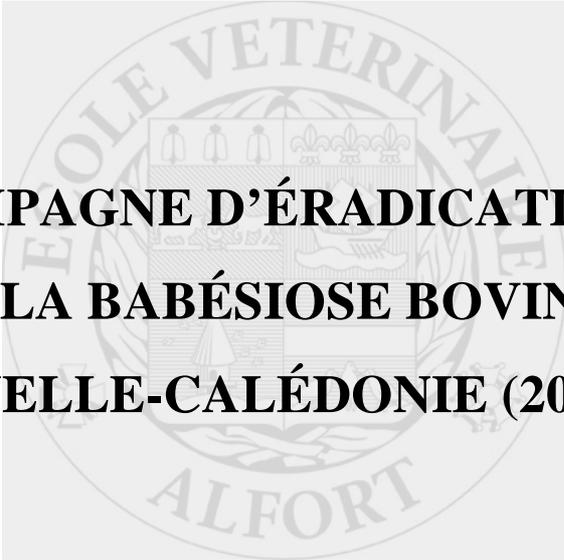


Année 2011



**CAMPAGNE D'ÉRADICATION
DE LA BABÉSIOSE BOVINE
EN NOUVELLE-CALÉDONIE (2008-2010)**

THÈSE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

le

par

Céline MARCHAL

Née le 25 mai 1979 à Vitry sur Seine (Val-de-Marne)

JURY

Président : M.

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Membres

Directeur : M. Jacques GUILLOT

Professeur de parasitologie et maladies parasitaires à l'ENVA

Assesseur : Mme Nadia HADDAD/HOANG-XUAN

Professeur de maladies contagieuses à l'ENVA

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

avril 2011

Directeur : M. le Professeur MIALOT Jean-Paul

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard

Professeurs honoraires: MM. BRUGERE Henri, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CLERC Bernard, CRESPEAU François, DEPUTTE Bertrand
LE BARS Henri, MOUTHON Gilbert, MILHAUD Guy, POUCHELON Jean-Louis, ROZIER Jacques

DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC)

Chef du département : M. POLACK Bruno, Maître de conférences - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Professeur

<p>- UNITE DE CARDIOLOGIE Mme CHETBOUL Valérie, Professeur M. GKOUNI Vassiliki, Praticien hospitalier</p> <p>- UNITE DE CLINIQUE EQUINE M. AUDIGIE Fabrice, Professeur* M. DENOIX Jean-Marie, Professeur Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier Mlle CHRISTMANN Undine, Maître de conférences Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Maître de conférences contractuel Mme PRADIER Sophie, Maître de conférences contractuel Melle DUPAYS Anne-Gaëlle, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE D'IMAGERIE MEDICALE M. LABRUYERE Julien, Professeur contractuel Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier</p> <p>- UNITE DE MEDECINE M. BLOT Stéphane, Professeur* M. ROSENBERG Charles, Maître de conférences Mme MAUREY-GUENEC Christelle, Maître de conférences Mme BENCHEKROUN Ghita, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT M. GRANDJEAN Dominique, Professeur * Mme YAGUIYAN-COLLIARD Laurence, Maître de conférences contractuel</p> <p>- DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION M. PARAGON Bernard, Professeur</p> <p>- DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences</p>	<p>- UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES M. CHERMETTE René, Professeur * M. POLACK Bruno, Maître de conférences M. GUILLOT Jacques, Professeur Mme MARGINAC Geneviève, Maître de conférences M. HUBERT Blaise, Praticien hospitalier M. BLAGA Radu Gheorghe, Maître de conférences contractuel (rattaché au DPASP)</p> <p>- UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE M. FAYOLLE Pascal, Professeur * M. MOISSONNIER Pierre, Professeur M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences M. NIEBAUER Gert, Professeur contractuel Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Maître de conférences Mme RAVARY-PLUMIOEN Bérangère, Maître de conférences (rattachée au DPASP) M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences</p> <p>- UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences* M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences M. REMY Dominique, Maître de conférences (rattaché au DPASP) M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences (rattachée au DPASP) Mme MASSE-MOREL Gaëlle, Maître de conférences contractuel (rattachée au DPASP) M. MAUFFRE Vincent, Maître de conférences contractuel (rattaché au DPASP)</p> <p>- DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS Mme Françoise ROUX, Maître de conférences</p>
---	---

DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)

Chef du département : M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Professeur

<p>- DISCIPLINE : BIostatISTIQUES M. DESQUILBET Loïc, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE M. BOLNOT François, Maître de conférences * M. CARLIER Vincent, Professeur Mme COLMIN Catherine, Maître de conférences M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Maître de conférences</p> <p>- UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES M. BENET Jean-Jacques, Professeur* Mme HADDAD/HOANG-XUAN Nadia, Professeur Mme DUFOUR Barbara, Professeur Melle PRAUD Anne, Maître de conférences contractuel</p>	<p>- UNITE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR M. ADJOU Karim, Maître de conférences * M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences Mme BRUGERE-PICOUX Jeanne, Professeur (rattachée au DSBP) M. BELBIS Guillaume, Maître de conférences contractuel M. HESKIA Bernard, Professeur contractuel</p> <p>- UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur* M. COURREAU Jean-François, Professeur M. BOSSE Philippe, Professeur Mme LEROY Isabelle, Maître de conférences M. ARNE Pascal, Maître de conférences M. PONTER Andrew, Professeur</p>
--	---

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

Chef du département : Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur - Adjoint : Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences

<p>- UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES M. CHATEAU Henry, Maître de conférences* Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur M. DEGUEURCE Christophe, Professeur Mme ROBERT Céline, Maître de conférences</p> <p>- DISCIPLINE : ANGLAIS Mme CONAN Muriel, Professeur certifié</p> <p>- UNITE DE BIOCHIMIE M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences* M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences</p> <p>- DISCIPLINE : EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE M. PHILIPS, Professeur certifié</p> <p>- UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences* M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur</p> <p>-UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur * Mme BERNEX Florence, Maître de conférences Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences M. REYES GOMEZ Edouard, Maître de conférences contractuel</p>	<p>- UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur* M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur M. FREYBURGER Ludovic, Maître de conférences</p> <p>- UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE M. TISSIER Renaud, Maître de conférences* Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur M. PERROT Sébastien, Maître de conférences</p> <p>- UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur* M. TIRET Laurent, Maître de conférences Mme STORCK-PILOT Fanny, Maître de conférences</p> <p>- UNITE DE VIROLOGIE M. ELOIT Marc, Professeur * Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences</p>
--	---

* responsable d'unité

REMERCIEMENTS

Au président du jury,
Professeur de la faculté de médecine de Créteil,
qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de thèse.

Au Professeur Jacques GUILLOT,
Professeur de parasitologie et maladies parasitaires de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
qui a accepté de diriger cette thèse, pour son intérêt envers ce sujet et ses conseils avisés,
mes sincères remerciements.

Au Professeur Nadia HADDAD/HOANG-XUAN,
Professeur de maladies contagieuses de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
pour sa relecture attentive,
mes sincères remerciements.

Au Docteur Denise DESOUTTER,
Responsable du Service des Laboratoires Officiels de Nouvelle-Calédonie,
et à son équipe, qui m'a accueilli il y a quelques années maintenant,
pour toute l'énergie déployée au quotidien, et le travail accompli ensemble,
pour son soutien de chaque instant,
mes sincères remerciements.

Au Docteur Thomas HÛE,
Vétérinaire parasitologue à l'Institut Agronomique Calédonien,
pour sa sympathie, ses nombreux coups de pouce et toutes nos collaborations,
mes sincères remerciements.

Aux éleveurs bovins et professionnels de l'élevage de Nouvelle-Calédonie, aux vétérinaires
publics et privés de Nouvelle-Calédonie et d'Australie,
pour leur grande implication dans cette crise sanitaire,
et sans qui cette campagne d'éradication aurait été illusoire,
mes sincères remerciements.

*A ma famille, à mes amis de France et de Nouvelle-Calédonie, à David,
à celles et ceux qui ont été là pour moi, de près comme de loin : de tout cœur, merci !*

Et maintenant... ☺

CAMPAGNE D'ERADICATION DE LA BABESIOSE BOVINE EN NOUVELLE-CALEDONIE (2008-2010)

NOM et prénom: MARCHAL Céline

RESUME

Au début de l'année 2008, un épisode de babésiose bovine à *Babesia bovis* a été détecté en Nouvelle-Calédonie. Après une synthèse bibliographique portant sur le parasite, les tiques vectrices et la maladie associée, cette thèse décrit l'origine et l'importance initiale des foyers, les mesures de lutte mises en place contre la maladie et leur justification épidémiologique. Elle dresse également un bilan de l'état d'avancement de la campagne d'éradication actuellement menée en Nouvelle-Calédonie et examine les éléments qui ont été déterminants pour la réussite de celle-ci.

Initialement, 22 propriétés ont été touchées avec environ 2300 bovins infectés en zones « à risque élevé » et 1600 dans les zones « suspectes » adjacentes. Vingt décès de babésiose confirmée ont été enregistrés au début de l'épisode. L'originalité de la campagne menée a été de s'articuler essentiellement sur des mesures de biosécurité associées à une lutte approfondie vis-à-vis des tiques et des piroplasmés plutôt que d'avoir recours à l'abattage des troupeaux infectés ou à une tentative d'éradication du vecteur.

Le suivi des mesures au laboratoire a montré une diminution constante de la séroprévalence des troupeaux infectés et l'absence de nouvelles infections. Huit mois après le début du programme d'éradication, les mesures de quarantaine ont ainsi pu être assouplies pour 12 propriétés, et trois mois plus tard pour les propriétés restantes. Ces résultats montrent à la fois l'efficacité de cette stratégie dans l'élimination du parasite *Babesia bovis* au sein des troupeaux infectés et la faisabilité de cette stratégie d'éradication à une échelle intermédiaire.

L'infection d'un troupeau de ruminants sauvages, quatre mois après le lancement de la campagne, a cependant nécessité une démarche d'abattage systématique des bovins de la zone et leur analyse *post-mortem*. Cette deuxième stratégie, actuellement toujours en cours, sera évoquée dans ce document sans toutefois être détaillée.

Mots clefs

BABESIA / BABESIA BOVIS / BABESIOSE / PLAN DE LUTTE / ERADICATION / TIQUE / RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS / DIPROPIONATE D'IMIDOCARBE / SURVEILLANCE EPIDEMIOLOGIQUE / PREVALENCE SEROLOGIQUE / BOVIN / NOUVELLE-CALEDONIE

Jury

Président : Pr

Directeur : Pr Jacques GUILLOT

Assesseur : Pr Nadia HADDAD/HOANG-XUAN

Adresse de l'auteur

Mlle MARCHAL Céline

15, rue de Gerlingen

Appartement n°21

70 000 Vesoul

ERADICATION CAMPAIGN OF BOVINE BABESIOSIS IN NEW-CALEDONIA (2008-2010)

SURNAME and given name : MARCHAL Celine

SUMMARY

In early 2008, an outbreak of bovine babesiosis was detected in New Caledonia. Following a synthesis dealing with the parasite *Babesia bovis*, its vector ticks and associated diseases, this thesis describes the origin and importance of initial foci, activities implemented to control the disease and their epidemiological justification. It also reviews the progress in the eradication campaign being carried out in New Caledonia and analyses elements that were crucial for its success.

Initially, 22 farms were affected, involving approximately 2 300 cattle in 'high risk' zones and 1 600 in adjacent 'suspect' zones. Twenty confirmed deaths from babesiosis were recorded at the start of the outbreak. The originality of this campaign was to be based mainly on biosecurity measures linked to strong miticide and piroplasmicide use rather than to slaughter of infected flocks or attempts for vectors' eradication.

The monitoring of these actions showed a steady decrease in infected herds' seroprevalence and the absence of new infections. Eight months after the beginning of the eradication program, quarantine measures were able to be relaxed in 12 farms, and three months later in the remaining farms. These results demonstrate both the effectiveness of this strategy in eliminating *Babesia bovis* within infected flocks and the feasibility of this eradication strategy at an intermediate scale.

However, the infection of a wild cattle herd, four months after launching the eradication campaign, lead to a process of systematic cattle slaughter in the area and to forensic analysis in the laboratory. This second strategy, currently ongoing, will be briefly discussed in this document.

