tropical Theileriosis on a Holstein Friesian Dairy Farm in Pakistan”, *J. Parasitol.*, 104, 3, (2018), 310 – 312.

206. Tian, Z., Du, X., Du, J., Gao, S., Yu, R., Hassan, M.A., Liu G, Luo J, Yin, H., “Development of an indirect ELISA based on the recombinant Spm2 protein for detection of tropical theileriosis”, *Acta Trop.*, 182, (2018), 232 – 236.

207. Valente, D., Gomes, J., Coelho, A.C., Carolino, I., “Genetic resistance of bovines to theileriosis”, *Animals*, 12, 21, (2022), 2903.

208. Gharbi, M., Sassi, L., Dorchies, P., Darghouth, M.A., “Infection of calves with *Theileria annulata* in Tunisia: Economic analysis and evaluation of the potential benefit of vaccination”, *Vet. Parasitol.*, 137, 3 - 4, (2006), 231 – 241.

209. Razmi, G.R., Hosseini, M., Aslani, M.R., “Identification of tick vectors of ovine theileriosis in an endemic region of Iran”, *Vet. Parasitol.*, 116, 1, (2003), 1 – 6.

210. Ghoneim AM, El-Fayomy AO. "Targeting *Tams-1* gene results in underestimation of *Theileria annulata* infection in diseased cattle in Egypt", *Acta Parasitol.*, 59, 1, (2014), 85 – 90.
211. Al-Fahdi, A., Alqamashoui, B., Al-Hamidhi, S., Kose, O., Tageldin, M.H., Bobade, P., Johnson, E.H., Hussain, A.R., Karagenc, T., Tait, A., Shiels, B., Bilgic, H.B., Babiker, H., "Molecular surveillance of *Theileria* parasites of livestock in Oman", *Ticks Tick Borne Dis.*, 8, 5, (2017), 741 – 748.
212. Hassan, M.A., Liu, J., Sajid, M.S., Rashid, M., Mahmood, A., Abbas, Q., Guan, G., Yin, H., Luo, J., "Simultaneous detection of *Theileria annulata* and *Theileria orientalis* infections using recombinase polymerase amplification", *Ticks Tick Borne Dis.*, 9, 4, (2018), 1002 – 1005.
213. Zarei, F., Ganjali, M., Nabavi, R., "Identification of *Theileria* species in sheep and vector ticks using PCR method in Zabol, Eastern Iran", *J. Arthropod Borne Dis.*, 13, 1, (2019), 76 – 82.
214. Razmi, G., Yaghfoori, S., Mohri, M., Haghparast, A., Tajeri, S., "The haematological, proinflammatory cytokines and IgG changes during an ovine experimental theileriosis", *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 86, 1, (2019), a1629.
215. Morrison, W.I., Hemmink, J.D., Toye, P.G., "*Theileria parva*: a parasite of African buffalo, which has adapted to infect and undergo transmission in cattle", *Int. J. Parasitol.*, 50, 5, (2020), 403 – 412.
216. Ahmed, J.S., Glass, E.J., Salih, D.A., Seitzer, U., "Innate immunity to tropical theileriosis", *Innate Immun.*, 14, 1, (2008), 5 – 12.
217. Schoch CL, et al. NCBI., "Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford)", (2020), baaa062. PubMed: 32761142 PMC:PMC7408187.2020.[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5873&lvl=3&p=has\\_linkout&p=blast\\_url&p=genome\\_blast&link=f&keep=1&srchmode=1&unlock](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5873&lvl=3&p=has_linkout&p=blast_url&p=genome_blast&link=f&keep=1&srchmode=1&unlock).

218. abbar, A., Abbas, T., Sandhu, Z.U.D., Saddiqi, H.A., Qamar, M.F., Gasser, R.B., “Tick-borne diseases of bovines in Pakistan: Major scope for future research and improved control”, *Parasit. Vectors.*, 8, (2015), 283.
219. Gubbels, M.J., Yin, H., Bai, Q., Liu, G., Nijman, I.J., Jongejan, F., “The phylogenetic position of the *Theileria buffeli* group in relation to other *Theileria* species”, *Parasitol. Res.*, 88, (2002), S28 – S32.
220. Watts, J.G., Playford, M.C., Hickey, K.L., “*Theileria orientalis*: a review”, *N. Z. Vet. J.*, 64, 1, (2016), 3 – 9.
221. Kalume, M.K., Losson, B., Saegerman, C., “Epidémiologie et contrôle de la theilèriose bovine à *Theileria parva* en Afrique : une revue de la littérature”, *Ann. Med. Vet.*, 155, (2011), 88 – 103.
222. Santos, M., Soares, R., Costa, P., Amaro, A., Inácio, J., Gomes, J., “Revisiting the Tams1-encoding gene as a species-specific target for the molecular detection of *Theileria annulata* in bovine blood samples”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 4, 1 -2, (2013), 72 – 77.
223. Yin, H., Liu, Z., Guan, G., Liu, A., Ma, M., Ren, Q., Luo, J., “Detection and differentiation of *Theileria luwenshuni* and *T. uilenbergi* infection in small ruminants by PCR”, *Transbound. Emerg. Dis.*, 55, 5 - 6, (2008), 233 – 237.
224. Razmi, G. et Yaghfoori, S., “Molecular surveillance of *Theileria ovis*, *Theileria lestoquardi* and *Theileria annulata* infection in sheep and ixodid ticks in Iran”, *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 80, 1, (2013), a635.
225. Razmi GR, Eshrati H, Rashtibaf M. Prevalence of *Theileria* spp . infection in sheep in South Khorasan province , Iran. *Vet Parasitol.* 2006;140:239–43.
226. Leemans, I., Brown, D., Hooshmand-rad, P., Kirvar, E., Uggla, A., “Infectivity and cross-immunity studies of *Theileria lestoquardi* and *Theileria annulata* in sheep and cattle: I. In vivo responses”, *Vet. Parasitol.*, 82, 3, (1999), 179 – 192.

227. Zaeemi M, Haddadzadeh H, Khazraiiinia P, Kazemi B, Bandehpour M. Identification of different *Theileria* species (*Theileria lestoquardi*, *Theileria ovis*, and *Theileria annulata*) in naturally infected sheep using nested PCR-RFLP. *Parasitol Res.* 2011;108:837–43.
228. Taha, K.M., Mohammad, A.A., Ebrahim, N.M., El Hag, L.M., Elsheikh, F.M., Hussien, M.O., Mohammed, S.B., “Cross-infectivity of *Theileria annulata* and *Theileria lestoquardi* between cattle and sheep in the field in Sudan”, *Vet. Res. Notes.*, 2, 5, (2022), 43 – 47.
229. Chisu, V., Loi, F., Mura, L., Tanda, A., Chessa, G., Masala, G., “Molecular detection of *Theileria sergentii* / *orientalis* / *buffeli* and *Ehrlichia canis* from aborted ovine and caprine products in Sardinia, Italy”, *Vet. Med. Sci.*, 7, 5, (2021), 1762 – 1768.
230. Ahmed, J.S., Luo, J., Schnittger, L., Seitzer, U., Jongejan, F., Yin, H., “Phylogenetic position of small-ruminant infecting piroplasms”, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1081, 1, (2006), 498 – 504.
231. Bakheit, M.A., Seitzer, U., Ahmed, J.S., “A new recombinant protein-based ELISA for the diagnosis of malignant theileriosis of sheep and goats”, *Parasitol. Res.*, 98, (2006), 145 – 149.
232. Salih, D.A., Ali, A.M., Liu Z, Bakheit, M.A., Taha, K.M., El Imam, A.H., Kullmann, B., El Hussein, A.M., Ahmed, J.S., Seitzer, U., “Development of a loop-mediated isothermal amplification method for detection of *Theileria lestoquardi*”, *Parasitol. Res.*, 110, (2012), 533 – 538.
233. Goh, S., Ngugi, D., Lizundia, R., Hostettler, I., Woods, K., Ballingall, K., MacHugh, N.D., Morrison, W.I., Weir, W., Shiels, B., Werling, D., “Identification of *Theileria lestoquardi* antigens recognized by CD8+ T Cells”, *PLoS One*, 11, 9, (2016), e0162571.
234. Shayan, P., Jafari, S., Fattahi, R., Ebrahimzade, E., Amininia, N., Changizi, E.,

“Identification and characterization of *Theileria ovis* surface protein (ToSp) resembled TaSp in *Theileria annulata*”, *Parasitol. Res.*, 115, (2016), 1893 – 1899.

235. Magzoub, A., El Ghali, A., Hussien, M.O., Juma, Y., Mohammed, S.B., “Prevalence of ticks (Acari: Ixodidae) and *Theileria lestoquardi* in sheep at El Huda and El Nuhud animals production research stations, Sudan”, *J. Parasit. Dis.*, 45, (2021), 146 – 152.

236. Heidarpour Bami, M., Haddadzadeh, H.R., Kazemi, B., Khazrainia, P., Bandehpour, M., Aktas, M., “Molecular identification of ovine *Theileria* species by a new PCR-RFLP method”, *Vet. Parasitol.*, 161, 3 - 4, (2009), 171 – 177.

237. Bilgic, H.B., Karagenc, T., Shiels, B., Tait, A, Eren, H., Weir, W., “Evaluation of cytochrome b as a sensitive target for PCR based detection of *T. annulata* carrier animals”, *Vet. Parasitol.*, 174, 3 - 4, (2010), 341 – 347.

238. M'ghirbi, Y., Ros-García, A., Iribar, P., Rhaim, A., Hurtado, A., Bouattour, A., “A molecular study of tick-borne haemoprotozoan parasites (*Theileria* and *Babesia*) in small ruminants in Northern Tunisia”, *Vet. Parasitol.*, 198, 1 - 2, (2013), 72 – 77.