Key words

BABESIA / BABESIA BOVIS / BABESIOSIS / DISEASE CONTROL / ERADICATION / TICK / RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS / IMIDOCARB DIPROPIONATE / EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE / SEROLOGICAL PREVALENCE / CATTLE / NEW-CALEDONIA

Jury

President: Pr

Director: Pr Jacques GUILLOT

Assessor: Pr Nadia HADDAD/HOANG-XUAN

Author's address

Miss MARCHAL Celine

15, rue de Gerlingen

Appartment n°21

70 000 Vesoul

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	5
Première partie : La babésiose bovine à <i>Babesia bovis</i> : parasite, tique vectrice et maladie.....	7
I. Le piroplasma <i>Babesia bovis</i>	9
A. Généralités sur les babésies	9
B. Historique.....	10
C. Répartition géographique.....	10
D. Classification.....	11
E. Morphologie.....	12
F. Cycle évolutif.....	13
II. Les tiques vectrices de <i>Babesia bovis</i>	16
A. Généralités	16
B. Répartition géographique.....	16
C. Taxonomie	16
D. Morphologie et anatomie	17
E. Cycle.....	21
F. Hôtes et localisation	23
G. Nutrition.....	24
H. Pouvoir pathogène.....	26
I. Impact économique	30
J. Tiques de Nouvelle-Calédonie.....	31
K. Lutte contre les tiques.....	33
III. La babésiose bovine à <i>Babesia bovis</i>	34
A. Définition	34
B. Importance de la parasitose.....	34
C. Epidémiologie	35
D. Pathogénie et immunité	37
E. Diagnostic clinique.....	42
F. Diagnostic expérimental	45
G. Méthodes de lutte	51
Deuxième partie : La babésiose à <i>Babesia bovis</i> en Nouvelle-Calédonie	55
I. Le contexte calédonien	57
A. Données géographiques	57
B. Données agricoles.....	62
C. Capacités vétérinaires	65
D. Données sanitaires	68
II. 1989 : Première introduction de babésiose bovine.....	72
A. Diagnostic du cas index	72
B. Enquête épidémiologique rétrospective.....	72
C. Mesures instaurées	73
D. Bilan de la campagne.....	74
III. 2008 : nouvelle introduction, nouvelle tentative d'éradication.....	76
A. Diagnostic du cas index	76
B. Enquête épidémiologique rétrospective.....	76
C. Mesures instaurées	79
D. Techniques diagnostiques employées.....	83
E. Gestion d'un foyer de bétail sauvage	100
CONCLUSION.....	109
BIBLIOGRAPHIE.....	111

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 Aspect cytologique schématique de <i>Babesia bovis</i> (MASLIN <i>et al.</i> , 2004).....	12
Figure 2 Erythrocyte de bovin infecté par <i>B. bovis</i> (R. Perrot, LNC).....	13
Figure 3 Schéma de la structure interne de <i>Babesia spp.</i> (NORMAN et LEVINE, 1973).....	13
Figure 4 Cycle évolutif simplifié des <i>Babesia</i> (MASLIN <i>et al.</i> , 2004).....	15
Figure 5 Aire d'extension mondiale de <i>R. microplus</i> (BARRE et UILENBERG, 2010).....	16
Figure 6 Systématique des tiques (selon CAMICAS <i>et al.</i> in PEREZ, 2007).....	17
Figure 7 Morphologie de <i>R. microplus</i> (Tick Research Laboratory, Texas).....	18
Figure 8 Stades évolutifs de <i>R. microplus</i> (BARRE, 2010).....	18
Figure 9 Morphologie ventrale (A) et dorsale (B) du capitulum des Ixodidés (PEREZ, 2007).....	19
Figure 10 Idiostome d'Ixodidé femelle en vue dorsale (PEREZ, 2007).....	19
Figure 11 Représentation schématique de l'organe de Haller (PEREZ, 2007).....	20
Figure 12 Schéma anatomique d'une tique femelle (vue ventrale) (BOURDEAU, 1993).....	20
Figure 13 Cycle de la tique <i>Rhipicephalus microplus</i> (BARRE, 2010).....	21
Figure 14 Larves de <i>R. microplus</i> à l'affût d'un hôte (BARRE, 2010).....	22
Figure 15 Femelles et œufs de <i>R. microplus</i> (face dorsale et ventrale) (BOCK, 2004).....	23
Figure 16 Infestation massive d'un bovin, par <i>R. microplus</i> (BARRE, 2010).....	24
Figure 17 Impact de la marche sur le détachement des femelles gorgées de <i>R. microplus</i>	26
Figure 18 Modifications lésionnelles au niveau du site de fixation (BOURDEAU, 1993).....	27
Figure 19 Pertes annuelles selon le niveau d'infestation par <i>R. microplus</i> (BARRE, 2010).....	31
Figure 20 Particularités des tiques infestant le bétail en Nouvelle-Calédonie (BARRE, 2010).....	32
Figure 21 Taureau Brahman (<i>Bos indicus</i>) de race pure (C. Marchal, LNC).....	41
Figure 22 Infiltrations sanguines du cortex cérébral lors de babésiose aiguë (CFSPH, 2008).....	43
Figure 23 Frottis sanguin sur lame de verre (C. Marchal, LNC).....	46
Figure 24 Frottis sanguin : hématies de bovin parasitées par <i>B. bovis</i> (R. Perrot, LNC).....	46
Figure 25 Réalisation d'une goutte épaisse (C. Marchal, LNC).....	47
Figure 26 Calque d'encéphale : hématies de bovin parasitées par <i>B. bovis</i> (R. Perrot, LNC).....	47
Figure 27 Situation géographique de la Nouvelle-Calédonie (DTSI, Service Géomatique).....	57
Figure 28 Systèmes de production agricole et répartition par Province (DAVAR, 2010).....	63
Figure 29 Station d'élevage bovin calédonienne (commune de Boulouparis) (C. Marchal, LNC).....	64
Figure 30 Production, importations, couverture des besoins en viande bovine (DAVAR, 2010).....	65
Figure 31 Carte de répartition des 22 foyers de babésiose bovine (Données : DAVAR-SESER).....	78
Figure 32 Méthode de collecte des larves de tiques « au drapeau » (adapté de CHAUVET, 2004).....	81
Figure 33 Distribution des résultats sérologique (OD) et de PCR (Ct) correspondants.....	88
Figure 34 Evolution de la séroprévalence de <i>B. bovis</i> (9 élevages à transmission avérée).....	92
Figure 35 Evolution sérologique des 5 élevages à transmission avérée avec cas cliniques.....	93
Figure 36 Profil sérologique des 5 élevages à transmission avérée avec cas cliniques.....	94
Figure 37 Profil sérologique des bovins Sénépols importés.....	97
Figure 38 Localisation des propriétés CH et n°1 (cartographie : DAVAR-SESER).....	101
Figure 39 Evolution des effectifs de bovins sauvages abattus et infectés de la propriété CH.....	103
Figure 40 Evolution des populations de larves sur les propriétés CH et n°1.....	105
Figure 41 Evolution des effectifs de larves testés, et positifs en PCR, sur la propriété CH.....	106

Tableau 1 Principales espèces de <i>Babesia</i> (CHARTIER <i>et al.</i> , 2000)	9
Tableau 2 Position taxonomique de <i>Babesia bovis</i> (BUSSIERAS et CHERMETTE, 1992).....	11
Tableau 3 Comparaison de l'immunité innée de différentes races bovines (BOCK, 1997).....	41
Tableau 4 Répartition des surfaces agricoles par Province (DAVAR, 2010)	62
Tableau 5 Estimation des performances de détection de <i>B.bovis</i> par PCR en temps réel	87
Tableau 6 Résultats du contrôle sérologique « initial » des 22 élevages “infectés” et “suspects” ...	90
Tableau 7 Evolution des séroprévalences et titres en anticorps moyens par catégorie d'élevage ...	91
Tableau 8 Evolution sérologique des 5 élevages à transmission avérée avec cas cliniques	92
Tableau 9 Résidus d'imidocarbe dans les tissus animaux 5 mois après 3 injections de 3 mg/kg	99
Tableau 10 Répartition des cas positifs de la propriété CH pour les 3 techniques de dépistage.....	104

INTRODUCTION

Récemment encore, la Nouvelle-Calédonie pouvait se prévaloir d'un statut particulièrement favorable car même si la tique *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* est largement présente au sein du cheptel bovin, aucun agent pathogène majeur transmis par les tiques n'était jusqu'alors recensé sur le territoire.

Les éleveurs bovins calédoniens ont dû cependant faire évoluer leurs pratiques pour faire face à l'importante spoliation due à la tique, en adoptant progressivement des mesures de lutte intégrée pour protéger leurs troupeaux.

Parmi celles-ci figure l'importation « sur pied » d'animaux de races tropicales résistantes à la tique *R. microplus* en provenance d'Australie (Santa gertrudis, Brahman, Sénépol, etc.) et utilisés soit pour constituer des troupeaux de race pure soit en croisement améliorateur avec les bovins locaux (Charolais, Limousins, etc.).

Exerçant pour le compte du Gouvernement de Nouvelle-Calédonie au sein du Service des Laboratoires Officiels Vétérinaires Agro-alimentaires et Phytosanitaires, j'ai pu prendre part à la gestion d'une introduction de babésiose bovine au cours de l'une de ces importations.

Ce document décrit donc l'épisode de babésiose bovine à *Babesia bovis* qui s'est déclaré en mars 2008 en Nouvelle-Calédonie à la suite de l'importation de bovins de race Sénépol vaccinés accidentellement à l'aide d'un vaccin vivant atténué. A la suite de cet épisode, une stratégie innovante d'éradication a été mise en place, associant des traitements acaricides et piroplasmicides à des mesures de biosécurité strictes.

Après une revue bibliographique relative à *Babesia bovis*, ses tiques vectrices et à la babésiose bovine, ce document décrit l'origine et l'importance initiale des foyers, les mesures de lutte mises en place et leur justification épidémiologique. Il dresse également un bilan après deux années de lutte et examine les éléments de réussite déterminants ainsi que les paramètres qui retardent aujourd'hui l'éradication définitive de la maladie.

Première partie : La babésiose bovine à *Babesia bovis* : parasite, tique vectrice et maladie

I. Le piroplasme *Babesia bovis*

A. Généralités sur les babésies

Le genre *Babesia* regroupe des protozoaires parasites des hématies, transmis obligatoirement par des tiques de la famille des Ixodidés. Ils provoquent chez l'hôte infecté un syndrome hémolytique d'évolution aiguë ou chronique appelé babésiose ou encore piroplasmose en raison de l'aspect piriforme des parasites infectants. Ces maladies, inoculables, non contagieuses sévissent à l'état enzootique (EUZEBY, 1988 ; MASLIN *et al.*, 2004).

Les *Babesia* comptent une centaine d'espèces décrites chez les vertébrés et ont des représentants chez presque toutes les espèces de mammifères et d'oiseaux. Chez les mammifères domestiques, la babésiose est importante et fréquente chez les chiens, chevaux et bovins. Elle est plus rare chez les ovins, exceptionnelle chez le chat. Les mammifères sauvages sont également parasités, en particulier les rongeurs et les cervidés, bien qu'ils ne présentent généralement pas de signes cliniques (EUZEBY, 1988 ; MASLIN *et al.*, 2004).

Ces parasites sont pour la plupart adaptés à une espèce hôte particulière. Seul l'Homme n'a pas de *Babesia* spécifique (tableau 1). Cependant lors d'immunodépression, il peut être affecté par *Babesia divergens*, parasitant classiquement les bovins en zone tempérée (EUZEBY, 1988).

Tableau 1 Principales espèces de *Babesia* (CHARTIER *et al.*, 2000)

Hôte	Babésiïdés	Tiques vectrices	Distribution géographique
Bovins	<i>B. divergens</i> <i>B. bovis</i> <i>B. bigemina</i> <i>B. major</i> <i>B. ovata</i> <i>B. jakimovi</i> <i>B. beliceri</i> <i>B. occultans</i>	<i>I. ricinus</i> , <i>I. persulcatus</i> <i>B. microplus</i> , <i>B. annulatus</i> <i>Boophilus</i> (4 espèces) <i>Hm. punctata</i> <i>Hm. flava</i> , <i>Hm. longicornis</i> <i>I. persulcatus</i> , <i>I. ricinus</i> <i>H. a. anatolicum</i> <i>H. marginatus rufipes</i>	Europe tempérée et septentrionale Tropiques, équateur Tropiques, équateur Eurasie occidentale, Maghreb Japon, Corée, Chine Sibérie occidentale Asie centrale, Proche-Orient, Inde Afrique australe
Ovins Caprins	<i>B. ovis</i> <i>B. crassa</i> <i>B. sp</i> <i>B. motasi</i>	<i>Rh. bursa</i> , <i>Rh. evertsi</i> , <i>Rh. turanicus?</i> <i>I. ricinus</i> , <i>I. persulcatus</i> <i>Hm. punctata</i> , <i>Hm. sulcato</i> , <i>Hm. parva</i>	Eurasie, Afrique Iran Europe tempérée Eurasie occidentale, Maghreb
Porcins	<i>B. perroncitoi</i> <i>B. trautmanii</i>	<i>Dermacentor sp. ?</i> <i>Rhipicephalus sp. ?</i>	Eurasie, Afrique Eurasie, Afrique
Equins	<i>B. caballi</i> <i>B. equi</i>	<i>D. marginatus</i> , <i>D. reticulatus</i> <i>H. marginatum</i> <i>Rh. bursa</i> , <i>Rh. evertsi</i> , <i>H. a. anatolicum</i> <i>Rh. sanguineus ?</i>	Eurasie occidentale tempérée Eurasie mésogéenne, Afrique Eurasie mésogéenne, Afrique, Inde Amériques, Madagascar et autre
Canidés	<i>B. canis canis</i> <i>B. canis vogeli</i> <i>B. canis rossi</i> <i>B. gibsoni</i>	<i>D. reticulatus</i> , <i>D. marginatus</i> <i>Rh. sanguineus</i> <i>Hm. leachi</i> et espèces voisines <i>Hm. bispinosa</i> , <i>Hm. leachi</i>	Eurasie tempérée Eurasie mésogéenne, tropiques, équateur Afrique tropico-équatoriale Afrique et Asie tropico-équatoriales
Rongeurs Homme	<i>B. microti</i> <i>B. microti</i>	<i>I. dammini</i> <i>I. ricinus</i> , <i>I. trianguliceps</i>	Amérique néarctique orientale Europe tempérée

B: *Boophilus*; D: *Dermacentor*; H: *Hyalomma*; Hm: *Haemaphysalis*; I: *Ixodes*; Rh: *Rhipicephalus*
Certaines espèces sont parfois identifiées sous le genre *Theileria* (*T. equi*, *T. microti*...)

Les bovins peuvent être infestés par plusieurs espèces de *Babesia* : *B. bovis*, *B. bigemina*, *B. divergens* principalement, mais également par *B. major*, *B. ovata* (décrite au Japon et très proche de *B. major*), ou encore *B. occultans* considérée comme une espèce distincte d'Amérique du Sud et *B. jakimovi* décrite en Russie (UILENBERG, 2006 ; CFSPH, 2008).

B. Historique

La première piroplasmose décrite a été celle du mouton, signalée en Roumanie en 1884 par MAGUREANU. Quatre années plus tard, BABES décrit pour la première fois, toujours en Roumanie, une piroplasmose des bovins qu'il associe à l'hémoglobinurie observée. Il nomme la maladie la « red water fever », sans toutefois soupçonner la nature du parasite. En 1892, il identifie des organismes similaires dans les érythrocytes de moutons.

L'intervention des Ixodidés dans la transmission des *Babesia* a été décrite en 1893 par SMITH et KILBORNE avec l'agent de la « Texas fever » (alors nommé *Pyrosoma bigeminum*, actuel *B. bovis*) touchant les bovins aux Etats-Unis. Il s'agit de la première mise en évidence du rôle d'un arthropode piqueur (*Boophilus annulatus*) dans la transmission d'une protozoose.

Cette même année, STARCOVICI renomme ces piroplasmose en référence à BABES : *B. ovis*, *B. bovis* et *B. bigemina*. D'autres noms ont été proposés depuis, le plus connu étant *Piroplasma* évoquant la forme fréquemment en poire du parasite après sa multiplication. L'ancien nom *Piroplasma* survit encore de cette manière, ainsi qu'à travers l'appellation « piroplasmose » réunissant généralement les babésioses et les theilérioses (EUZEBY, 1988 ; CHARTIER *et al.*, 2000 ; UILENBERG, 2006).

C. Répartition géographique

Les *Babesia* sont cosmopolites et leur aire de répartition est très vaste, s'étendant du 40^{ème} degré de latitude Nord au 32^{ème} degré de latitude Sud. Toutes les espèces ne sont pas également distribuées du fait des modalités de la transmission. En effet, la répartition géographique des *Babesia* dépend de la biologie de leurs tiques vectrices (EUZEBY, 1988 ; MASLIN *et al.*, 2004).

Parmi les espèces infectant les bovins, *B. bovis* et *B. bigemina* se retrouvent dans les régions chaudes, tropicales et sub-tropicales, et ont une importance majeure en Afrique, Asie, Australie, Amérique centrale et Amérique du Sud. On les retrouve également dans les pays du Sud de l'Europe.

Plus précisément, la distribution de *B. bovis*, se superpose à celle de ses vecteurs *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* et *annulatus* et concerne donc l'Afrique tropico-équatoriale, Madagascar, l'Australie, l'Asie et l'Amérique tropico-équatoriales, le bassin méditerranéen, et l'Asie centro-occidentale. L'aire de répartition de *B. bigemina*, transmissible par l'ensemble des tiques du genre *Boophilus* (actuel *Rhipicephalus*) est à ce titre plus large que celle de *B. bovis*, notamment en Afrique (CHARTIER *et al.*, 2000).

La distribution de *Babesia divergens* se superpose à celle de son vecteur, *Ixodes ricinus* en Europe (et *Ixodes persulcatus* en Russie) où la maladie occasionnée est économiquement importante. Enfin, *B. major*, transmise par *Haemaphysalis punctata*, est rencontrée en Europe (Grande Bretagne, Pays-Bas, Suisse) mais aussi dans le Nord et l'Ouest de l'Afrique et en Amérique du Sud. *B. ovata* se retrouve au Japon, *B. occultans* en Afrique du Sud et *B. jakimovi* en Sibérie (EUZEBY, 1988 ; CHARTIER *et al.*, 2000, OIE, 2008).

D. Classification

1. Taxonomie

Les *Babesia* sont des parasites hémoprotozoaires dits non pigmentaires, car digérant suffisamment bien l'hémoglobine pour ne pas laisser de résidus intra-érythrocytaires, ce qui les distingue d'emblée de genres tels que *Plasmodium* et *Haemoproteus*.

Le principal élément qui sépare les *Babesia* de l'autre principal genre d'hémoparasites non pigmentaires, à savoir les *Theileria*, est l'absence de multiplication extra-érythrocytaire (schizogonie) chez les *Babesia* et leur cycle dans la tique comporte une transmission trans-ovarienne alors qu'elle n'est que trans-stadiale chez *Theileria*. Egalement, la division intra-érythrocytaire de *Babesia* résulte le plus souvent en la naissance de deux cellules filles (mérozoïtes), à la différence de *Theileria* qui produit généralement quatre mérozoïtes, évoquant alors la croix de Malte. Enfin, les *Babesia*, une fois injectées à l'hôte, entrent directement dans les globules rouges à la différence des *Theileria* qui présentent une étape intermédiaire au sein des lymphocytes ou des macrophages (UILENBERG, 2006).

Tableau 2 Position taxonomique de *Babesia bovis* (BUSSIERAS et CHERMETTE, 1992)

Niveau taxonomique	Nom du taxon	Critères
Règne	Eukaryotes	Présence d'un noyau
Sous-règne	Protozoaires	Souvent mobiles Paroi cellulaire non cellulosique Développement hétérotrophe
Embranchement	Sporozoaires	Absence d'organites locomoteurs Parasite à tous les stades évolutifs
Sous-embranchement	Apicomplexa	Présence d'un complexe apical à certains stades de développement
Classe	Hémotozoaires	Absence de spores (complexe apical dépourvu de conoïde) Présence d'un stade endo-érythrocytaire Transmission par des arthropodes hématophages hébergeant un ookinète
Ordre	Piroplasmida	Forme endo-érythrocytaire non productrice de pigments Absence de vacuole parasitophore Transmission par une tique dure (Ixodidés)
Famille	Babésiidés	Absence de forme exo-érythrocytaire chez l'hôte vertébré Multiplication par bipartition longitudinale Transmission trans-ovarienne chez la tique
Genre	<i>Babesia</i>	Genre unique des Babésiidés
Espèce	<i>B. bovis</i>	Microbabésiose Hôte vertébré bovin exclusivement

2. Phylogénie

CRIADO-FORNELIO *et al.* (2003) proposent une subdivision des piroplasmes en cinq groupes à partir de l'analyse phylogénétique du gène de l'ARN ribosomal 18S :

- un groupe principalement composé par des espèces de *Babesia* des ongulés : *B. caballi*, *B. bigemina*, *B. ovis*, *B. bovis* et autres *Babesia* issues de bovins,

- un deuxième groupe regroupant les espèces *B. canis* et *B. gibsoni* de Canidés avec *B. divergens* et *B. odocoilei*,
- un groupe regroupant : *B. microti*, *B. rodhaini*, *B. felis*, *B. leo*, *B. microti* et *Theileria annae*,
- un groupe regroupant les espèces *Theileria*-like de l'Ouest des Etats-Unis,
- enfin, un groupe regroupant toutes les espèces de *Theileria* des Bovinés (BOCK, 2004).

E. Morphologie

1. Aspect en microscopie optique

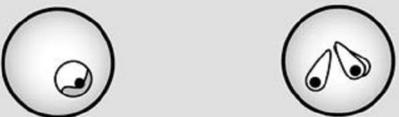
Il est possible de différencier deux sous-genres de babésies par une observation microscopique soignée (taille, forme du parasite et position intra-érythrocytaire des formes bigéminées) sur frottis sanguin coloré au May Grünwald Giemsa (MGG) (CHARTIER *et al.*, 2000) :

- Petites formes (<2,5 µm) : la paire de mérozoïtes forme un angle obtus et est de longueur inférieure au rayon de l'érythrocyte,
- Grandes formes (>2,5µm) : la paire de mérozoïtes forme un angle aigu et est de longueur supérieure au rayon de l'érythrocyte

Plus particulièrement, *Babesia bovis* est une « petite » babésie, occupant une position sub-centrale dans les érythrocytes et pour laquelle on distingue deux formes à l'observation du frottis sanguin (figures 1 et 2) :

- sa forme simple, annulaire, dont l'aspect ressemble à *Plasmodium falciparum* (bague à chaton), mesure approximativement entre 1 et 1,5 µm et est prédominante (3/4 des formes observées).
- sa forme appariée, piriforme, mesure approximativement entre 1,5 et 2,5 µm de long et 0,5 à 1 µm de large, est moins fréquente (1/4 des formes observées). Elle a typiquement la forme de deux poires appariées par leur extrémité la plus fine, les extrémités distales, plus arrondies, étant séparées le plus souvent par un angle obtus voire plat. On peut parfois noter la présence d'un point rouge discret dans chacune des deux formes géminées (EUZEBY, 1988 ; MASLIN *et al.*, 2004 ; OIE, 2008 ; BOCK 2006).

Figure 1 Aspect cytologique schématique de *Babesia bovis* (MASLIN *et al.*, 2004)

Exemple d'espèce infectant l'animal	Aspect schématique sur frottis sanguin
<i>B. bovis</i> (bœuf)	

La coloration au Giemsa de frottis sangins révèle un épaissement du bord des hématies, et celles-ci montrent parfois des taches de Maurer, sous forme d'inclusions bacilliformes, punctiformes ou en stries, de coloration rouge au Giemsa, sur un cytoplasme de couleur bronze (EUZEBY, 1988).

Figure 2 Erythrocyte de bovin infecté par *B. bovis* (R. Perrot, LNC)

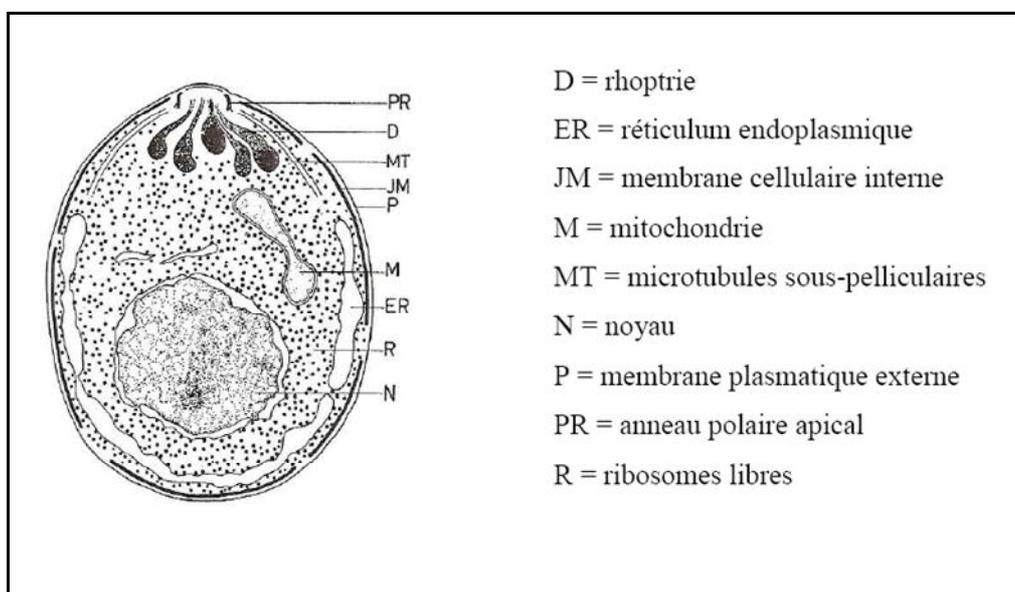


Frottis sanguin coloré au MGG (grossissement x1 000 à immersion)

2. Ultrastructure

En 1968, BÜTTNER décrit la structure interne du parasite (figure 3). Celui-ci possède un anneau polaire apical, des microtubules sous-pelliculaires, 5 à 7 rhoptries, des ribosomes libres, un réticulum endoplasmique mais, apparemment, pas de vrai conoïde, micronèmes ou micropore. Les rhoptries et les micronèmes étant des organites sécrétant une enzyme protéolytique.

Figure 3 Schéma de la structure interne de *Babesia spp.* (NORMAN et LEVINE, 1973)



F. Cycle évolutif

Le développement de *Babesia spp.* chez la tique a été décrit en 1988 par FRIEDOFF. Malgré plusieurs études détaillées, la connaissance du cycle évolutif des babésies reste incomplète.

Celui-ci est fondamentalement dixène, faisant obligatoirement intervenir les tiques (hôtes définitifs hébergeant les formes matures, sexuées du parasite) et un mammifère (hôte intermédiaire).

Cependant il n'existe pas un seul cycle évolutif pour l'ensemble du genre *Babesia*, et MACKENSTEDT *et al.* (1995) ont noté d'importantes différences selon les espèces étudiées (BOCK, 2004). Nous ne détaillerons donc ici que le cycle de *B. bovis*.

1. Etapes générales

Les *Babesia* présentent trois stades de reproduction chez la tique et l'hôte vertébré (figure 4) (MASLIN *et al.*, 2004, UILENBERG, 2006)

- **Gamogonie : reproduction sexuée, dans le tractus intestinal de la tique.** Elle concerne les gamétocytes ingérés lors du repas sanguin de la tique. Une organelle en pointe de flèche se développe à leur extrémité antérieure, permettant la fusion des gamètes (zygote) mais aussi la pénétration des ookinètes dans les cellules de l'épithélium intestinal de la tique. Ce passage survient en moyenne 80 heures après le début du repas sanguin de la tique et assure la diffusion du parasite (sporokinètes mobiles) vers les glandes salivaires de la tique, via l'hémolymphe.
- **Sporogonie : reproduction asexuée, dans les glandes salivaires de la tique.** Lors de la migration des sporokinètes mobiles, la contiguïté entre appareil digestif et génital peut permettre une transmission ovarienne du parasite, avec multiplication dans les œufs et naissance de larves infectées. Il y a alors une transmission transstadiale de la *babesia* chez la tique.

Les sporokinètes se multiplient et se différencient en sporozoïtes à l'intérieur des glandes salivaires. Cette différenciation est étroitement liée à un nouveau repas sanguin de la tique : la cellule infectée se transforme en un sporoblaste multinucléé non différencié ; puis à l'intérieur du sporoblaste, les organelles du futur sporozoïte se mettent en place ; ensuite le sporozoïte mature est libéré.