239. Agina, O.A., Shaari, M.R., Isa., N.M.M., Ajat, M., Zamri-Saad, M., Hamzah, H., “Clinical pathology, immunopathology and advanced vaccine technology in bovine theileriosis: A review”, *Pathogens*, 9, 9, (2020), 697.

240. Mackiewicz, M., Seitzer, U., Ahmed, J.S., Reiling, N., “*Theileria annulata* surface protein (TaSP) is a target of cyclin-dependent kinase 1 phosphorylation in *Theileria annulata*-infected cells”, *Transbound. Emerg. Dis.*, 67, S1, (2020), 40 – 55.

241. Selim, A.M., Das, M., Senapati, S.K., Jena, G.R., Mishra, C., Nath, I., Senapati, S., Sethi, M., “Molecular detection of *Theileria annulata* infection in cattle by conventional PCR and quantitative real time PCR in India”, *J. Parasit. Dis.*, 45, (2021), 72 – 77.

242. Flach, E.J. et Ouhelli, H., “The epidemiology of tropical theileriosis (*Theileria*

*annulata* infection in cattle) in an endemic area of Morocco”, *Vet. Parasitol.*, 44, 1 - 2, (1992), 51– 65.

243. Gomes, J., Salgueiro, P., Inácio, J., Amaro, A., Pinto, J., Tait, A., Shiels, B., Pereira da Fonseca, I., Santos-Gomes, G., Weir, W., “Population diversity of *Theileria annulata* in Portugal”, *Infect. Genet. Evol.*, 42, (2016), 14 – 29.

244. Salim, B., Chatanga, E., Jannot, G., Mossaad, E., Nakao, R., Weitzman, J.B., “Mutations in the *TaPIN1* peptidyl prolyl isomerase gene in *Theileria annulata* parasites isolated in Sudan”, *Int. J. Parasitol Drugs Drug Resist.*, 11, (2019), 101 – 105.

245. Gharbi, M., Souidi, K., Boussaadoun, M.A., Rejeb, A., Jabloun, S., Gnaoui, A., Darghouth, M.A., “Dermatological signs in bovine tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection), a review”, *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 36, 3, (2017), 807 – 816.

246. Moni, M.I.Z., Hayashi, K., Sivakumar, T., Rahman, M., Nahar, L., Islam, M.Z., Yokoyama, N., Kitoh, K., Appiah-Kwarteng, C., Takashima, Y., “First Molecular detection of *Theileria annulata* in Bangladesh”, *J. Vet. Med. Sci.*, 81, 8, (2019), 1197 – 1200.

247. Parveen, A., Ashraf, S., Aktas, M., Ozubek, S., Iqbal, F., “Molecular epidemiology of *Theileria annulata* infection of cattle in Layyah District, Pakistan”, *Exp. Appl. Acarol.*, 83, (2021), 461 – 473.

248. Ashraf, S., Parveen, A., Muhammad Awais, M., Gillani, Q., Aktas, M., Ozubek, S., Iqbal, F., “A report on molecular detection and phylogenetic evaluation of *Anaplasma marginale* in ticks and blood samples collected from cattle in district Layyah in Punjab (Pakistan)”, *Curr. Microbiol.*, 78, (2021), 274 – 281.

249. Jacquiet, P., Dia, M.L., Perié, N.M., Jongejan, F., Uilenberg, G., More, P.C., “Présence de *Theileria annulata* en Mauritanie”, *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 43, 4, (1991), 489 – 490.

250. El Hussein, A.M., Hassan, S.M., Salih, D.A., “Current situation of tropical theileriosis in the Sudan”, *Parasitol. Res.*, 111, (2012), 503 – 508.
251. Salih, D.A., Ali, A.M, Njahira, M., Taha, K.M., Mohammed, M.S., Mwacharo, J.M., Mbole-Kariuki, N., El Hussein, A.M., Bishop, R., Skilton, R., “Population genetic analysis and sub-structuring of *Theileria annulata* in Sudan”, *Front. Genet.*, 12, (2021), 742808.
252. Sallemi, S., Rjeibi, M.R., Rouatbi, M., Amairia, S., Ben Said, M., Khamassi Khbou M, Gharbi, M., “Molecular prevalence and phylogenetic analysis of *Theileria annulata* and *Trypanosoma evansi* in cattle in Northern Tunisia”, *Vet. Med. Sci.*, 4, 1, (2017), 17 – 25.
253. Abbasnia, T., Asoodeh, A., Habibi, G., Haghparast, A., “Isolation and purification of glycosylphosphatidylinositols (GPIs) in the schizont stage of *Theileria annulata* and determination of antibody response to GPI anchors in vaccinated and infected animals”, *Parasit. Vectors.*, 11, (2018), 82.
254. Chaouch, M., Mhadhbi, M., Limam, S., Darghouth, M.A., Benabderrazak, S., “Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Theileria annulata* targeting the cytochrome B gene”, *Iran. J. Parasitol.*, 13, 2, (2018), 225 – 234.
255. El Damaty, H.M., Yousef, S.G., El-balkemy, F.A., Nekouei, O., Mahmmod, Y.S., Elsohaby, I., “Seroprevalence and risk factors of tropical theileriosis in smallholder asymptomatic large ruminants in Egypt”, *Front. Vet. Sci.*, 9, (2022), 1004378.
256. Madkour, B.S., Karmi, M, Youssef, M.A., Abdelraouf, A., Abdel-Rady, A., “Epidemiological and diagnostic investigation on bovine theileriosis in Aswan Governorate, Egypt”, *J. Parasit. Dis.*, 47, (2022), 124 – 130.
257. Dib, L., Bitam, I., Tahri, M., Bensouilah, M., De Meeûs T., “Competitive exclusion between piroplasmosis and anaplasmosis agents within cattle”, *PLoS*

Pathog., 4, 1, (2008), e7.

258. Ayadi, O., Rjeibi, M.R., Benchikh Elfegoun, M.C., Gharbi, M., "Prevalence and risk factors of tropical theileriosis, and sequencing of *Theileria annulata*, the causative pathogen, in Setif region (Algeria) before and after tick season", *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 69, 4, (2016), 161 – 166.

259. Ayadi, O., Gharbi, M., Benchikh-Elfegoun, M.C., "Haematological and biochemical indicators of tropical theileriosis diseased cattle in wilaya of Sétif (North East Algeria)", *J. Parasit. Dis.*, 41, (2017), 538 – 542.

260. Ziam, H., Saidani, K., Aissi, M., "Prevalence of bovine piroplasmosis and anaplasmosis in north- central Algeria", *Sci. Parasitol.*, 18, 1 - 2, (2017), 7 – 15.

261. Bouattour, A., Darghouth, M.A., Ben Miled, L., "Cattle infestation by *Hyalomma* ticks and prevalence of *Theileria* in *H. detritum* species in Tunisia", *Vet. Parasitol.*, 65, 3 - 4, (1996), 233 – 245.

262. Darghouth, M.A., Bouattour, A., Ben Miled, L., Kilani, M., Brown, C.G., "Epidemiology of tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection of cattle) in an endemic region of Tunisia: Characterisation of endemicity states", *Vet. Parasitol.*, 65, 3 - 4, (1996), 199 – 211.

263. Flach, E.J., Ouhelli, H., Waddington, D., Oudich, M., Spooner, R.L., "Factors influencing the transmission and incidence of tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection of cattle) in Morocco", *Vet. Parasitol.*, 59, 3 - 4, (1995), 177 – 188.

264. El Haj, N., Kachani, M., Bouslikhane, M., Ouhelli, H., Ahami, A.T., Katende, J., Morzaria, S.P., "Séro-épidémiologie de la theilériose à *Theileria annulata* et de la babésiose à *Babesia bigemina* au Maroc", *Revue Méd. Vét.*, 153, 3, (2002), 189 – 196.

265. Bilgic, H.B., Karagenc, T., Bakırcı, S., Shiels, B., Tait, A., Kinnaird, J., Eren, H., Weir, W., "Identification and analysis of immunodominant antigens for ELISA-based

detection of *Theileria annulata*", PLoS One, 11, 6, (2016), e0156645.

266. Gargano, V., Blanda, V., Gambino, D. La Russa, F., Di Cataldo, S., Gentile, A., Schirò, G., Torina, A., Millán, J., Vicari, D., "Serological survey and molecular characterization of *Theileria annulata* in sicilian cattle", Pathogens, 10, 2, (2021), 101.

267. Yin, H., Luo, J., Lu, W., "Control of tropical theileriosis with attenuated schizont vaccine in China", Vaccine, 26, S6 (2008), G11 – G13.

268. Kundave, V.R., Ram, H., Shahzad, M., Garg, R., Banerjee, P.S., Nehra, A.K., Rafiqi, S.I., Ravikumar, G., Tiwari, AK., "Genetic characterization of *Theileria* species infecting bovines in India", Infect. Genet. Evol., 75, (2019), 103962.

269. Sahoo, S., Sahoo, N., Biswal, S., Mohanty, B., Behera, B., Pahari, A., Bhuyan, K., "Determining *Theileria annulata* parasitemia through qPCR in lactating cows of Odisha, – a theileriosis-endemic region of India", Anim. Biotechnol., (2020), 487 - 492.

270. Roy, S., Bhandari, V., Barman, M., Kumar, P., Bhanot, V., Arora, J.S., Singh, S., Sharma, P., "Population genetic analysis of the *Theileria annulata* parasites identified limited diversity and multiplicity of infection in the vaccine from India", Front. Microbiol., 11, (2021), 579929.

271. Kaur, R., Yadav, A., Rafiki, S.I., Godara, R., Sudan, V., Chakraborty, D., Katoch, R., "Epidemiology, haematology and molecular characterization of haemoprotozoan and rickettsial organisms causing infections in cattle of Jammu region, North India", BMC Vet. Res., 17, (2021), 219.

272. Parveen, A., Alkhaibari, A.M, Asif, M, Almohammed, H.I, Naqvi, Z., Khan, A., Aktas, M., Ozubek, S., Farooq, M., Iqbal, F., "Molecular epidemiology of *Theileria annulata* in cattle from two districts in Punjab (Pakistan)", Animals, 11, (2021), 3443.

273. Ullah, R., Shams, S., Khan, M.A., Ayaz, S., Akbar, N.U., Din, Q.U., Khan, A.,

- Leon, R., Zeb, J., “Epidemiology and molecular characterization of *Theileria annulata* in cattle from central Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan”, PLoS One, 16, 9, (2021), e0249417.
274. Al-hamidhi, S., Parveen, A., Iqbal, F., Asif, M., Akhtar, N., Elshafie, E.I., Beja-Pereira, A., Babiker, H.A., “Diversity and genetic structure of *Theileria annulata* in Pakistan and other endemic sites”, Pathogens, (2022), 11,334.
275. Salih, D.A., ElHusseini, A.M., Hayat, M., Taha, K.M., “Survey of *Theileria lestoquardi* antibodies among Sudanese sheep”, Vet. Parasitol., 111, (2003), 361–367.
276. El Imam, A.H., Hassan, S.M., Gameel, A.A., El Hussein, A.M., Taha, K.M., “The pulmonary involvement in *Theileria lestoquardi* naturally infected sheep”, Ann. Parasitol., 62, 1, (2016), 39 – 45.
277. Rjeibi, M.R., Darghouth, M.A., Rekik, M., Amor, B., Sassi, L., Gharbi, M., “First molecular identification and genetic characterization of *Theileria lestoquardi* in sheep of the Maghreb Region”, Transbound. Emerg. Dis., 63, 3, (2014), 278 – 284.
278. Hassan, S., Skilton, R.A., Pelle, R., Odongo, D., Bishop, R.P., Ahmed, J., Seitzer, U., Bakheit, M., Hassan, S.M., El Hussein, A.M., “Assessment of the prevalence of *Theileria lestoquardi* in sheep from the Sudan using serological and molecular methods”, Prev. Vet. Med., 169, (2019), 104697.
279. Dolan, T., “La theilériose : rapport de synthèse”, Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 8, 1, (1989), 37 – 57.
280. D’Oliveira, C., Van Der Weide, M., Jacquiet, P., Jongejan, F., “Detection of *Theileria annulata* by the PCR in ticks (Acari: Ixodidae) collected from cattle in Mauritania”, Exp. Appl. Acarol., 21, (1997), 279 – 291.
281. Brown, C.G., Ilhan, Kirvar, E., T., Thomas, E., Wilkie, G., Leemans, I.,

Hooshmand-rad, P., “*Theileria lestoquardi* and *T.annulata* in cattle, sheep and goats. In Vitro and in Vivo Studies”, Ann. N. Y. Acad. Sci., 849, 1, (1998), 44 – 51.

282. Sayin, F., Karaer, Z., Dincer, S., Cakmak, A., Inci, A., Yukari, B.A., Eren, H., Vatansever, Z., Nalbantoglu, S., Melrose, T.R., “A comparison of susceptibilities to infection of four species of *Hyalomma* ticks with *Theileria annulata*”, Vet. Parasitol., 113, 2, (2003), 115 – 121.

283. Gharbi, M., Omri, H., Jedidi, M., Zorii S, Darghouth, M.A., “Epidemiological study of sheep anaplasmosis (*Anaplasma ovis* infection) in Kairouan, Central Tunisia”, J. Adv. Parasitol., 2, 2, (2015), 30 – 33.

284. Afshari, A., Habibi, G., Abdigoudarzi, M., Yazdani, F., “Establishment and validation of *Theileria annulata* sporozoite ak-93 infection in laboratory-reared *Hyalomma anatolicum* tick using in vivo and in vitro assays”, J. Arthropod Borne Dis., 14, 3, (2020), 261 – 269.

285. Ouhelli, H. et Pandey, V., “Prevalence of cattle ticks in Morocco”, Trop. Anim. Health. Prod., 14, (1982), 151 – 154.

286. Yousfi-Monod, R. et Aeschlimann, A., “Recherches sur les tiques (Acarina, ixodidae), parasites de bovidés dans l’ouest Algérien I — Inventaire systématique et dynamique saisonnière”, Ann. Parasitol. Hum. Comp., 61, 3, (1986), 341 – 358.

287. Lotfi, D. et Karima, K., “Identification and incidence of hard tick species during summer season 2019 in Jijel Province (northeastern Algeria)”, J. Parasit. Dis., 45, (2021), 211 – 217.

288. Viseras, J., Hueli, L.E., Adroher, F.J., García-Fernández, P., “Studies on the transmission of *Theileria annulata* to cattle by the tick *Hyalomma lusitanicum*”, J. Vet. Med., B46, 8, (1999), 505 – 509.

289. Marendy, D., Baker, K., Emery, D., Rolls, P., Stutchbury, R., “*Haemaphysalis longicornis*: the life-cycle on dogs and cattle, with confirmation of its vector status

for *Theileria orientalis* in Australia”, *Vet. Parasitol.*, 277, S, (2020), 100022.

290. Thompson, A.T., White, S., Shaw, D., Egizi, A., Lahmers, K., Ruder, M.G., Yabsley, M.J., “*Theileria orientalis* Ikeda in host-seeking *Haemaphysalis longicornis* in Virginia, U.S.A”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 11, 5, (2020), 101450.

291. Li, Y., Guan, G., Liu, A, Peng, Y., Luo, J., Yin H. “Experimental transmission of *Theileria ovis* by *Hyalomma anatolicum anatolicum*”, *Parasitol. Res.*, 106, (2010), 991 – 994.

292. Hooshmand-rad P. et Hawa, N.J., “Transmission of *Theileria Hirchi* in sheep by *Hyalomma anatolicum anatolicum*”, *Trop. Anim. Health. Prod.*, 5, (1973), 103 – 109.

293. El Imam, A.H., Hassan, S.M., Gameel, A.A., El Hussein, A.M., Taha, K.M., Salih, D.A., “Variation in susceptibility of three Sudanese sheep ecotypes to natural infection with *Theileria lestoquardi*”, *Small Rumin. Res.*, (2015), 124, 105 – 111.

294. Al-Hamidhi, S., Weir, W., Kinnaird, J., Tagededin, M., Beja-Pereira, A., Morrison, I., Thompson, J., Tait, A., Shiels, B., Babiker, H.A., “*Theileria lestoquardi* displays reduced genetic diversity relative to sympatric *Theileria annulata* in Oman”, *Infect. Genet. Evol.*, 43, (2016), 297 – 306.

295. Dschunkovsky, E. et Urodshevich, V., “Theileriasis in goats, sheep and cattle, with a description of *Theileria hirci* n.sp. from Serbia”, *Parasitology*, 16, 1, (1924), 107 – 110.

296. El-Azazy, O.M.E., El-Metenawy, T.M., Wassef, H.Y., “*Hyalomma impeltatum* (Acari: Ixodidae) as a potential vector of malignant theileriosis in sheep in Saudi Arabia”, *Vet. Parasitol.*, 99, 4, (2001), 305 – 309.

297. Alessandra, T. et Santo, C., “Tick-borne diseases in sheep and goats: Clinical and diagnostic aspects”, *Small Rumin. Res.*, 106, (2012), S6 – S11.

298. Razmi, G., Pourhosseini, M., Yaghfour, S., Rashidi, A., Seidabadi, M., "Molecular detection of *Theileria* spp. and *Babesia* spp. in sheep and ixodid ticks from the northeast of Iran", *J. Parasitol.*, (2013), 99, 77 – 81.
299. Uilenberg, G., "International collaborative research: significance of tick-borne hemoparasitic diseases to world animal health", *Vet. Parasitol.*, 57, 1 - 3, (1995), 19 – 41.
300. Naz, S., Maqbool, A., Ahmed, S., Ashraf, K., Ahmed, N., Saeed, K., Latif M., Iqbal J., Ali Z., Shafi K., Nagra I.A., "Prevalence of Theileriosis in Small Ruminants in Lahore-Pakistan", *J. Vet. Anim. Sci.*, (2012), 2, 16 – 20.
301. Dobbelaere, D.A.E. et Küenzi, P., "The strategies of the *Theileria* parasite: a new twist in host-pathogen interactions", *Curr. Opin. Immunol.*, 16, 4, (2004), 524 – 530.
302. Woods, K., Perry, C., Brühlmann, F., Olias P., "*Theileria's* strategies and effector mechanisms for host cell transformation: From invasion to immortalization", *Front. Cell Dev. Biol*, 9, (2021), 662805.
303. Forsyth, L.M.G., Minns, F.C., Kirvar, E., Adamson, R.E., Hall, F.R., McOrist S, Brown, C.G.D., Preston, P.M., "Tissue damage in cattle infected with *Theileria annulata* accompanied by metastasis of cytokine-producing, schizont-infected mononuclear phagocytes", *J. Comp. Pathol.*, 120, 1, (1999), 39 – 57.
304. d'Oliveira, C., van der Weide, M., Habela, M.A., Jacquiet, P., Jongejan, F., "Detection of *Theileria annulata* in blood samples of carrier cattle by PCR", *J. Clin. Microbiol.*, 33, 10, (1995), 2665 – 2669.
305. Preston, P.M., Hall, F.R., Glass, E.J., Campbell, J.D.M, Darghouth, M.A., Ahmed, J.S., Shiels, B.R., Spooner, R.L., Jongejan, F., Brown, C.G.D., "Innate and adaptive immune responses co-operate to protect cattle against *Theileria annulata*", *Parasitol Today*, 15, 7, (1999), 268 – 274.