On estime à plusieurs milliers la production de sporozoïtes à partir d'un sporoblaste. Ceux-ci sont injectés à l'hôte vertébré à la fin du repas sanguin de la tique, la salive de la tique facilitant la transmission des parasites par ses propriétés anti-inflammatoires et immunosuppressives.

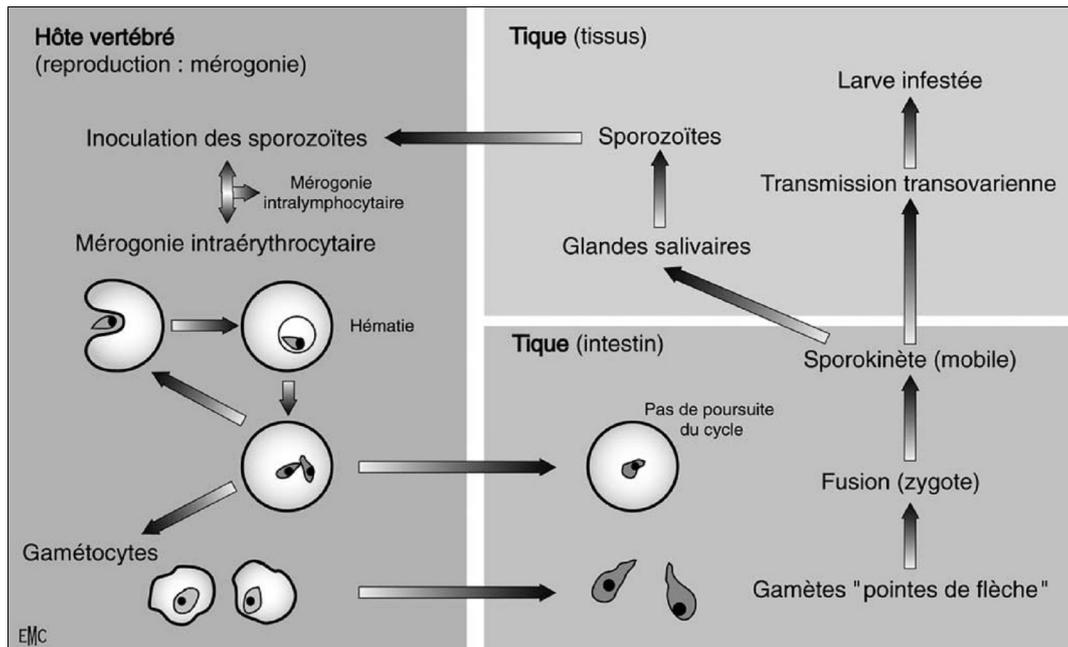
Il est intéressant de noter que la tique n'est donc pas infectante immédiatement après attachement, les sporozoïtes qu'elle contient devant préalablement mûrir avant d'être infectants. Le plus souvent la réelle transmission de *Babesia* se produit alors quelques jours seulement après l'attachement de la tique sur l'hôte (UILENBERG, 2006).

- **Mérogonie : reproduction asexuée, chez l'hôte vertébré.** Les *Babesia* sont transmises lors de morsure de tiques : les sporozoïtes présents dans les glandes salivaires de la tique sont inoculés en fin de repas sanguin. La réalisation de cette phase dépend directement du temps d'attachement de la tique au vertébré. Si le repas n'est pas interrompu et conduit jusqu'à son terme, le taux d'infection est de 100 %.

L'infestation des érythrocytes circulants se fait directement. La pénétration du parasite (disposant d'un complexe apical spécialisé) dans l'érythrocyte se fait par invagination, à l'origine de la formation d'une vacuole parasitophore. Celle-ci disparaît ensuite et le parasite entouré d'une simple membrane est en contact direct avec le cytoplasme de la cellule infectée. Les divisions se font par bourgeonnement et fission binaire en deux (parfois quatre)

cellules filles, à l'origine de l'apparition de mérozoïtes. Les mérozoïtes détruisent la cellule parasitée et sont alors capables d'infecter d'autres érythrocytes. La multiplication continue ainsi soit jusqu'à la mort de l'hôte, ou plus généralement jusqu'à ce que son système immunitaire mette fin à la multiplication des parasites. Durant ce stade, un certain nombre de sporozoïtes ne vont pas se reproduire, leur taille va augmenter et ils deviennent de potentiels gamétocytes.

Figure 4 Cycle évolutif simplifié des *Babesia* (MASLIN *et al.*, 2004)



2. Particularités de *B. bovis*

Il est intéressant de noter que dans le cycle évolutif de *B. bovis* (BOCK, 2004) :

- *Babesia bovis* ne persiste pas dans la tique sous une forme infectante au-delà du stade larvaire,
- la tique infectée n'est jamais la tique infectante : les tiques du genre *Rhipicephalus* sont en effet caractérisées par un unique repas sanguin par stade, suivie d'une mue ou d'une ponte et d'une mort. Ainsi, la tique adulte qui s'infecte assure la persistance du parasite via la génération de larves suivante (transmission trans-ovarienne),
- l'inoculation des sporozoïtes infectants a lieu en fin de repas car le sang est nécessaire à leur mobilisation.

II. Les tiques vectrices de *Babesia bovis*

A. Généralités

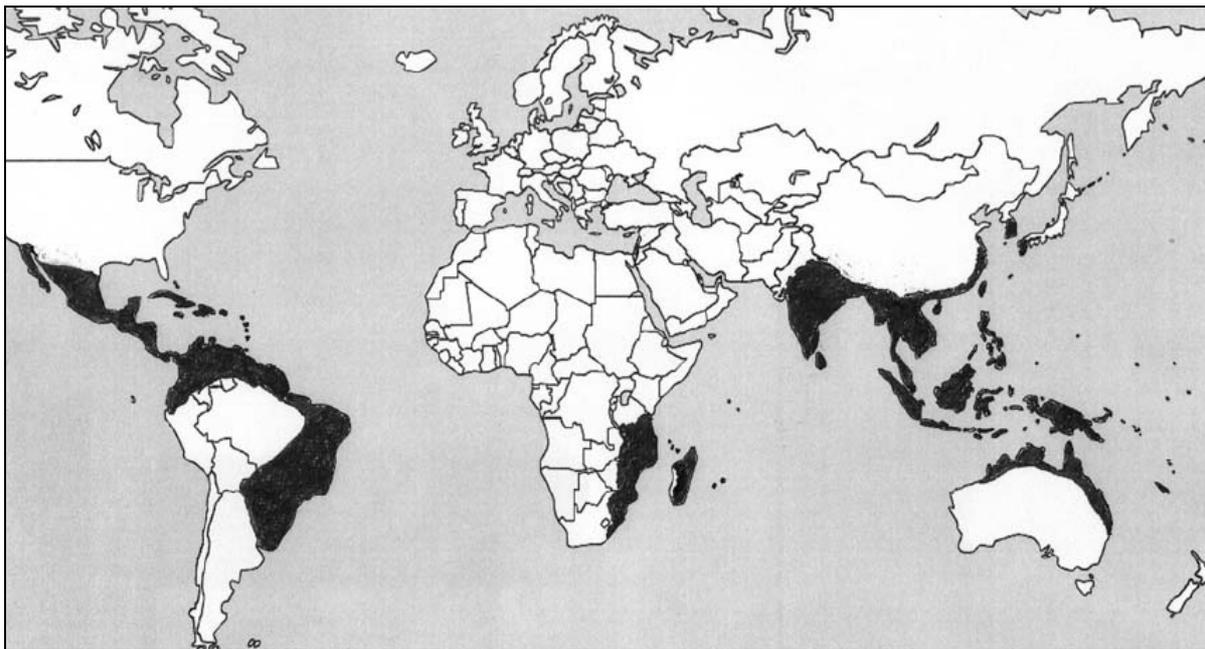
Les *Babesia* sont transmises exclusivement par des tiques, et les espèces décrites chez les bovins sont vectorisées par quatre genres principaux de tiques : *Boophilus spp.* (désormais reclassé en *Rhipicephalus spp.*), *Haemaphysalis spp.*, *Hyalomma spp.*, *Ixodes spp.* (CHARTIER *et al.*, 2000; OIE, 2008).

Ce document traitant en particulier de la babésiose bovine tropicale à *B. bovis*, en dehors de données générales, nous ne détaillerons ici que les aspects associés à *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, principal vecteur de *B. bovis*, et le seul présent en Nouvelle-Calédonie.

B. Répartition géographique

R. microplus requiert un taux d'humidité important et une température ambiante d'au moins 15-20°C (BOCK, 2006). Cette tique est donc particulièrement présente dans les zones tropicales et subtropicales et notamment en Asie, Afrique, Amérique Centrale et du Sud, Sud de l'Europe, et une partie de l'Australie (figure 5) (CFSPH, 2008).

Figure 5 Aire d'extension mondiale de *R. microplus* (BARRE et UILENBERG, 2010)



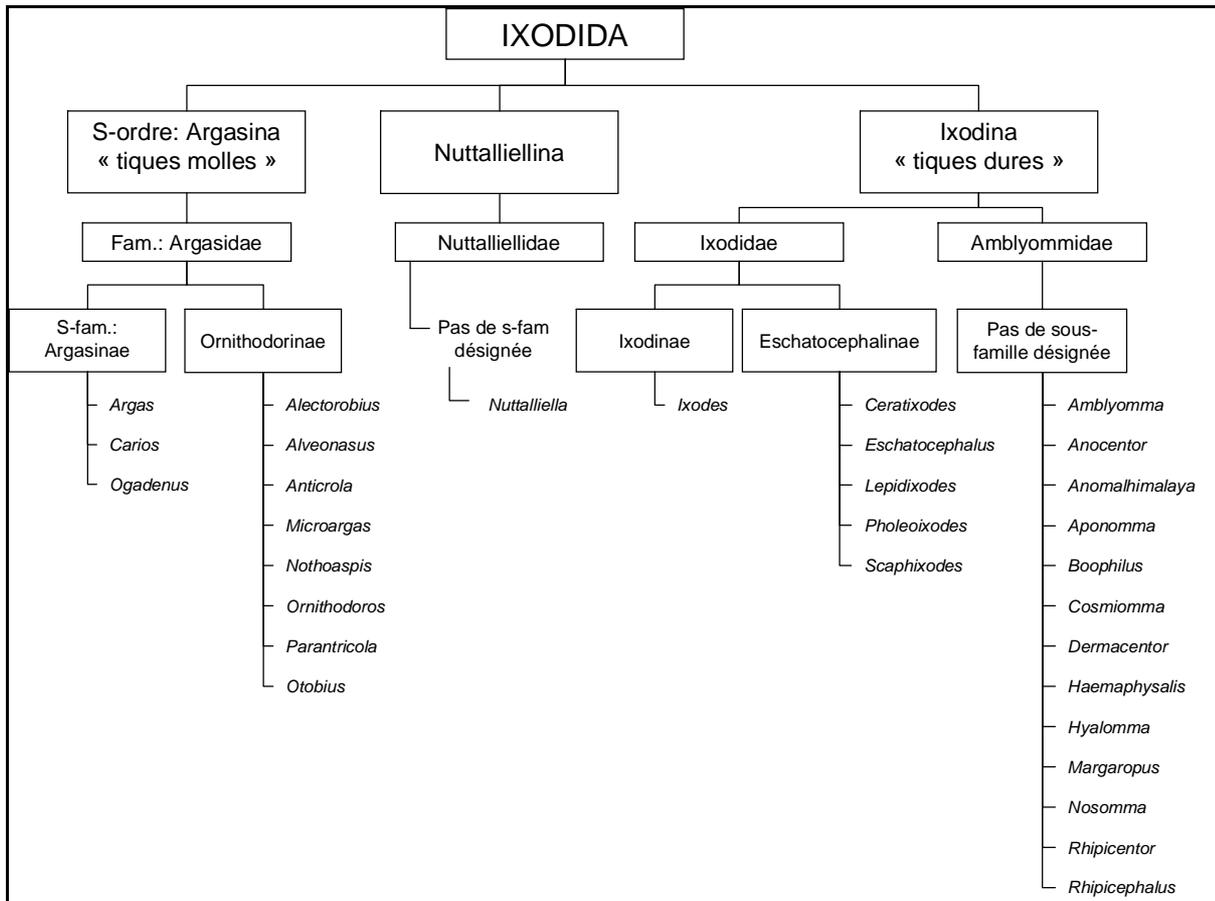
C. Taxonomie

Selon la classification présentée ici (figure 6), les tiques constituent l'ordre des Ixodida, lequel est subdivisé en 3 sous-ordres, 4 familles, 31 genres, 71 sous-genres, 70 groupes et 12 sous-groupes, 869 espèces ou sous-espèces.

Les trois familles, Argasidae, Ixodidae et Amblyommidae sont bien différenciées morphologiquement et biologiquement. Il est à noter que les *Babesia* sont transmises exclusivement par des tiques dures de la famille des Ixodidae (MASLIN *et al.*, 2004).

La famille des Nuttalliellidae, qui ne comporte que la seule espèce *Nuttalliella namaqua* demeure inconnue quant à sa biologie et semble morphologiquement intermédiaire entre Argasidae d'une part et Ixodidae/Amblyommidae d'autre part, encore que ces rapprochements restent hypothétiques faute de données suffisantes (PEREZ, 2007).

Figure 6 Systématique des tiques (selon CAMICAS *et al.* in PEREZ, 2007)



Une révision récente de la nomenclature place maintenant *Boophilus microplus* dans le genre *Rhipicephalus* (comme la tique du chien). Son nom scientifique est donc désormais *Rhipicephalus microplus* (BARRE, 2010).