306. Ma, Q., Liu, J., Li, Z., Xiang, Q., Wang, J., Liu, A., Li, Y., Yin, H., Guan, G., Luo, J., “Clinical and pathological studies on cattle experimentally infected with *Theileria annulata* in china”, *Pathogens*, 9, 9, (2020), 727.
307. Keleş, I., Alptekin, I., Atasoy, N., Çınar, A., Dönmez, N., Ceylan, E. “Pseudopericarditis in a cow caused by theileriosis - A case report”, *Vet. arhiv*, 73, 2, (2003), 111 – 117.
308. Tageldin, M.H, Al-Kitany Fadiya, A., Al-Yahyae Sabra, A., Al-I Ismaily, S.I., “Theileriosis in sheep and goats in the Sultanate of Oman”, *Trop. Anim. Health. Prod.*, 37, (2005), 491 – 493.
309. Rejeb, A., Gharbi, M., Amara, A., Ben Mrad, M., Darthouth, M.A., “Étude nécropsique de la theilériose tropicale chez les veaux infectés expérimentalement par une souche parasitaire tunisienne de *Theileria annulata*”, Poster présenté au congrès vétérinaire Maghrébin, (4 et 5 mai 2004), Alger, Algérie.
310. El Imam, A.H., Gameel, A.A., Hassan, S.M., El Hussein, A.M., Taha, K.M., “Macroscopic and microscopic findings in *Theileria lestoquardi* naturally infecting Sudanese sheep”, *Jordan. J. Biol. Sci.*, 9, 1, (2016), 29 – 33.
311. Eliwa, M., Mahran, K.M.A, Mousa, W.A, Hagag, N., Shaalan, M.I, Bashandy, M.M., “Ovine theileriosis: Clinical, pathological and molecular investigations”, *Adv. Anim. Vet. Sci.*, 9, 4, (2021), 462 – 472.
312. Hooshmand-rad, P. et Hawa, N.J., “Malignant theileriosis of sheep and goats”, *Trop. Anim. Health. Prod.*, 5, (1973), 97 – 102.
313. Altay, K., Dumanli, N., Holman, P.J., Aktas, M., “Detection of *Theileria ovis* in naturally infected sheep by nested PCR”, *Vet. Parasitol.*, 127, 2, (2005), 99 – 104.
314. Boulter, N., Brown, D., Wilkie, G., Williamson, S., Kirvar E, Knight, P., Glass, E., Campbell, J., Morzaria, S., Nene, V., Musoke, A., d'Oliveira, C., Gubbels, M.J., Jongejan, F., Hall, R., “Evaluation of recombinant sporozoite antigen SPAG-I as a

vaccine candidate against *Theileria annulata* by the use of different delivery systems”, Trop. Med. Int. Heal., 4, 9, (1999), A71-A77.

315. Wang, J., Yang, X., Wang, Y., Jing Z, Meng K, Liu J, Guo, H., Xu, R., Cheng, Z., “Genetic diversity and phylogenetic analysis of *Tams1* of *Theileria annulata* isolates from three continents between 2000 and 2012”, Cent. Eur. J. Immunol, 39, 4, (2014), 476 – 484.

316. Abaker, I.A., Salih, D.A., El Haj, L.M., Ahmed, R.E., Osman, M.M., Ali, A.M., “Prevalence of *Theileria annulata* in dairy cattle in Nyala, South Darfur State, Sudan”, Vet. World, 10, 12, (2017), 1475 – 1480.

317. El Haj, N., Kachani, M., Katzer, F., Bouslikhane, M., El Guennouni, R., Ouhelli, H., Shiels, B.R., “Développement d’un test ELISA à base d’un antigène recombinant pour l’étude séro-épidémiologique de la theilériose tropicale au Maroc”, Revue Méd. Vét, 152, 7, (2001), 561– 566.

318. Jacquiet, P., Colas, F., Cheikh D, Thiam, E., Ly, B.A., “Épidémiologie descriptive de la theilériose bovine à *Theileria annulata* en Mauritanie, l’Afrique de l’Ouest sub-saharienne”, Revue Élev. Méd. vét. Pays trop., (1994), 47, 2, 147 – 155.

319. Leemans, I., Hooshmand-Rad, P., Uggla, A., “The indirect fluorescent antibody test based on schizont antigen for study of the sheep parasite *Theileria lestoquard*”, Vet. Parasitol., 69, 1 - 2, (1997), 9 – 18.

320. Khatoon, S., Kolte, S.W., Kurkure, N. V., Chopde, N.A., Jahan, A., “Detection of tropical bovine theileriosis by polymerase chain reaction in cattle”, J. Parasit. Dis., 39, (2015), 53 – 56.

321. Hashemi-Fesharki, R., “Chemotherapeutic value of parvaquone and buparvaquone against *Theileria annulata* infection of cattle”, Res. Vet. Sci., 50, 2, (1991), 204 – 207.

322. Chatanga, E., Mossad, E., Abdo Abubaker, H., Amin Alhour S, Katakura, K.,

- Nakao, R., Salim, B., “Evidence of multiple point mutations in *Theileria annulata* cytochrome b gene incriminated in buparvaquone treatment failure”, *Acta Trop.*, 191, (2019), 128 – 132.
323. Mhadhbi, M., Chaouch, M., Ajroud, K., Darghouth, M.A., BenAbderrazak S. “Sequence polymorphism of cytochrome b gene in *Theileria annulata* Tunisian isolates and its association with buparvaquone treatment failure”, *PLoS One*, 10, 6, (2015), e0129678.
324. Hines, S.A., Brandvold, J., Mealey, R.H., Call, D.R., Graça, T. “Exposure to ambient air causes degradation and decreased in vitro potency of buparvaquone and parvaquone”, *Vet. Parasitol.*, (2020), 277, 100023.
325. McHardy, N., Wekesa, L.S., Hudson, A.T., Randall, A.W., “Antitheilerial activity of BW720C (buparvaquone): a comparison with parvaquone”, *Res. Vet. Sci.*, 39, 1, (1985), 29 – 33.
326. Mhadhbi, M., Naouach, A., Boumiza, A., Chaabani, M.F., BenAbderazzak, S., Darghouth, M.A., “In vivo evidence for the resistance of *Theileria annulata* to buparvaquone”, *Vet. Parasitol.*, 169, 3 - 4, (2010), 241 – 247.
327. Sharifiyazdi, H., Namazi, F., Oryan, A., Shahriari, R, Razavi M. “Point mutations in the *Theileria annulata* cytochrome b gene is associated with buparvaquone treatment failure”, *Vet. Parasitol.*, 187, 3 - 4, (2012), 431 – 435.
328. Bansal, G.C. et Sharma, S.P., “Efficacy of parvaquone and long-acting oxytetracycline in *Theileria annulata* infection”, *Vet. Parasitol.*, 21, 3, (1986), 145 – 149.
329. Benchikh Elfegoun, M.C., Kohil, K., Gharbi, M., Afoutni, L., Benachour, M.L., “Cinétique d’infestation par les tiques des bovins de la région subhumide de Constantine en Algérie”, *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 72, 1, (2019), 41 – 45.
330. McAllister, M.M., “Successful vaccines for naturally occurring protozoal

diseases of animals should guide human vaccine research. A review of protozoal vaccines and their designs”, *Parasitology*, 141, 5, (2014), 624 – 640.

331. Aysul, N., Karagenc, T., Eren, H., Aypak, S., Bakirci, S., “Aydın İli Sığırlarında Tropikal Theileriosisin Yaygınlığı ve *Theileria annulata* Şizont Aşısının Sahada Etkinliğinin Değerlendirilmesi”, *Türkiye Parazitol Derg.*, 32, 4, (2008), 322 – 327.

332. Hall, R., Ilhan, T., Kirvar, E., Wilkie, G., Preston, P.M., Darghouth, M.A., Somerville, R., Adamson, R., “Mechanism(s) of attenuation of *Theileria annulata* vaccine cell lines”, *Trop. Med. Int. Health.*, 4, 9, (1999), 78 – 84.

333. Echebli, N., Mhadhbi, M., Chaussepied, M., Vayssettes, C., Di Santo, J.P., Darghouth, M.A., Langsley, G., “Engineering Attenuated Virulence of a *Theileria annulata* – Infected Macrophage”, *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 8, 11, (2014), e3183.

334. Nene, V. et Morrison, W.I., “Approaches to vaccination against *Theileria parva* and *Theileria annulata*”, *Parasite Immunol.*, 38, 12, (2016), 724 – 734.

335. Hu, K., He, X., Yu, F., Yuan, X., Hu, W., Liu, C., Zhao, F., Dou, J., “Immunization with DNA vaccine expressing *Herpes simplex* virus type 1 gD and IL-21 protects against mouse *Herpes keratitis*”, *Immunol. Invest.*, 40, 3, (2011), 265 – 278.

336. Kundave, V.R., Patel, A.K., Patel, P.V., Hasnani, J.J., Joshi, C.G., “Detection of theileriosis in cattle and buffaloes by polymerase chain reaction”, *J. Parasit. Dis.*, 39, (2015), 508 – 13.

337. Zobba, R., Chisu, V., Pinna Parpaglia, M.L., Spezzigu, A., Masala, G., Schianchi, E., Alberti, A., “Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Babesia* and *Theileria* spp. in Sardinian ruminants”, *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.*, (2020), 22, 100453.

338. Kose, O., Bilgic, H.B., Bakirci, S., Karagenc, T., Adanir, R., Yukari, B.A., Eren, H., “Prevalence of *Theileria/Babesia* species in ruminants in Burdur Province of

Turkey”, *Acta Parasitol.*, 67, (2022), 723 – 731.