D. Morphologie et anatomie

Les Ixodidés font figure de véritables « géants » parmi les acariens. La taille adulte de *R. microplus* dépasse souvent 2 à 3 mm de long pour 1 à 1,5 mm de large, et est la plus importante chez les femelles en réplétion.

Figure 7 Morphologie de *R. microplus* (Tick Research Laboratory, Texas)



Femelle - Face dorsale
(microscopie électronique)



Femelle - Face ventrale
(microscopie électronique)

Les tiques évoluant au cours de quatre stades (figure 8) : l'oeuf, la larve, la nymphe et l'adulte, on observe des variations de taille et de morphologie selon le stade, ainsi qu'un dimorphisme sexuel chez l'adulte.

Figure 8 Stades évolutifs de *R. microplus* (BARRE, 2010)



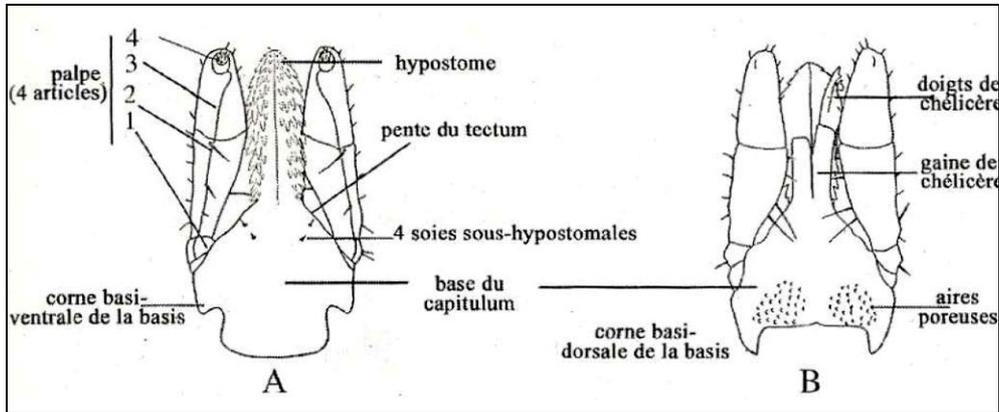
(larve, larve gorgée, nymphe, mâle face ventrale et dorsale, femelle semi-gorgée)
Les larves ne sont pas à l'échelle et sont proportionnellement beaucoup plus petites.

1. Morphologie

Le corps des tiques est divisé en deux parties:

- **Le capitulum** (figure 9) : formant la partie antérieure du corps, il est constitué d'une base, d'un rostre (organe perforateur) lui-même composé d'une paire de pédipalpes symétriques porteurs de nombreuses soies (organe sensoriel), d'un hypostome dentelé (organe d'encrage et d'alimentation) situé en position ventrale et de deux chélicères dorsales (organe de perforation).

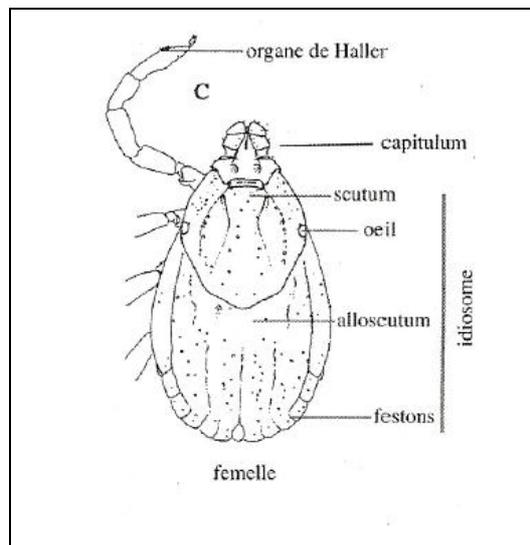
Figure 9 Morphologie ventrale (A) et dorsale (B) du capitulum des Ixodidés (PEREZ, 2007)



- **L'idiostome** (figure 10): formant la partie postérieure du corps, il comporte des parties tégumentaires souples d'aspect lisse et des parties sclérifiées à l'origine de la dénomination de « tiques dures ».

Les larves, nymphes et femelles ont, sur la face dorsale, un tégument sclérifié (ou scutum) couvrant environ la moitié de l'idosome, ce qui permet le gorgement. Alors que chez les mâles, il y a sclérisation totale de la face dorsale, on parlera alors de conscutum.

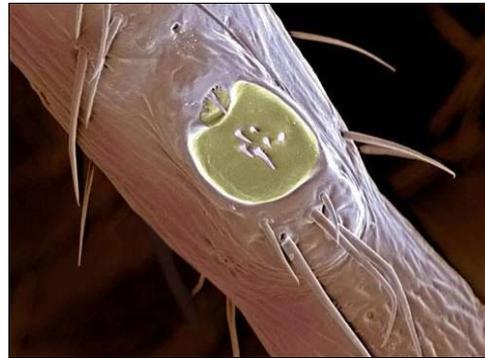
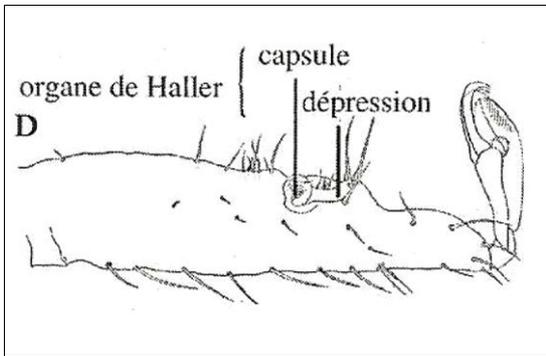
Figure 10 Idiostome d'Ixodidé femelle en vue dorsale (PEREZ, 2007)



Ventralement, l'idosome porte les pattes au nombre de quatre paires (nymphes, adultes), ou de trois paires (larves). Chaque patte comporte six tarses se terminant par une paire de griffes, accompagnée d'une ventouse.

Le tarse de la première paire de pattes des Ixodidés porte sur sa face dorsale un organe sensoriel essentiel, l'organe de Haller (figure 11), sensible à l'hygrométrie, aux phéromones, au CO₂, aux métabolites exhalés par les ruminants, à l'acide lactique, etc. Il permet notamment de localiser les hôtes.

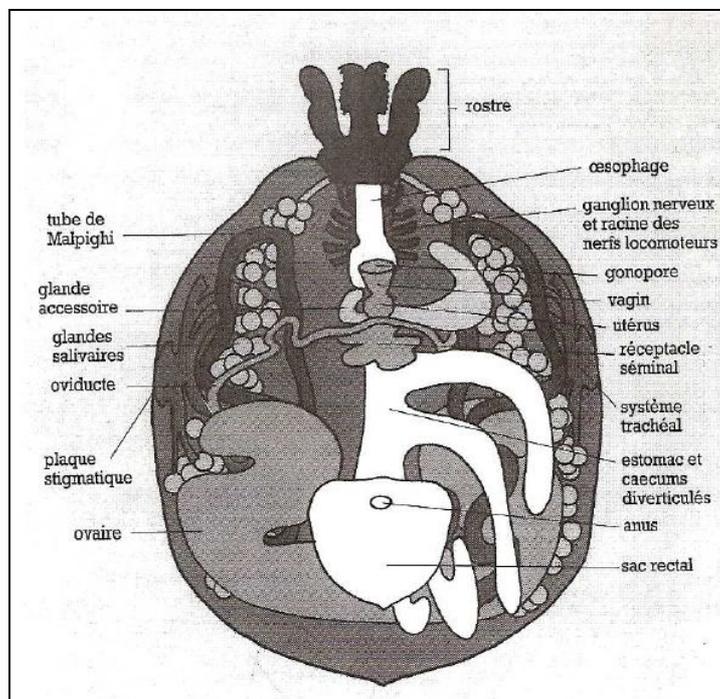
Figure 11 Représentation schématique de l'organe de Haller (PEREZ, 2007)



2. Anatomie

Nous ne décrivons ici que l'appareil digestif et l'appareil génital femelle car tous deux jouent un rôle important dans l'entretien du cycle et dans la transmission des *Babesia* (figure 12).

Figure 12 Schéma anatomique d'une tique femelle (vue ventrale) (BOURDEAU, 1993)



a) Appareil digestif

Le tube digestif est constitué d'une bouche qui s'ouvre au dessus de l'hypostome, d'un pharynx musculueux, d'un œsophage court et fin, d'un estomac d'où partent des culs de sac correspondant à des caecums digestifs (ou intestin moyen), et enfin d'un rectum et d'un anus non fonctionnel.

A ce tube digestif, sont annexées deux glandes salivaires allongées de part et d'autre du corps de la tique. Elles sont formées de plusieurs types d'acini, eux mêmes constitués de plusieurs types de cellules à granules. Le canal excréteur de chaque glande débouche dans un réservoir situé au dessus du pharynx, le salivarium, d'où la salive est inoculée à l'hôte vertébré par un orifice unique aboutissant à la bouche. Chez la tique infectée, la salive est très riche en éléments parasites et est la seule matière infestante.

b) Appareil génital femelle

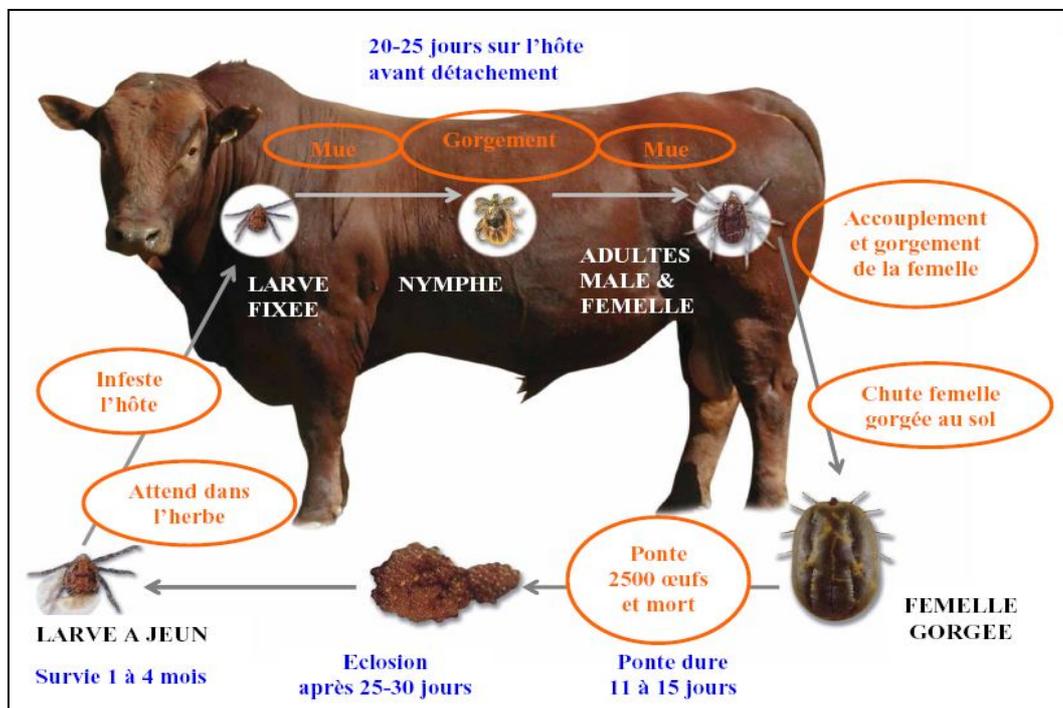
La femelle possède un ovaire tubuleux en fer à cheval, et deux oviductes longs et sinueux en contact étroit avec les caecums. Ce contact facilite le passage des piroplasmes ingérés par la tique de l'intestin vers l'oviducte. Ce passage permet une contamination de l'ovaire et ainsi la transmission du parasite aux descendants de la tique. La transmission trans-ovarienne et trans-stadiale (absente pour *B. bovis*) permettent la survie des *Babesia* dans les populations de tiques pendant plusieurs générations.

E. Cycle

Boophilus microplus est une tique monoxène, c'est-à-dire qui ne se fixe que sur un seul hôte au cours de son cycle. Chaque cycle comporte trois stades après l'œuf : larve, nymphe, adulte sexué (figure 13).

Le cycle comporte deux phases : une phase parasitaire, fixée sur l'hôte et qui dure de 20 à 25 jours, et une phase libre dans le milieu extérieur, beaucoup plus longue (de 3 à 6 mois environ).

Figure 13 Cycle de la tique *Rhipicephalus microplus* (BARRE, 2010)



La **larve** issue de l'œuf est minuscule, brun clair brillant lorsqu'elle est dans la végétation, plus sombre après son repas sanguin. Elle est dotée de trois paires de pattes. Elle peut être libre dans la végétation (figure 14) ou fixée sur l'hôte pour un premier repas sanguin à la suite duquel la larve mue en nymphe, sans se détacher de l'hôte.

Figure 14 Larves de *R. microplus* à l'affût d'un hôte (BARRE, 2010)



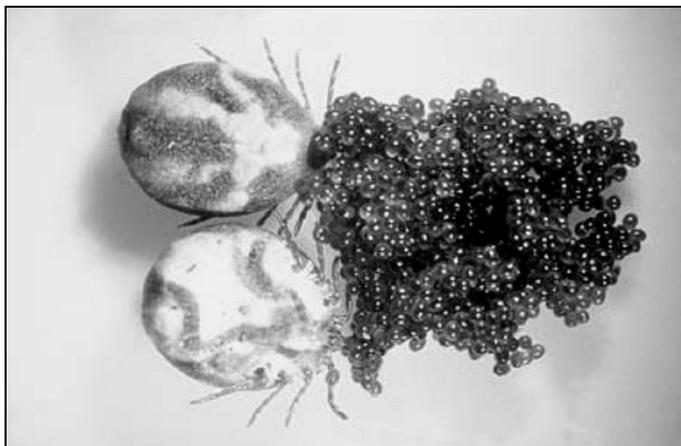
La **nymphe** possède comme les adultes quatre paires de pattes. Ce stade ne se trouve que sur l'hôte. Après son repas sanguin, la nymphe mue à son tour en adulte, toujours sans se détacher de l'hôte.