339. Prado, I.C.B., Capuno, L.X.B., Collera, P.D., Cabralda, A.P.D., De Ramos, K.A.S., Bernardo, J.M.G., Divina, B.P., Masatani, T., Tanaka, T., Galay, R.L., “Molecular Detection and Characterization of *Babesia* and *Theileria* in Cattle and Water Buffaloes from Southern Luzon, Philippines”, *Microorganisms*, 10, 4, (2022), 678.

340. Direction des services agricoles de la Wilaya de Constantine, “Rapport d’activité annuelle”, (2015).

341. QGIS Development Team., “QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project”, <https://qgis.osgeo.org>. (2022), Accessed 20 January 2022.

342. Bett, B., Jost, C., Allport, R., Mariner, J., “Using participatory epidemiological techniques to estimate the relative incidence and impact on livelihoods of livestock diseases amongst nomadic pastoralists in Turkana South District, Kenya”, *Prev. Vet. Med.*, 90, 3 - 4, (2009), 194 – 203.

343. Benavides Ortiz, E., López Rozo M, Alayón Flórez, L.E., “Enfermedades del ganado en la región de La Macarena (Meta). Un ejercicio de epidemiología participativa”, *Revue Méd. Vét*, 21, (2011), 41 – 62.

344. Nthiwa, D., Alonso, S., Odongo, D., Kenya, E., Bett, B., “A participatory epidemiological study of major cattle diseases amongst Maasai pastoralists living in wildlife-livestock interfaces in Maasai Mara, Kenya”, *Trop. Anim. Health. Prod.*, (2019), 51, 1097 – 1103.

345. Sahraoui, N., Müller, B., Guetarni, D., Boulahbal, F., Yala, D., Ouzrout, R., Berg, S., Smith, N.H., Zinsstag, J., “Molecular characterization of *Mycobacterium bovis* strains isolated from cattle slaughtered at two abattoirs in Algeria”, *BMC Vet. Res.*, (2009), 5, 4.

346. Damene, H, Tahir, D., Diels, M., Berber, A., Sahraoui, N, Rigouts, L., “Broad diversity of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains isolated from humans and cattle in northern Algeria suggests a zoonotic transmission cycle”, PLoS Negl. Trop. Dis., 14, 11, (2020), e0008894.
347. Djafar, Z.R., Benazi, N., Bounab, S., Sayhi, M., Diouani, M.F., Benia, F., “Distribution of seroprevalence and risk factors for bovine tuberculosis in east Algeria”, Prev. Vet. Med., (2020), 183, 105127.
348. Kardjadj, M., “The epidemiology of cattle abortion in Algeria”, Trop. Anim. Health. Prod., (2018), 50, 445 – 448.
349. Sabrina, R., Mossadak, H.T., Bakir, M., Asma, M., Khaoula, B., “Detection of *Brucella* spp. in milk from seronegative cows by real-time polymerase chain reaction in the region of Batna, Algeria”, Vet. World, 11, 3, (2018), 363 – 367.
350. Kaaboub, E., Ouchene, N., Ouchene-Khelifi, N.A., Khelef, D., “Serological and histopathological investigation of brucellosis in cattle in Medea region, Northern Algeria”, Vet. World, 12, 5, (2019), 713 – 718.
351. Hamiroune, M., Bensid, A., Mohammadi, M.Z, Brahimi, K., Boumehres, A., Foughalia, A., “Situation of Brucellosis in Cattle Farms in a Pastoral Region of Algeria (Djelfa) and Its Impact on Public Health : an Example of Detection of *Brucella* Organism in Fermented Raw Cow Milk « L’Ben »”, Agricultura, 3, 4, (2020), 198 – 210.
352. Lounes, N., Melzer, F., Sayour, A.E., Maamar, H.T., Rahal, K., Benamrouche, N., Lazri, M., Bouyoucef, A., Hendam, A., Neubauer, H., El-Adawy, H., “Identification, geographic distribution and risk factors of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* infection in cattle in Algeria”, Vet. Microbiol., 254, (2021), 109004.
353. Azagi, T., Jaarsma, R.I., Docters van Leeuwen, A., Fonville, M., Maas, M., Franssen, F.F.J., Kik, M., Rijks, J.M., Montizaan, M.G., Groenevelt, M., Hoyer, M.,

Esser, H.J., Krawczyk, A.I., Modrý, D., Sprong, H., Demir, S., “Circulation of *Babesia* species and their exposure to humans through *Ixodes Ricinus*”, *Pathogens*, 10, 4, (2021), 386.

354. Asensi, V., González, L.M., Fernández-Suárez, J., Sevilla, E., Navascués, R.Á., Suárez, M.L., Lauret, M.E., Bernardo, A., Carton, J.A., Montero, E., “A fatal case of *Babesia divergens* infection in Northwestern Spain”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 9, 3, (2018), 730 – 734.

355. Boussaadoun, M.A., Gharbi, M., Sayeh, L., Soudani, M.C., Darghouth, M.A., “Epidemiological situation of bovine tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection) in the Northwest Tunisia”, *J. Adv. Parasitol.*, 2, 4, (2015), 69 – 74.

356. AL-Hosary, A., Ahmed, L., Ahmed, J., Nijhof, A., Clausen, P.H., “Epidemiological study on tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection) in the Egyptian Oases with special reference to the molecular characterization of *Theileria* spp.”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 9, (2018), 1489 – 1493.

357. Ait Hamou, S., Rahali, T., Sahibi, H., Belghyti, D., Losson, B., Rhalem, A., “Séroprévalences des hémoparasitoses bovines dans deux régions irriguées du Maroc”, *Revue Méd. Vét.*, 163, 10, (2012), 480 – 485.

358. Hasheminasab, S.S., Moradi, P., Wright, I., “A four year epidemiological and chemotherapy survey of babesiosis and theileriosis, and tick vectors in sheep, cattle and goats in Dehgolan, Iran”, *Ann. Parasitol.*, 64, 1, (2018), 43 – 48.

359. Elsify, A., Sivakumar, T., Nayel, M., Salama, A., Elkhtam, A., Rizk, M., Mosaab, O., Sultan, K., Elsayed, S., Igarashi, I., Yokoyama, N., “An epidemiological survey of bovine *Babesia* and *Theileria* parasites in cattle, buffaloes, and sheep in Egypt”, *Parasitol. Int.*, 64, 1, (2015), 79 – 85.

360. Altay, K., Aydin, M.F., Dumanli, N., Aktas, M., “Molecular detection of *Theileria* and *Babesia* infections in cattle”, *Vet. Parasitol.*, 158, (2008), 295 – 301.

361. Benchikh-Elfegoun, M.C., Benakhla, A., Bentounsi, B., Bouattour, A., Piarroux, R., "Identification et cinétique saisonnière des tiques parasites des bovins dans la région de Taher (Jijel) Algérie", *Ann. Méd. Vét.*, 151, (2007), 209 – 214.
362. Makuvadze, F.T., Hove, T., Makaya, P., Waniwa, E., Nemaungwe, T., "Resistance of ticks on cattle to amitraz in Zimbabwe", *Trop. Anim. Health. Prod.*, 52, (2020), 3323 – 3330.
363. Torrents, J., Morel, N., Rossner, M.V., Martínez, N.C., Toffaletti, J.R., Nava, S., "In vitro diagnosis of resistance of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to fipronil in Argentina", *Exp. Appl. Acarol.*, 82, (2020), 397 – 403.
364. Djebir, S., Ksouri, S., Trigui, M., Tounsi, S., Boumaaza, A., Hedef, Y., Benakhla, A., "Chemical Composition and Acaricidal Activity of the Essential Oils of Some Plant Species of *Lamiaceae* and *Myrtaceae* against the Vector of Tropical Bovine Theileriosis: *Hyalomma scupense* (syn. *Hyalomma detritum*)", *BioMed Res. Int.*, 2019, (2019), 7805467.
365. Kostygov, A.Y., Frolov, A.O., Malysheva, M.N., Ganyukova, Al., Drachko, D., Yurchenko, V., Agasoi, V.V., "Development of two species of the *Trypanosoma theileri* complex in tabanids", *Parasit. Vectors.*, (2022), 15, 95.
366. Elati, K., Nijhof, A.M., Mwamuye, M.M., Ameen, V., Mhadhbi, M., Darghouth, M.A., Obara, I., "Sequence polymorphisms in a *Theileria annulata* surface protein (*TaSP*) known to augment the immunity induced by live attenuated cell line vaccine", *Transbound. Emerg. Dis.*, 69,6, (2022), 3350 – 3359.
367. Nehra, A.K., Kumari, A., Kundave, V.R., Vohra, S., Ram, H., "Molecular insights into the population structure and haplotype network of *Theileria annulata* based on the small-subunit ribosomal RNA (18S rRNA) gene", *Infect. Genet. Evol.*, 99, (2022), 105252
368. Barré, N. et Camus, E., "Existence de la babésiose tropicale à *Babesia bovis* en Guadeloupe (Antilles Françaises)", *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 36, 3,

(1983), 259 – 260.

369. Ullah, N., Ashraf, K., Rehman, A., Suleman, M., Rashid, M.I., “Propagation of *Babesia bigemina* in rabbit model and evaluation of its attenuation in Cross-bred calves”, *Animals*, 12, 17, (2022), 2287.

370. Alamzán, C., Medrano, C., Ortiz, M., de la Fuente, J., “Genetic diversity of *Anaplasma marginale* strains from an outbreak of bovine anaplasmosis in an endemic area”, *Vet. Parasitol.*, 158, 1-2, (2008), 103 – 109.

371. Ben Said, M., Ben Asker, A., Belkahia, H., Ghribi, R., Selmi, R., Messadi, L., “Genetic characterization of *Anaplasma marginale* strains from Tunisia using single and multiple gene typing reveals novel variants with an extensive genetic diversity”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 9, 5, (2018), 1275 – 1285.

372. Casa, M.D.S., Vettori, J.D., De Souza, K.M., Miletti, L.C., Vogel, C.I.G., Lima, A.L..F, Fontequé, J.H., “High prevalence of *Anaplasma marginale* in the Crioula Lageana cattle”, *J. Infect. Dev. Ctries.*, 14, 6, (2020), 623 – 630.

373. Junsiri, W., Watthanadirek, A., Poolsawat, N., Minsakorn, S., Nooroong, P., Jittapalapong S, Chawengkirttikul, R., Anuracpreeda, P., “Molecular characterization of *Anaplasma marginale* based on the *msp1a* and *msp1b* genes”, *Vet. Microbiol.*, 262, (2021), 109236.

374. Pereira, J.G., Garcia, A.B., Gonçalves, L.R., Ramos, I.A.S., Braga, M.D.O SCO, Santos L.S.D., Melo, F.A., Santos, H.P., Carvalho Neta, A.V., Rosário, C.J.R.M.D., Lima, C.A.A., de Carvalho, R.F.B., Silva, L.D., Lima, M.S., André, M.R., Machado, R.Z., “High genetic diversity of *Anaplasma marginale* infecting dairy cattle in northeastern Brazil”, *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 30, 4, (2021), e014321.

375. Rar, V., Tkachev, S., Tikunova, N., “Genetic diversity of *Anaplasma* bacteria: Twenty years later”, *Infect. Genet. Evol.*, 91, (2021), 104833.

376. Dantán-González, E., Quiroz-castañeda, R.E., Aguilar-Díaz, H., Amaro-

estrada, I., Martínez-Ocampo, F., Rodríguez-Camarillo, S., “Mexican Strains of *Anaplasma marginale*: A first comparative genomics and phylogeographic analysis”, *Pathogens*, 11, 8, (2022), 873.

377. Villar, D., Beltran, D.G., Schwartz, K., Magstadt, D., Brewer, M., “Diagnosis of *Anaplasma marginale* in cattle at the Iowa State University veterinary diagnostic laboratory 2003–2021”, *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.*, 39, (2023), 100845.

378. Asif, M., Ben Said, M., Vinueza, R.L., Leon, R., Ahmad, N., Parveen, A., Khan, A., Ejaz, A., Ali, M., Khan, A.U., Baber, M., Iqbal, F., “Seasonal investigation of *Anaplasma marginale* infection in Pakistani cattle reveals hematological and biochemical changes, multiple associated risk factors and *msp5* gene conservation”, *Pathogens*, 11, 11, (2022), 1261.

379. Garcia, A.B., Jusi, M.M.G., Freschi, C.R., Ramos, I.A.S., Mendes, N.S., Bressianini do Amaral, R., Gonçalves, L.R., André, M.R., Machado, R.Z., “High genetic diversity and superinfection by *Anaplasma marginale* strains in naturally infected Angus beef cattle during a clinical anaplasmosis outbreak in southeastern Brazil”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 13, 1, (2022), 101829.

380. Kocan, K.M., Blouin, E.F., Palmer, G.H., Eriks, I.S., Edwards, W.L., “Strategies to interrupt the development of *Anaplasma marginale* in its tick vector: The effect of bovine-derived antibodies”, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 791, 1, (1996), 157 – 165.

381. Kocan, K.M., de la Fuente, J., Blouin, E.F., Coetzee, J.F., Ewing SA. “The natural history of *Anaplasma marginale*”, *Vet. Parasitol.*, 167, 2 - 4, (2010), 95 – 107.

382. Kocan, K.M., de la Fuente, J., Guglielmone, A.A., Meléndez, R.D., “Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle”, *Clin. Microbiol. Rev.*, 16, 4, (2003), 698 – 712.

383. Aktas, M., Özübek, S., “Outbreak of anaplasmosis associated with novel genetic variants of *Anaplasma marginale* in a dairy cattle”, *Comp. Immunol.*

Microbiol. Infect. Dis., 54, (2017), 20 – 26.

384. Tumwebaze, M.A., Lee, S.H., Adjou Moumouni, P.F., Mohammed-Geba, K., Sheir, S.K., Galal-Khallaf, A., Abd El Latif, H.M., Morsi, D.S., Bishr, N.M., Galon, E.M., Byamukama, B., Liu, M., Li, J., Li, Y., Ji, S., Ringo, A.E., Rizk, M.A., Suzuki, H., Ibrahim, H.M., Xuan, X., “First detection of *Anaplasma ovis* in sheep and *Anaplasma platys-like* variants from cattle in Menoufia governorate, Egypt”, Parasitol. Int., 78, (2020), 102150.

385. Koonyosying, P., Rittipornlertrak, A., Chomjit, P., Sangkakam, K., Muenthaisong, A., Namboopha, B., Srisawat, W., Apinda, N., Singhla, T., Sthitmatee, N., “Incidence of hemoparasitic infections in cattle from central and northern Thailand”, PeerJ, 10, (2022), e13835.

386. Schwartz D. “Méthodes statistiques à l’usage des médecins et des biologistes”, paris, France, 4th Edition, France, Flammarion (1993), p. 314.

387. Naik, B.S., Maiti, S.K., Raghuvanshi, P.D.S., “Prevalence of Tropical Theileriosis in Cattle in Chhattisgarh State”, J. Anim. Res., 6, 6, (2016), 1043 – 1045.

388. Muhammad, G., Saqib, M, Athar, M., Khan, M.Z., Asi, M.N., “Clinico-epidemiological and therapeutic aspects of bovine theileriosis”, Pakistan Vet. J., 19, 2, (1999), 64 – 71.

389. Ait Hamou, S., Rahali, T., Sahibi, H., Belghyti, D., Losson, B., Goff, W., Rhalem, A., “Molecular and serological prevalence of *Anaplasma marginale* in cattle of North Central Morocco”, Res. Vet. Sci., 93, (2012), 1318 – 1323.

390. Glass, E.J. et Jensen, K., “Resistance and susceptibility to a protozoan parasite of cattle-Gene expression differences in macrophages from different breeds of cattle”, Vet. Immunol. Immunopathol., 120, 1 - 2, (2007), 20 – 30.

391. Saleem, M.I., Tariq, A., Shazad, A., Mahfooz, S.A., “Clinical, epidemiological and therapeutic studies on bovine tropical theileriosis in Faisalabad, Pakistan”, Iraqi

J. Vet. Sci., 28, 2, (2014), 87 – 93.

392. M'Ghirbi, Y., Bèji, M., Oporto, B., Khrouf, F., Hurtado, A., Bouattour, A., "Anaplasma marginale and A. phagocytophilum in cattle in Tunisia", Parasit. Vectors., (2016), 9, 556.

393. Aubry, P. et Geale, D.W., "A review of bovine anaplasmosis", Transbound. Emerg. Dis., 58, (2011), 1 – 30.

394. Calder, J.A., Reddy, G.R., Chieves, L., Courtney, C.H., Littell, R., Livengood J.R., Norval, R.A., Smith, C., "Monitoring Babesia bovis infections in cattle by using PCR-based tests", J. Clin. Microbiol., 34, 11, (1996), 2748 – 2755.

395. Terkawi, M.A., Alhasan, H., Huyen, N.X., Sabagh, A., Awier, K., Cao, S., Goo, Y.K., Aboge, G., Yokoyama, N., Nishikawa, Y., Kalb-Allouz, A.K., Tabbaa, D., Igarashi, I., Xuan, X., "Molecular and serological prevalence of Babesia bovis and Babesia bigemina in cattle from central region of Syria", Vet. Parasitol., 187, 1-2, (2012), 307 – 311.

396. Battsetseg, B., Sivakumar, T., Naranbaatar, K., Narantsatsral, S., Myagmarsuren, P., Enkhtaivan, B., Davaasuren B, Mizushima D, Weerasooriya, G., Igarashi, I., Battur, B., Yokoyama, N., "Serosurvey of Babesia bovis and Babesia bigemina in cattle in Mongolia", Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep., 13, (2018), 85 – 91.

397. Terkawi, M.A., Thekiso, O.M., Katsande, C., Latif, A.A., Mans, B.J., Matthee O, Mkize, N., Mabogoane, N., Marais, F., Yokoyama, N., Xuan, X., Igarashi, I., "Serological survey of Babesia bovis and Babesia bigemina in cattle in South Africa", Vet. Parasitol., 182, 2 - 4, (2011), 337 – 342.

398. Ekici, O.D. et Sevinc, F., "Seroepidemiology of Babesia bigemina in cattle in the Konya province, Turkey: endemic status", Bull Vet Inst Pulawy, 53, 4, (2009), 645 – 649.

399. Suarez, C.E. et Noh, S., "Emerging perspectives in the research of bovine

babesiosis and anaplasmosis”, *Vet. Parasitol.*, 180, 1 - 2, (2011), 109 – 125.

400. Merino, O., Alberdi, P., Pérez De La Lastra, J.M., de la Fuente, J., “Tick vaccines and the control of tick-borne pathogens”, *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 3, (2013), 30.

401. Brites-Neto, J., Duarte, K.M., Martins, T.F., “Tick-borne infections in human and animal population worldwide”, *Vet. World*, 8, 3, (2015), 301 – 315.

402. Dabaja, M.F., Tempesta, M., Bayan, A., Vesco, G., Greco, G., Torina, A., Blanda V, La Russa, F., Scimeca, S., Ezzedine, M., Mortada, H., Raoult, D., Fournier, P.E., Mortada, M., “Diversity and distribution of ticks from domestic ruminants in Lebanon”, *Vet. Ital.*, (2017), 53, 2, 147 – 155.