La tique **adulte** est bien visible sur l'hôte en raison d'une taille plus importante. Ce stade est sexué et présente un dimorphisme sexuel. Les mâles sont de teinte rougeâtre et les femelles brun clair puis gris foncé une fois gorgées. Mâles et femelles s'accouplent sur l'hôte après un petit repas sanguin. Le mâle y reste fixé pour d'autres accouplements, alors que la femelle complète son repas sanguin avant de se détacher de l'hôte pour pondre dans l'environnement.

La femelle peu mobile, ne peut se déplacer que de quelques dizaines de centimètres (jusqu'à 1 à 2 mètres, au maximum), voire moins si elle tombe sur un milieu favorable (par exemple le sol frais et ombragé d'une prairie avec de l'herbe haute et dense). Elle pénètre alors dans la couche superficielle du sol, sous la litière, à la base d'une touffe d'herbe et ne bouge plus. Si elle tombe sur un sol nu, elle meurt rapidement par l'action du soleil et de la dessiccation.

Après trois à quatre jours la femelle commence à pondre, pendant 11 à 15 jours, des **œufs** rougeâtres, très petits ($4,4 \cdot 10^{-5}$ g), formant entre eux un paquet compact (2 600 à 3 000 œufs selon le poids initial de la femelle) (figure 15). Au fur et à mesure de la ponte la femelle s'aplatit puis meurt. L'incubation dure de 20 à 25 jours et les premières larves éclosent 25 à 30 jours après la chute de la femelle.

Figure 15 Femelles et œufs de *R. microplus* (face dorsale et ventrale) (BOCK, 2004)



Les femelles sont dotées d'une excellente capacité reproductive. En moyenne 56% du poids de la tique est converti en œufs (expérience réalisée sur 172 femelles placées en conditions optimales de développement : 22-27°C, humidité relative 85%). L'éclosabilité des œufs en larves est estimée à 88% en moyenne (même expérience).

Ainsi, pour un troupeau de cent vaches peu infestées, si chacune libère environ dix femelles gorgées chaque jour sur le pâturage, ce sont de 2 à 3 millions de larves qui seront produites quotidiennement. Et ce chiffre peut être multiplié par 10 ou 20 dans un troupeau fortement infesté, avec un effet cumulatif des éclosions de larves sur le pâturage si la chute des femelles est continue (BARRE, 2010).

Enfin, les larves écloses peuvent se déplacer sur le pâturage jusqu'à 30 mètres en milieu favorable. Leur persistance dans l'environnement est de 3 à 6 mois en Nouvelle-Calédonie selon la saison, mais des durées supérieures ont pu être observées (jusqu'à 1 à 2 ans).

F. Hôtes et localisation

1. Espèces hôtes

R. microplus, plus communément appelée « tique du bétail » est bien nommée. En effet elle n'accomplit correctement son cycle que sur des **bovins** de race taurine (*Bos taurus*) et partiellement sur les zébus (*Bos indicus*).

Tout comme le zébu, le **cerf** est naturellement réfractaire aux tiques. Ils peuvent cependant l'un et l'autre être fortement infestés dans des situations physiologiquement éprouvantes. L'abondance des cerfs et leur infestation occasionnelle sont parmi les raisons qui rendent impossible une éradication de la tique en Nouvelle-Calédonie.

Les **chevaux**, surtout s'ils pâturent sur des parcelles où ont séjourné des bovins infestés, peuvent être fortement parasités par des larves et présenter alors des dermatites inflammatoires parasitaires. Il est rare par contre que le cycle parasitaire aille jusqu'au stade de femelles gorgées, sauf en situation de stress de l'hôte.

Ni les **petits ruminants**, ni le **chien** ni l'**Homme** ne sont des hôtes favorables à *R. microplus*. Quelques individus (larves, mâles), peuvent occasionnellement se fixer, mais n'accomplissent pas un cycle complet.

2. Localisation sur l'hôte

Les tiques se fixent, en général, sur les zones à peau fine. Le site de fixation est donc en partie déterminé par les possibilités de pénétration du rostre.

Larves, nymphes et adultes se fixent sur tout le corps avec cependant des zones préférentielles propres aux *Rhipicephalus* décrites par MACLEOD en 1977 et DE LA VEGA en 1984, en particulier l'avant du corps : 28% des femelles sont au niveau du cou, 18% sur les épaules, 14% sur le ventre, 9% sur le fanon et 7% sur la tête (figure 16) (BARRE, 2010).

Figure 16 Infestation massive d'un bovin, par *R. microplus* (BARRE, 2010)



(Tête)



(Périnée)

L'observation attentive de ces sites fournit à l'éleveur de bovins un indicateur du niveau d'infestation de son troupeau. Il est cependant plus facile et sécuritaire d'examiner au couloir le périnée des animaux pour évaluer leur degré d'infestation et décider de l'opportunité d'un « traitement à vue » (BIANCHI, 2003).

G. Nutrition

Les tiques sont des arthropodes hématophages stricts. Seules se nourrissent de sang les larves, les nymphes et les femelles adultes fécondées (hématophagie de ponte). Les mâles, selon le genre, se fixent très peu et ne se nourrissent pas de sang ou alors en très faible quantité. Il est à signaler aussi que la copulation a lieu pendant le repas de sang et en conditionne la fin.

Les repas sanguins fournissent l'énergie et les nutriments nécessaires aux mues, à l'accouplement (plusieurs possibles pour le mâle) et enfin à la ponte. Le repas de sang est progressif pour les trois stades fixés sur l'hôte. Pour la femelle, il est rapide et intense dans les dernières heures du repas, la rendant alors bien visible sur l'hôte (BARRE, 2010).

1. Fixation

La fixation est assurée par les griffes des pattes et les chélicères. C'est avec ces dernières que la tique exerce une traction épidermique centrifuge. Aidées par la sécrétion salivaire qui permet le ramollissement et la digestion des tissus au point de lésion, les chélicères provoquent une effraction tégumentaire dans laquelle va s'engager l'hypostome.

La seconde phase de fixation consiste en la sécrétion d'un ciment. Il est formé à partir d'une sécrétion salivaire blanchâtre, initialement fluide, qui se solidifie en manchon hyalin de structure lamellaire et concentrique, et scelle l'encastrement de l'hypostome. Cette substance permet une fixation très solide de la tique tout en la protégeant contre les réactions inflammatoires de l'hôte. Elle préserve également l'intégrité du site de fixation des actions lytiques de la salive. Ce phénomène parasitaire original n'est observable, outre chez les tiques, que chez les larves de Trombiculés (aoûtats) (PEREZ, 2007).

2. Gorgement

Le gorgement proprement dit intervient rapidement après la fin de la fixation, par alternance de courtes périodes de succion et de sécrétion salivaire, cette dernière favorisant la concentration des éléments nutritifs du sang.

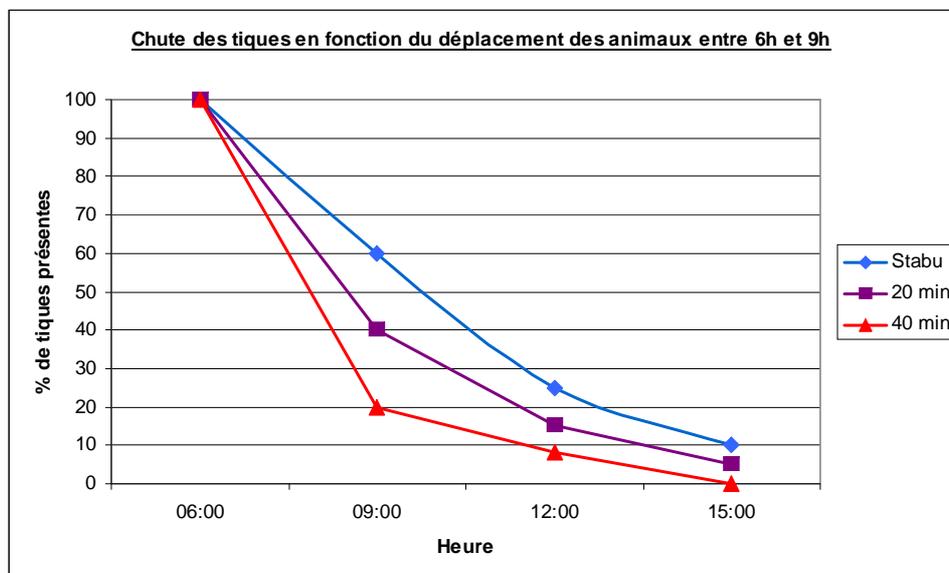
Le repas de sang comporte deux phases : une phase de gorgement lent et progressif, au cours de laquelle les femelles sont fécondées, puis une phase rapide qui dure généralement 1 à 3 jours, au cours de laquelle la tique grossit considérablement.

Un double mécanisme de déploiement et de synthèse cuticulaire a lieu pendant la phase de gorgement lent. C'est à la fin de la phase de gorgement rapide que les germes pathogènes sont généralement inoculés, lorsque les régurgitations par sécrétions salivaires sont très importantes (PEREZ, 2007).

3. Détachement

La femelle accomplit l'essentiel de son repas au cours de la dernière nuit sur l'hôte avant de se détacher au matin. Les femelles gorgées sont donc bien visibles sur les bovins tard dans la nuit et ce jusqu'au la fin de matinée suivante. La littérature décrit un pic de détachement d'environ 30% des femelles gorgées entre 6h00 et 10h00 du matin. Par ailleurs, ce détachement est d'autant plus rapide et important que les animaux sont en mouvement et que les bovins sont exposés à la lumière du jour (impact de la température, lumière, couverture végétale, etc.) (BIANCHI, 2003).

Figure 17 Impact de la marche sur le détachement des femelles gorgées de *R. microplus*



Une expérience conduite en Nouvelle-Calédonie (figure 17) a montré que l'activité (20 minutes de marche) des bovins au petit matin favorisait un pic de détachement des tiques gorgées à la fois plus précoce et plus abondant. Le niveau d'infestation du bétail ainsi manipulé est jusqu'à quarante fois inférieur à celui d'un lot témoin resté parqué depuis la veille et proportionnel à la durée de marche réalisée (BIANCHI, 2003).

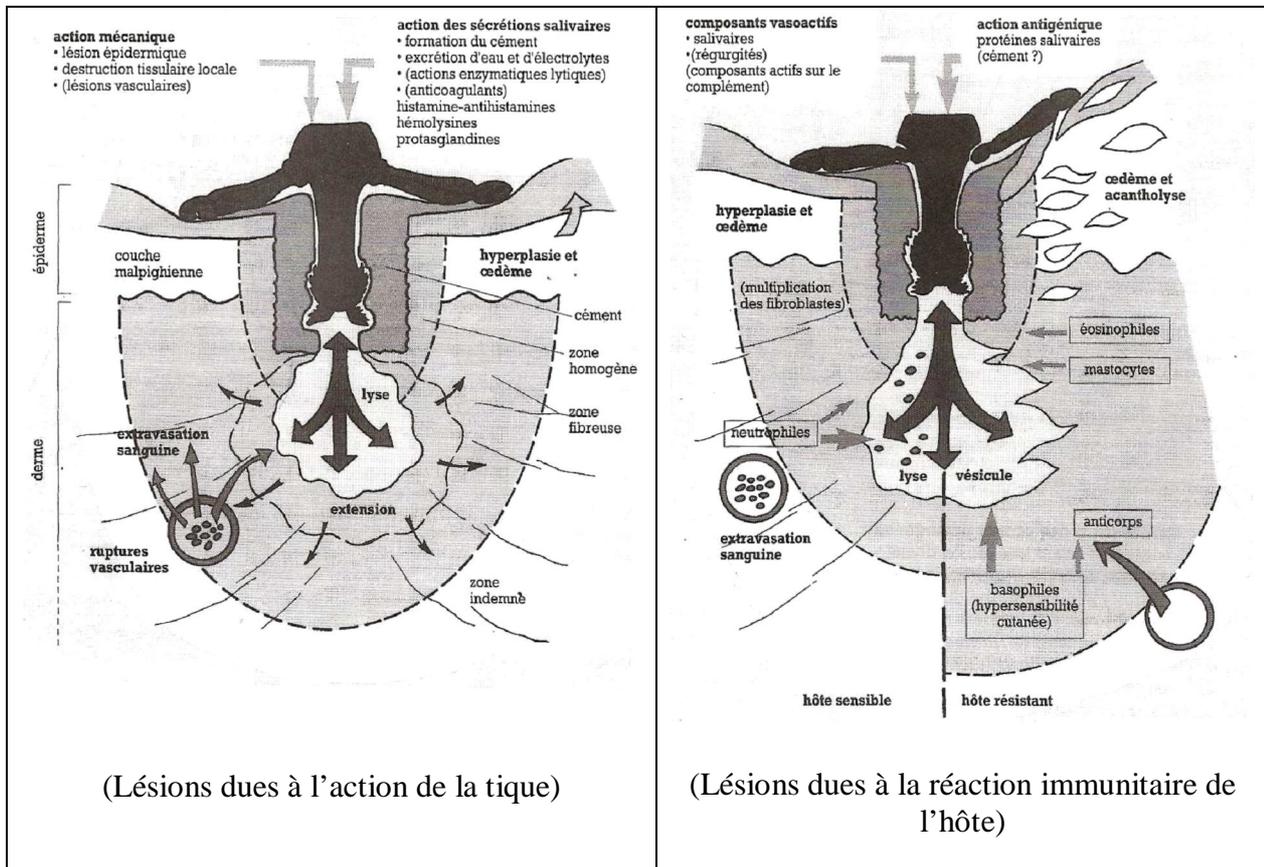
Ces particularités présentent notamment un intérêt à la fois pour la récolte de femelles gorgées (en vue de tests de résistance aux acaricides), mais surtout dans la démarche de lutte contre les tiques (choix des moments de traitement aux acaricides) et du niveau d'infestation des pâturages (stratégies de conduite de troupeau). Cette mesure simple a par ailleurs été récemment proposée en élevage laitier de Nouvelle-Calédonie, en réponse à une résistance aux acaricides (communication personnelle, Dr T. HÛE, IAC).