403. Aydin, M.F., Aktas, M., Dumanli, N., “Molecular identification of *Theileria* and *Babesia* in ticks collected from sheep and goats in the Black Sea region of Turkey”, *Parasitol. Res.*, 114, (2015), 65 – 69.

404. Bouhous, A., Aissi, M., Harhoura, K., “Prevalence of Ixodidae in sheep brought for slaughter in Adrar municipal abattoir, Southwest Algeria”, *Sci. Parasitol.*, 12, 4, (2011), 197 – 201.

405. Shi, Y., Yang, J., Guan, G., Liu, Z., Luo, J., Song, M., “Molecular investigation of *Anaplasma* species in sheep from Heilongjiang Province, northeast China identified four *Anaplasma* species and a novel genotype of *Anaplasma capra*”. *Parasitol. Int.*, 76, (2020), 102072.

406. Tibbitts, T., Goff, W., Foreyt, W., Stiller, D., “Susceptibility of two Rocky mountain bighorn sheep to experimental infection with *Anaplasma ovis*”, *J. Wildl. Dis.*, 28,1, (1992), 125 – 129.

407. Yasini, S.P., Khaki, Z., Rahbari, S., Kazemi, B., Salara Amoli, J., Gharabaghi, A., Jalali, S.M., “Hematologic and clinical aspects of experimental ovine anaplasmosis caused by *Anaplasma ovis* in Iran”, *Iran. J. Parasitol.*, 7, 4, (2012), 91

– 98.

408. Al-hosary, A.A., Elsify, A., Salama, A.A., Nayel, M., Elkhtam, A., Elmajdoub L.O., Rizk, M.A., Hawash, M.M., Al-Wabel, M.A., Almuzaini, A.M., Ahmed, L.S.E., Paramasivam, A., Mickymaray, S., Omar, M.A., “Phylogenetic study of *Theileria ovis* and *Theileria lestoquardi* in sheep from Egypt: Molecular evidence and genetic characterization”, *Vet. World*, 14, 3, (2021), 634 – 639.

409. Hussein, N.M., Mohammed, E.S., Hassan, A.A., El-dakhly, K.M., “Distribution Pattern of *Babesia* and *Theileria* species in sheep in Qena Province, Upper Egypt”, *Arch. Parasitol.*, 1, 1, (2017), 102.

410. Yaghfoori, S., Razmi, G.R., Mohri, M., Razavizadeh, A.R.T., Movassaghi, A.R., “An experimental ovine theileriosis: The effect of *Theileria lestoquardi* infection on cardiovascular system in sheep”, *Acta Trop.*, 161, (2016), 55 – 61.

411. Ge, Y., Pan, W., Yin, H., “Prevalence of *Theileria* infections in goats and sheep in southeastern China”, *Vet. Parasitol.*, 186, 3-4, (2012), 466 – 469.

412. Walker, A.R., Bouattour, A., Camicas, J.L., Estrada-Peña, A., Horak, I.G., Latif, A.A., Pegram, R.G., Preston, P.M., “Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species”, Scotland, United Kingdom, Bioscience Reports, Edinburgh, (2014), 1 – 221 p. file:///C:/Users/Utilisateur/Downloads/tickguide-africa-2014.pdf.

413. Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W., “Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited”, *J. Parasitol.*, 83, 4, (1997), 575 – 583.

414. Rjeibi, M.R., Darghouth, M.A., Omri, H., Souidi, K., Rekik, M., Gharbi, M., “First molecular isolation of *mycoplasma ovis* from small ruminants in North Africa”, *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 82, 1, (2015), 912.

415. Elati, K., Hamdi, D., Jdidi, M., Rekik, M., Gharbi, M., “Differences in tick

- infestation of Tunisian sheep breeds”, *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.*, 13, (2018), 50 – 54.
416. Andersson, M.O., Tolf, C., Tamba, P., Stefanache, M., Radbea, G., Rubel, F., Waldenström, J., Dobler, G., Chițimia-Dobler, L., “*Babesia*, *Theileria*, and Hepatozoon species in ticks infesting animal hosts in Romania”, *Parasitol. Res.*, 116, (2017), 2291–2297.
417. Erster, O., Roth, A., Wollkomirsky, R., Leibovich, B., Savitzky, I., Zamir, S., Molad, T., Shkap, V., “Quantitative analysis of *Babesia ovis* infection in sheep and ticks”, *Vet. Parasitol.*, 221, (2016), 39 – 45.
418. Leulmi, H., Aouadi, A., Bitam, I., Bessas, A., Benakhla, A., Raoult, D., Parola, P., “Detection of *Bartonella tamiae*, *Coxiella burnetii* and rickettsiae in arthropods and tissues from wild and domestic animals in northeastern Algeria”, *Parasit. Vectors.*, 9, (2016), 27.
419. Abdelkadir, K., Palomar, A.M., Portillo, A., Oteo, J.A., Ait-Oudhia, K., Khelef D., “Presence of *Rickettsia aeschlimannii*, ‘*Candidatus Rickettsia barbariae*’ and *Coxiella burnetii* in ticks from livestock in Northwestern Algeria”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 10,4 (2019), 924 – 928.
420. Dehaghi, M.M., Fathi, S., Asl, E.N., nezhad, H.A., “Prevalence of ixodid ticks on cattle and sheep southeast of Iran”, *Trop. Anim. Health. Prod.*, 43, (2011), 459 – 461.
421. Chaligiannis, I., Fernández de Mera, I.G., Papa, A., Sotiraki, S., de la Fuente, J., “Molecular identification of tick-borne pathogens in ticks collected from dogs and small ruminants from Greece”, *Exp. Appl. Acarol.*, 74, (2018), 443 – 453.
422. Boulkaboul, A., “Parasitisme des tiques (Ixodidae) des bovins à Tiaret, Algérie”, *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 56, 3 - 4, (2003), 157 – 162.
423. Gharbi, M., Darghouth, MA., “A review of *Hyalomma scupense* (Acari,

- Ixodidae) in the Maghreb region: From biology to control”, *Parasite*, (2014), 21, 2.
424. Altay, K., Dumanli, N., Aktas, M., “A study on ovine tick-borne hemoprotozoan parasites (*Theileria* and *Babesia*) in the East Black Sea region of Turkey”, *Parasitol. Res.*, 111, (2012), 149 – 153.
425. Dahmani, M., Davoust, B., Sambou, M., Bassene, H., Scandola, P., Ameer, T., Raoult, D., Fenollar, F., Mediannikov, O., “Molecular investigation and phylogeny of species of the *Anaplasmataceae* infecting animals and ticks in Senegal”, *Parasit. Vectors.*, 12, (2019), 495.
426. Belkahia, H., Ben Said, M., El Hamdi, S., Yahiaoui, M., Gharbi, M., Daaloul-Jedidi, M., Mhadhbi, M., Jedidi, M., Darghouth, M.A., Klabi, I., Zribi, L., Messadi, L., “First molecular identification and genetic characterization of *Anaplasma ovis* in sheep from Tunisia”, *Small Rumin. Res.*, 121, 2 - 3, (2014), 404 – 10.
427. Lee, S.H., Mossaad, E., Ibrahim, A.M., Ismail, A.A., Adjou Moumouni, P.F., Liu, M., Ringo, A.E., Gao, Y., Guo, H., Li, J., Efstratiou, A., Musinguzi, P., Angara, T.E.E., Sukanuma, K., Inoue, N., Xuan, X., “Detection and molecular characterization of tick-borne pathogens infecting sheep and goats in Blue Nile and West Kordofan states in Sudan”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 9, 3, (2018), 598 – 604.
428. Naderi, A., Nayebzadeh, H., Gholami, S., “Detection of *Babesia* infection among human, goats and sheep using microscopic and molecular methods in the city of Kuhdasht in Lorestan Province, West of Iran”, *J. Parasit. Dis.*, 41, 3, (2017), 837 – 842.
429. Fedorina, E.A., Arkhipova, A.L., Kosovski, G.Y., Kovalchuk, S.N., “Molecular survey and genetic characterization of *Anaplasma marginale* isolates in cattle from two regions of Russia”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 10, 2, (2019), 251 – 257.
430. Abdel-Shafy, S., Abdullah, H.H.A.M., Elbayoumy, M.K., Elsayy, B.S.M., Hassan, M.R., Mahmou, M.S., Hegazi, A.G., Abdel-Rahman, E.H., “Molecular epidemiological investigation of piroplasms and Anaplasmataceae Bacteria in

Egyptian domestic animals and associated ticks”, *Pathogens*, 11, (2022), 1194.

431. De La Fuente, J., Passos, L.M.F, Van Den Bussche, R.A., Ribeiro, M.F., Facury-Filho, E.J., Kocan, K.M., “Genetic diversity and molecular phylogeny of *Anaplasma marginale* isolates from Minas Gerais, Brazil”, *Vet. Parasitol.*, 121, 3 - 4, (2004), 307 – 316.

432. Magunda, F., Thompson, C.W., Schneider, D.A., Noh, S.M., “*Anaplasma marginale* actively modulates vacuolar maturation during intracellular infection of its tick vector, *Dermacentor andersoni*”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 82, 15, (2016), 4715 – 4731.

433. Khan, Z., Shehla, S., Alouffi, A., Kashif Obaid, M., Zeb Khan, A., Almutairi, M.M., Numan, M., Aiman, O., Alam, S., Ullah, S., Zaman Safi, S., Tanaka, T., Ali, A., “Molecular survey and genetic characterization of *Anaplasma marginale* in ticks collected from livestock hosts in Pakistan”, *Animals*, (2022), 12, 1708.

434. Parodi, P., Armúa-Fernández, M.T., Schanzembach, M., Mir, D., Benítez-Galeano, M.J., Rodríguez-Osorio, N., Rivero, R., Venzal, J.M., “Characterization of strains of *Anaplasma marginale* from clinical cases in bovine using major surface protein 1a in Uruguay”, *Front. Vet. Sci.*, 9, (2022), 990228.

435. Battilani, M., De Arcangeli, S., Balboni, A., Dondi, F., “Genetic diversity and molecular epidemiology of *Anaplasma*”, *Infect. Genet. Evol.*, 49, (2017), 195 – 211.

436. Ganzinelli, S., Byaruhanga, C., Primo, M.E., Lukanji, Z., Sibeko, K., Matjila, T., Neves, L., Benitez, D., Enkhbaatar, B., Nugraha, A.B., Igarashi, I., Florin-Christensen, M., Schnittger, L., “International interlaboratory validation of a nested PCR for molecular detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*, causative agents of bovine babesiosis”, *Vet. Parasitol.*, 304, (2022), 109686.

437. QGIS Development Team., “QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project”, <https://qgis.osgeo.org>. (2022), Accessed 20 Mai 2023.

438. Bureau d'hygiène communal - APC Beni Hamidene, Wilaya de Constantine. "Rapport d'activité annuelle", (2022).
439. Direction des services agricoles de la Wilaya de Constantine. "Rapport d'activité annuelle", (2018).
440. Direction des services agricoles de la wilaya de Mila. "Rapport d'activité annuelle", (2022).
441. de la Fuente, J., Naranjo, V., Ruiz-Fons, F., Höfle, U., Fernández de Mera, I.G., Villanúa, D., Almazán, C., Torina, A., Caracappa, S., Kocan, K.M., Gortázar, C., "Potential vertebrate reservoir hosts and invertebrate vectors of *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* in central Spain", *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 5, 4, (2005), 390 – 401.
442. Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., "MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods", *Mol. Biol. Evol.*, 28, 10, (2011), 2731 – 2739.
443. Uilenberg, G., "International collaborative research: significance of tick-borne hemoparasitic diseases to world animal health", *Vet. Parasitol.*, 57, 1 - 3, (1995), 19 – 41.
444. Bilgiç, H.B., Karagenç, T., Simuunza, M., Shiels, B., Tait, A., Eren, H., Weir, W., "Development of a multiplex PCR assay for simultaneous detection of *Theileria annulata*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* in cattle", *Exp. Parasitol.*, 133, 2, (2013), 222 – 229.
445. de la Fournière, S., Paoletta, M.S., Guillemi, E.C., Sarmiento, N.F., Donati, P.A., Wilkowsky, S.E., Farber, M.D., "Development of highly sensitive one step-PCR tests for improved detection of *B. bigemina* and *B. bovis*", *Vet. Parasitol.*, (2021), 296, 109493.

446. Bedouhene, A., Kelanemer, R., Medrouh, B., Kernif, T., Saidi, F., Tail, G., Ziam, H., “Seasonal dynamics and predilection sites of ticks (Acari: Ixodidae) feeding on cows in the Western Parts of the Djurdjura, Algeria”, *Front. Trop. Dis.*, (2022), 3, 856179.
447. AL-Hosary, A., Răileanu, C., Tauchmann, O., Fischer, S., Nijhof, A.M., Silaghi, C., “Tick species identification and molecular detection of tick-borne pathogens in blood and ticks collected from cattle in Egypt”, *Ticks Tick Borne Dis.*, (2021), 12, 101676.
448. Rehman, A., Nijhof, A.M., Sauter-Louis, C., Schauer, B., Staubach, C., Conraths, F.J., “Distribution of ticks infesting ruminants and risk factors associated with high tick prevalence in livestock farms in the semi- arid and arid agro-ecological zones of Pakistan”, *Parasit. Vectors.*, (2017), 10, 190.
449. Rocha, J.F., Martínez, R., López-Villalobos, N., Morris, S.T., “Tick burden in *Bos taurus* cattle and its relationship with heat stress in three agroecological zones in the tropics of Colombia”, *Parasit. Vectors.*, 12, (2019), 73.
450. Stachurski, F. et Vial, L., “Installation de la tique *Hyalomma marginatum*, vectrice du virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo, en France continentale”, *Bull Épidémiologique, santé animale et alimentation* 84, 9, (2018), 37 – 41.
451. Valcárcel, F., González, J., González, M.G., Sánchez, M., Tercero, J.M., Elhachimi, L., Carbonell, J.D., Olmeda, A.S., “Comparative ecology of *Hyalomma lusitanicum* and *Hyalomma marginatum* Koch, 1844 (Acarina: Ixodidae)”, *Insects*, 11, 5, (2020), 303.
452. Kumar, B., Maharana, B.R., Prasad, A., Joseph, J.P., Patel, B., Patel, J.S., “Seasonal incidence of parasitic diseases in bovines of south western Gujarat (Junagadh), India”, *J. Parasit. Dis.*, 40, (2016), 1342 – 1346.
453. Foughali, A.A., Ziam, H., Aiza, A., Boulkrou, H., Berber, A., Bitam, I., Gharbi

M., “Cross-sectional survey of cattle haemopathogens in Constantine, Northeast Algeria”, *Vet. Med. Sci.*, 7, 4, (2021), 1237 – 1244.

454. Ziam, H., Kelanamer, R., Aissi, M., Ababou, A., Berkvens, D., Geysen, D., “Prevalence of bovine theileriosis in North Central region of Algeria by real-time polymerase chain reaction with a note on its distribution”, *Trop. Anim. Health. Prod.*, (2015), 47, 787 – 796.

455. El-Dakhly, K.M., Arafa, W.M., Soliman, S., Abdel-Fatah, O.R., Wahba, A.A., Esteve-Gasent, M.D., Holman, P.J., “Molecular detection, phylogenetic analysis, and genetic diversity of *Theileria annulata*, *Babesia bigemina*, and *Anaplasma marginale* in cattle in three districts of Egypt”, *Acta Parasitol.*, 65, (2020), 620 – 627.

456. Kuibagarov, M., Makhamed, R., Zhylkibayev, A., Berdikulov, M., Abdrakhmanov, S., Kozhabayev, M., Akhmetollayev, I., Mukanov, K., Ryskeldina, A., Ramankulov, Y., Shustov, A., Bauer, C., Shevtsov, A., “*Theileria* and *Babesia* infection in cattle – First molecular survey in Kazakhstan”, *Ticks Tick Borne Dis.*, 14, 1, (2023), 102078.

457. Sun, M., Guan, G., Liu, Z., Wang, J., Wang, D., Wang, S., Ma, C., Cheng, S., Yin, H., Luo, J., “Molecular survey and genetic diversity of *Babesia* spp. and *Theileria* spp. in cattle in Gansu Province, China”, *Acta Parasitol.*, 65, (2020), 422 – 429.

458. Foughali, A.A., Amairia, S., Bitam, I., Berber, A., Gharbi, M., “Knowledge, attitude and perception of bovine piroplasmiasis by cattle owners in Constantine, North-East of Algeria, using participatory epidemiology”, *Trop. Anim. Health. Prod.*, 53, (2021), 167.

459. Silva, M.G., Marques, P.X., Oliva, A., “Detection of *Babesia* and *Theileria* species infection in cattle from Portugal using a reverse line blotting method”, *Vet. Parasitol.*, 174, 3 - 4, (2010), 199 – 205.

460. Trueman, K.F. et Blight, G.W., “The effect of age on resistance of cattle to

*Babesia bovis*", Aust. Vet. J., 54, 6, (1978), 301 – 305.

461. Elhachimi, L., Rogiers, C., Casaert, S., Fellahi, S., Van Leeuwen, T., Dermauw, W., Valcárcel, F., Olmeda, Á.S., Daminet, S., Khatat, S.E.H., Sahibi, H., Duchateau, L., "Ticks and tick-borne pathogens abound in the cattle population of the Rabat-Sale kenitra region, Morocco", Pathogens, 10, 12, (2021), 1594.

462. Boularias, G., Azzag, N., Galon, C., Šimo, L., Boulouis, H.J., Moutailler, S., "High-throughput microfluidic Real-time PCR for the detection of multiple microorganisms in ixodid cattle ticks in Northeast Algeria", Pathogens, 10, 3, (2021), 362.

463. Guglielmone, A.A., "Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America", Vet. Parasitol., 57, 1 - 3, (1995), 109 – 119.

464. Asif, M., Ben Said, M., Parveen, A., Ejaz, A., Ikram, M., Awais, M.M., Ozubek, S., Aktas, M., Baber, M., Iqbal, F., "Seasonal survey, risk factor's analysis and genotyping of *Theileria annulata* infecting cattle in Punjab province, Pakistan", Acta Trop., 234, (2022), 106587.

465. Ramos, I.A.S., Herrera, H.M., Mendes, N.S., Fernandes, S.J., Campos, J.B.V., Alves, J.V.A., Macedo, G.C., Machado, R.Z., André, M.R., "Phylogeography of msp4 genotypes of *Anaplasma marginale* in beef cattle from the Brazilian Pantanal", Rev. Bras. Parasitol. Vet., 28, 3, (2019), 451 – 457.

466. Mercado-Uriostegui, M.A., Castro-Sánchez, L.A., Batiha, G.E., Valdez-Espinoza, U.M., Falcón-Neri, A., Ramos-Aragon, J.A., Hernández-Ortiz R, Kawazu, S.I., Igarashi, I., Mosqueda, J., "The GP-45 Protein, a highly variable antigen from *Babesia bigemina*, contains conserved B-Cell Epitopes in geographically distant isolates", Pathogens, 11, 5, (2022), 591.

467. Yokoyama, N., Suthisak, B., Hirata, H., Matsuo, T., Inoue, N., Sugimoto, C., Igarashi, I., "Cellular localization of *Babesia bovis* merozoite rhoptry-associated protein 1 and its erythrocyte-binding activity", Infect. Immun., 70, 10, (2002), 5822 –

5826.