H. Pouvoir pathogène

1. Pouvoir pathogène direct

Il tient à l'effet de la pique qui provoque inflammation, spoliation sanguine, intoxication. Le rostre pénètre lentement dans la peau par le jeu combiné des pièces buccales et de la salive. Au cours du repas, la tique aspire du sang et injecte diverses substances contenues dans la salive. Celles-ci ont des propriétés anti-inflammatoires, anticoagulantes, toxiques, immuno-modulatrices et lytiques (figure 18) (PEREZ, 2007).

Figure 18 Modifications lésionnelles au niveau du site de fixation (BOURDEAU, 1993)



La spoliation sanguine peut être importante, notamment lors des périodes de pullulation des adultes : une femelle gorgée à la fin de son repas a prélevé 3 à 7 fois son poids en sang soit 0,5 à 1,5 g pour *R. microplus*. Un bovin infesté en continu par 250 femelles de *R. microplus* (niveau d'infestation élevée mais non exceptionnelle) perd 0,2 à 0,4 litres de sang par jour.

Lors de fortes infestations (dues à des conditions climatiques, physiologiques ou pathologiques propices) les animaux parasités présentent des syndromes d'intoxication. Ils répugnent à se déplacer, présentent de l'anémie, des œdèmes, ils salivent et ont une respiration accélérée.

Des lésions cutanées d'inflammation (rougeur, œdème) font place à des dépilations étendues accompagnées de nécrose, d'hyperkératose et de desquamation qui peuvent se compliquer d'une dermatophilose (*Dermatophilus congolensis*). Des plaies sanguinolentes, compliquées d'abcès, apparaissent sur les zones les plus atteintes.

Dans cet état l'animal est affaibli et moins vif, il perd l'appétit, maigrit et meurt si l'infestation est importante et perdure.

Chez les hôtes de moindre sensibilité, les réactions tissulaires sont fortes et précoces et sont caractéristiques de réactions allergiques d'hypersensibilité cutanée. Elles ont pour conséquence la gêne ou l'impossibilité pour la tique d'accomplir son repas, aboutissant au rejet des tiques nouvellement fixées (BARRE, 2010).

2. Pouvoir pathogène indirect

La tique étant un ectoparasite hématophage, les effets pathogènes indirects résultent donc de la transmission par inoculation d'agents infectieux (virus, bactéries, hémoparasites) contenus dans les glandes salivaires au moment de la piqûre, lorsque la tique injecte un peu de salive (MASLIN *et al.*, 2004 ; BARRE, 2010).

Parmi les pathogènes transmis aux bovins par *R. microplus*, on relève principalement *B. bovis*, l'agent de la babésiose tropicale, *B. bigemina*, celui de la piroplasmose tropicale, et *Anaplasma marginale* responsable de l'anaplasmose.

HOWELL, a évalué en 2006 l'efficacité d'acquisition de *B. bovis* par la tique femelle *R. microplus* au cours de son repas sanguin sur des bovins en phase parasitémique aiguë. Cette étude confirme que les quantités de babésies mesurées dans l'hémolymphe des femelles gorgées sont corrélées positivement au niveau de parasitémie des bovins infestés. Par contre, le niveau d'infection par *B. bovis* des femelles gorgées n'impacte pas sur la proportion de larves infectées auxquelles la tique donne naissance (proportion estimée entre 12 et 48%). Il semble même que les femelles les plus infectées par *B. bovis* donnent naissance à de plus faibles proportion de larves infectées, laissant supposer qu'une charge importante en babésies impacte sur la biologie de *R. microplus* (ponte moins abondante, mortalité accrue des larves, difficultés d'attachement des larves sur l'hôte, etc.).

3. Réponse immunitaire

a) Non spécifique

Lors de la première infestation (hôte sensible), les modifications tissulaires sont faibles, la vasodilatation et la rupture des vaisseaux prédominent. Le phénomène principal est alors l'infiltration de granulocytes neutrophiles autour du point de fixation et des capillaires, dont les enzymes (collagénases, protéases...) provoquent des nécroses caractéristiques.

S'y ajoute une réaction inflammatoire produite par chimiotactisme indirect par les protéines salivaires (figure 18) : effet chimiotactique indirect par clivage d'une fraction du complément qui stimule l'attraction des neutrophiles vers le point d'inoculation. Cette inflammation produit des vasodilatations, ruptures vasculaires et plaques hémorragiques. De plus, un œdème d'importance variable envahit le derme et l'épiderme.

Ainsi, *R. microplus* induit une réponse immunitaire chez son hôte bovin qui se manifeste par une dégranulation des mastocytes, une infiltration et une concentration des éosinophiles au site d'attache, ainsi qu'une production en anticorps vis-à-vis des antigènes de la tique. Ces observations suggèrent une réaction de type hypersensibilité immédiate à l'infestation (INOKUMA *et al.*, 1993).

La salive est également douée de propriétés antigéniques importantes. Ainsi, lors d'un second contact, les réactions tissulaires sont plus violentes et plus précoces, dominées par la manifestation d'un oedème d'emblée important dans l'épiderme et le derme, accompagné d'infiltrations à éosinophiles et basophiles (figure 18). Les dégénérescences cellulaires et nécroses tissulaires sont rapides et étendues, mais s'accompagnent de peu de ruptures capillaires. Les vésicules apparaissent très tôt.

Le gorgement de la tique est parfois empêché ou diminué, celle-ci peut tomber à cause de la nécrose cutanée au point de fixation, la ponte ou la viabilité des oeufs peuvent être dégradées et, très rarement, la tique peut mourir. En ce qui concerne l'hôte, une réaction granulomateuse chronique évolue parfois au point de fixation. Une autre conséquence est l'établissement d'un degré variable

de résistance. En effet, au fur et à mesure des réinfestations, un certain degré de résistance peut s'établir, limitant parfois considérablement la charge parasitaire tolérée. La sélection d'animaux résistants figure donc parmi les stratégies de contrôle des tiques.

Enfin, le phénomène de grattage joue également un rôle important dans l'élimination des tiques par l'hôte. En effet les bovins *Bos taurus* résistants à *R. microplus* rejetteraient ainsi 10% à 50% des larves dans les 24h qui suivent leur infestation. Cette réponse, apparaît rapidement après l'attache de la tique sur l'hôte, peut durer 4 à 5h et est reliée à la concentration en histamine au niveau du site de fixation (médiateur chimique de la douleur cutanée) (WILLADSEN, 1997).

b) Spécifique

Les tiques libèrent des antigènes à leur point d'attache, via les composants de leur salive. Les cellules de Langerhans captent ces antigènes, et jouent, au niveau du nœud lymphatique drainant la zone de pique, le rôle de cellules présentatrices d'antigène aux lymphocytes, induisant la production d'anticorps circulants, la production d'interleukine de type 2 et d'interféron gamma par les lymphocytes T, et donc une polarisation de type Th1 de la réponse immunitaire.

L'interféron gamma et les complexes antigènes/anticorps fixés sur les récepteurs Fc des basophiles induisent une réponse d'hypersensibilité cutanée basophile.

Les antigènes induisent l'activation de la voie alterne du complément et la formation des composés C3a et C5a responsables de la dégranulation des mastocytes et des basophiles, ainsi que du relargage de facteurs chimiotactiques attirant les éosinophiles et permettant la libération et la concentration de l'histamine au site d'attache de la tique (WIKEL *et al.*, 1994).

4. Moindre sensibilité de l'hôte

a) Expression macroscopique

R. microplus n'accomplit correctement son cycle complet que chez le bovin d'espèce taurine européenne (*Bos taurus*). En effet, celui-ci ne développe pas de réaction immunitaire suffisante pour empêcher la fixation et le gorgement des différents stades de la tique. Même sur un bovin adulte ayant été soumis toute sa vie durant à des infections répétées, la tique accomplit son cycle à la différence du zébu (*Bos indicus*) qui n'est pleinement sensible qu'à la première infestation de tiques. Il produit des femelles parfaitement gorgées pendant quelques semaines, le temps de développer une réaction efficace. Ensuite il n'est pratiquement plus parasité par les tiques (et plus du tout par les femelles gorgées), bien que placé dans des conditions identiques à un taurin (BARRE, 2010).

Parmi les zébus, globalement résistants, on retrouve une petite proportion d'individus relativement sensibles aux tiques. A l'inverse, parmi les taurins, certains individus sont résistants. Ce caractère, transmissible, peut être utilisé comme critère de sélection (BARRE, 2010).

b) Mécanismes immunitaires

Le degré de résistance de *Bos taurus* à *R. microplus* est notamment corrélé au nombre d'éosinophiles et à leur dégradation au site d'attache de la larve. Il est donc clair que les éosinophiles, basophiles et les mastocytes jouent un rôle important, en particulier par l'apport en histamine au niveau du site lésionnel.

Chez les bovins résistants à *R. microplus*, on note une accumulation de lymphocytes et de leucocytes polynucléaires (principalement des éosinophiles) mais également de mastocytes au niveau du site d'attache de la tique. Les molécules relarguées par les basophiles, éosinophiles et mastocytes influencent la physiologie des tiques, génèrent des lésions cellulaires ainsi que des modifications comportementales (WILLADSEN, 1997 ; FRAGOSO *et al.*, 1998).

Enfin, les troupeaux résistants à *R. microplus* ont un taux significativement plus élevé en histamine que les troupeaux sensibles et la concentration cutanée en histamine est directement corrélée au niveau de résistance exprimée par les bovins. Des essais *in vitro* suggèrent que cette dernière inhibe la salivation et le gorgement des larves de *R. microplus* (WIKEL, 1999).

I. Impact économique

1. Mondial

La tique *R. microplus* cause de lourdes pertes économiques dans la plupart des agrosystèmes tropicaux, du fait notamment de succès d'invasion et d'adaptation à de nouvelles conditions biotiques et abiotiques ainsi que de l'absence de réponse immunitaire efficace de races européennes de *Bos taurus* introduites (CHEVILLON *et al.*, 2007).

Diverses observations ont été conduites en Australie pour mesurer l'impact économique direct des tiques (hors maladies transmises). Les animaux parasités manifestent surtout un manque d'appétit. Il a été estimé que 60 à 75% des effets délétères de *R. microplus* sont dus à l'anorexie de l'animal infesté. La chute de poids est d'autant plus intense que le métabolisme est élevé. L'effet des tiques ne suit donc pas une relation linéaire dose-effet, mais dépend notamment de l'état nutritionnel de l'hôte, de sa race et de la saison (BARRE, 2010).

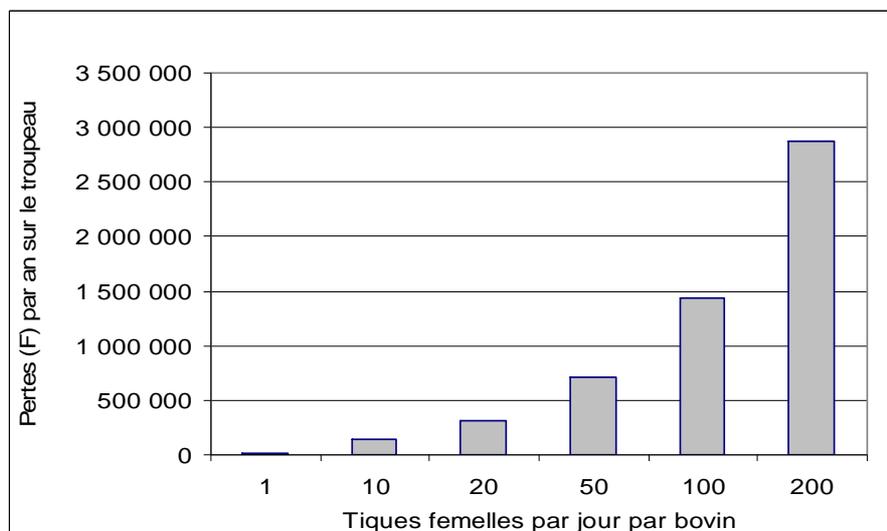
Il est toutefois difficile de chiffrer les pertes économiques dues à l'impact direct de *R. microplus*, car dans la plupart des pays où la tique est présente, elle est accompagnée de son cortège de maladies (babésiose à *B. bovis* et/ou à *B. bigemina*, anaplasmose à *A. centrale*). L'évaluation de l'impact économique sera donc exprimée de façon globale dans le paragraphe dédié à l'importance de la babésiose à *B. bovis*.

2. En Nouvelle-Calédonie

Une expérimentation menée en Nouvelle-Calédonie a permis d'établir que selon une échelle d'infestation de 1 (pas de tique) à 5 (animaux très infestés) par des femelles gorgées de *R. microplus* de veaux au sevrage, le gain moyen quotidien (GMQ) passait de 0,96kg à 0,73kg.

Les pertes en équivalent poids vif ont été estimées en utilisant des valeurs moyennes de perte de poids vif par femelle de tique observées en Nouvelle-Calédonie : à savoir 1g pour un jeune bovin en croissance et 0,5g pour un animal adulte (figure 19). Elles vont de 1200 euros/an (6 euros/bovin) si la charge de tique est faible (10 femelles gorgées / jour) à 12 000 euros/an (60 euros/bovin) si elle est élevée (100 femelles gorgées / jour) (BARRE, 2010).

Figure 19 Pertes annuelles selon le niveau d'infestation par *R. microplus* (BARRE, 2010)



Estimation des pertes en équivalent poids-vif dans un troupeau calédonien de 200 têtes, en l'absence de traitement acaricide, avec prise en compte de la perte de GMQ uniquement à l'exclusion des pertes dues aux avortements et mortalités.

J. Tiques de Nouvelle-Calédonie

1. Espèces présentes

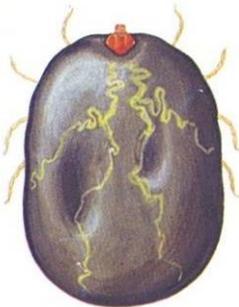
En Nouvelle-Calédonie, il n'existe que trois espèces de tiques indigènes. Deux Ixodidés : *Amblyomma laticaudae* parasite de serpents marins, *Amblyomma locolosum* parasite d'oiseaux marins et une Argasidé : *Alectorobius capensis* également parasite d'oiseaux marins.

Les tiques de mammifères ont été introduites par l'Homme, en même temps que leurs hôtes. Trois espèces supplémentaires d'Ixodidés ont ainsi été introduites sur la Grande Terre (les îles Loyauté et l'île des Pins étant demeurées indemnes) (BARRE, 2010) :

- *Rhipicephalus sanguineus*, avec pour hôtes les carnivores domestiques, introduite très précocément, sans doute de France métropolitaine ;
- *Haemaphysalis longicornis*, avec pour hôtes les bovins, chevaux, chiens, cerfs et oiseaux, introduite d'Australie et/ou de Nouvelle-Zélande par l'importation de ses hôtes ;
- *Rhipicephalus microplus*, se gorgeant sur les bovins, cerfs et chevaux, originaire d'Asie, introduite par les Américains au cours de la deuxième Guerre Mondiale sur des chevaux et mules importés d'Australie.

Il est donc possible en Nouvelle-Calédonie d'observer deux tiques sur le bétail, mais si les effets pathogènes directs et indirects de l'une sont conséquents, l'autre a très peu d'impact (figure 20).

Figure 20 Particularités des tiques infestant le bétail en Nouvelle-Calédonie (BARRE, 2010)

<i>Rhipicephalus microplus</i>	<i>Haemaphysalis longicornis</i>
	
<p>Diagnose</p> <ul style="list-style-type: none"> - Se déplace assez lentement - Corps allongé sub-rectangulaire gris-beige - Pattes couleur crème, assez courtes ; large espace entre la première paire et le rostre - Scutum en losange allongé - Rostre court, cylindrique 	<p>Diagnose</p> <ul style="list-style-type: none"> - Se déplace assez rapidement - Corps ovale, presque rond, gris sombre - Pattes sombres, rougeâtres, assez longues, la première paire près du rostre - Scutum en forme de disque - Rostre court, triangulaire
<p>Cycle</p> <ul style="list-style-type: none"> - Des mâles et des femelles - Un seul hôte de la larve à la femelle gorgée 	<p>Cycle</p> <ul style="list-style-type: none"> - Femelles parthénogénétiques uniquement - Trois hôtes différents (1 / stade)
<p>Durée de la vie parasitaire</p> <ul style="list-style-type: none"> - 21 jours de la larve à la femelle 	<p>Durée de la vie parasitaire</p> <ul style="list-style-type: none"> - Environ 7 jours pour chacun des stades
<p>Hôtes</p> <ul style="list-style-type: none"> - Bovins, parfois cerfs, chevaux 	<p>Hôtes</p> <ul style="list-style-type: none"> - Bovins, chevaux, chiens, cerfs, oiseaux
<p>Pouvoir pathogène</p> <ul style="list-style-type: none"> - Elevé lors de forte infestation - Vecteur exclusif de <i>B. bovis</i> et <i>B. bigemina</i> 	<p>Pouvoir pathogène</p> <ul style="list-style-type: none"> - Faible à nul ; infestation rarement massive - Vecteur de <i>Theileria</i> responsables d'une theilériose bénigne (<i>T. buffeli/orientalis</i>)

2. Particularités d'introduction

A la différence de l'Australie et des pays d'élevage où la tique a été transportée, la Nouvelle-Calédonie est un cas exceptionnel où la tique *R. microplus* a été introduite sans son cortège d'hémoparasites pathogènes (BARRE, 2010).

En effet, le territoire néo-calédonien était indemne de la « tique du bétail » jusqu'à la Seconde Guerre Mondiale où des milliers de mules et de chevaux ont été importés du Queensland (Australie) en participation à l'effort de guerre (RAGEAU et VERVENT, 1959; BENNETT, 2004). Les tiques introduites indemnes de *Babesia* et d'*Anaplasma*, ont créé une situation inhabituelle dans laquelle la tique vectrice était présente sans les maladies qu'elle transmet généralement (UILENBERG, 1992). Cependant, les races de bétail locales, d'origine européenne (principalement Limousin, Hereford et Charolais), sont particulièrement sensibles aux effets pathogènes directs de la tique lors d'infestations fortes et persistantes.

Les éleveurs calédoniens ont donc établi des programmes de lutte contre la tique, dont l'efficacité a été souvent compromise par le développement de résistances aux acaricides (BEUGNET et CHARDONNET, 1995; DUCORNEZ *et al.*, 2005).

K. Lutte contre les tiques

La lutte contre les tiques inclut la lutte chimique (application d'acaricides sur les animaux), la lutte agronomique (rotation de pâturage, gyrobroyage, charge à l'hectare, mise en défens de parcelles, etc), la lutte génétique (utilisation de races de moindre sensibilité), la lutte biologique, etc.

En effet, si l'emploi d'acaricides reste actuellement le moyen de lutte le plus utilisé, cette méthode est limitée par le développement de résistances vis-à-vis des molécules disponibles. La mise au point de nouveaux acaricides reste insuffisante car la résistance peut apparaître au bout de cinq années d'utilisation environ. En effet, la plupart des acaricides ont une rémanence limitée, imposant un usage répété (WILLADSEN, 1997).

Enfin, ces molécules sont à l'origine d'une pollution de l'environnement et le risque de présence de résidus dans l'alimentation humaine est non négligeable. Par ailleurs, elles affectent également des espèces non cibles, présentes dans l'environnement (FRISCH, 1999), et présentent un coût élevé (DE CASTRO *et al.*, 1993).

Les acaricides n'offrent donc pas de solution à long terme et l'utilisation de méthodes de lutte alternatives est de plus en plus fréquente (FRISCH, 1999). Ces modalités de lutte ne seront pas détaillées dans ce document. Toutefois les méthodes employées en Nouvelle-Calédonie seront évoquées en deuxième partie de document, dans le chapitre correspondant.

III. La babésiose bovine à *Babesia bovis*

A. Définition

La babésiose bovine tropicale est une protozoose infectieuse, due à l'hémoparasite *Babesia bovis*, inoculable principalement par la tique dure *Rhipicephalus microplus*, non contagieuse entre bovins, et responsable d'un syndrome fébrile hémolytique pouvant s'accompagner de manifestations atypiques associées à des phénomènes d'ischémie viscérale consécutifs à l'adhérence à l'endothélium vasculaire d'amas d'érythrocytes parasités (EUZEBY, 2005).

B. Importance de la parasitose

La babésiose bovine est mondialement la plus importante des parasitoses du bétail transmise par un arthropode vecteur et figure à ce titre parmi les maladies listées par l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (CFSPH, 2008 ; OIE, 2008). Son importance est principalement économique si l'on considère les pertes pour le cheptel bovin, qui sont considérables dans les pays en développement touchés par *B. bovis* et *B. bigemina*, mais également épidémiologique par le rôle de réservoir joué dans certains cas par les animaux sauvages (MASLIN *et al.*, 2004).

En effet, elle peut être responsable d'une grande morbidité en zone d'enzootie ainsi que de mortalités possibles sur les individus issus de régions indemnes et introduits en zone d'enzootie (50% ou plus, en l'absence de traitement). Il en résulte notamment une très grande difficulté pour l'amélioration des races rustiques locales par croisement avec des reproducteurs de races améliorées, importées (EUZEBY, 1988).

Les 1,4 milliard de bovins (FAO-STAT 2009) présents dans le monde sont pour la plupart exposés aux babésioses, mais ce chiffre n'est pas un reflet fidèle du nombre d'animaux présentant un risque de maladie. Les races de bovins indigènes aux régions enzootiques de *Babesia* ont souvent un certain degré de résistance naturelle à la maladie et les conséquences d'infections ne sont pas aussi graves que lorsque des races taurines exotiques sont impliquées. En outre, dans les régions tropicales avec une population importante de tiques vectrices, l'exposition naturelle survient généralement à un âge précoce et le bétail est donc protégé face à des infestations ultérieures à l'âge adulte (BOCK, 2004).

Les coûts associés à la maladie sont dus à la mortalité, à la morbidité, aux avortements, aux pertes en production laitière et bouchère, au coût du diagnostic vétérinaire, aux mesures de contrôle (traitements acaricides, vaccins et traitements babésicides, aux restrictions des déplacements du bétail), mais également à l'impact de la babésiose sur le commerce international de bovins (BOCK, 2004 ; BOCK, 2006 ; JONSSON, 2008). Le coût annuel des maladies à tiques en Australie (babésioses et anaplasmose) a été estimé à plus de 19 millions d'euros (d'après SACKETT et HOLMES, 2006 dans JONSSON, 2008).

MCLEOD et KRISTJANSON ont développé en 1999 un modèle de feuille de calcul (« Tick Cost ») permettant d'évaluer l'impact global des tiques et des agents pathogènes vectorisés par les tiques. Ils ont calculé que les pertes et le contrôle de la babésiose et de l'anaplasmose coûtent annuellement à l'industrie bovine australienne 11,7 millions d'euros, avec une perte annuelle associée à l'impact

direct des tiques (spoliation sanguine, etc.) de 4,4 millions d'euros. Ce modèle a également estimé que les pertes et le contrôle des babésiose et anaplasmose au Kenya, au Zimbabwe, Tanzanie, Afrique du Sud, Chine, Inde, Indonésie et Philippines coûtait respectivement 3,5; 3,7 ; 4,7 ; 14,9 ; 13,4 ; 39,5 ; 2,1 et 0,4 millions d'euros (BOCK, 2004).

Cependant, autant il est possible d'estimer le coût annuel de la babésiose pour une région donnée, autant il n'est pas possible de prédire avec précision les effets de la babésiose pour un élevage donné sur une année donnée en raison de la complexité des interactions entre climat, gestion des tiques, gestion du bétail, races de bovins et populations de tiques. Par ailleurs les observations faites par SACKETT et HOLMES en 2006 dans le Queensland montrent que dans des zones enzootiques il peut ne pas y avoir de maladie pendant de nombreuses années, puis subitement l'apparition de foyers majeurs responsables de pertes considérables, en raison de changements climatiques, d'introduction d'animaux de race ou de génotype sensible (JONSSON, 2008).

C. Epidémiologie

1. Distribution géographique

La babésiose à *B. bovis* est rencontrée mondialement dans les régions tropicales et sub-tropicales où à la fois le parasite *B. bovis* et les tiques vectrices *R. microplus* et *R. annulatus* sont présents (BOCK, 2006). Le détail des distributions géographiques du parasite et de son vecteur sont détaillées dans les parties correspondantes de ce document (p7 et p14).

2. Espèces sensibles

L'espèce *B. bovis* affecte les **bovins** (*Bos taurus*, et dans une moindre mesure *Bos indicus*), mais également, sous certaines latitudes les **buffles d'eau** (*Bubalus bubalis*), les **buffles africains** (*Syncerus caffer*) ou - découvert plus récemment - le **cerf à queue blanche du Mexique** (*Odocoileus virginianus*). Toutefois les autres espèces que les bovins sont considérées comme d'importance épidémiologique mineure (CFSPH, 2008).

Tout comme leur résistance relative aux piqûres de tiques, les bovins de type *Bos indicus* en race pure mais également en race croisée présentent une résistance relative à la babésiose elle-même avec à la fois une moindre séroprévalence et un nombre plus faible de cas cliniques que chez des bovins de type *Bos taurus*. La prévalence de l'infection et l'apparition de cas cliniques résultent en effet d'interactions hôte-vecteur-parasite complexes dont résultent une élimination rapide du parasite par les bovins *Bos indicus* et une réduction subséquente de leur niveau en anticorps (JONSSON, 2008). Les races de type *Bos indicus* montreront donc invariablement des signes de babésiose moins prononcés que celles de type *Bos taurus*. Ce phénomène est considéré comme résultant d'une co-évolution étroite entre *Bos indicus*, *Boophilus spp* et *Babesia spp* (BOCK, 2006).

Il est par ailleurs intéressant de noter que *B. bovis* n'a pas de potentiel zoonotique et qu'elle n'infecte pas l'**Homme**. Par ailleurs, en Nouvelle-Calédonie, le **cerf** (*Cerf rusa timorensis*) bien que pouvant être parasité par *R. microplus*, n'est pas sensible à *B. bovis* (communication personnelle, N.BARRE, IAC).

3. Transmission

Chez l'animal, la babésiose est une maladie contractée au pâturage, focalisée aux aires infestées par les tiques, atteignant des animaux de plus d'un an en moyenne et pouvant prendre une allure épizootique. La tique se déplaçant peu et devant attendre l'hôte, deux facteurs favorisant caractérisent donc les zones d'enzootie : la pullulation des vecteurs et l'importance de vertébrés à leur contact (MASLIN *et al.*, 2004).

Chez *R. microplus*, l'infection contractée par une femelle adulte au cours de son repas sanguin sur un hôte bovin infecté par *B. bovis*, est transmise à la descendance de celle-ci, qui inocule les sporozoïtes au cours du stade larvaire (dès le 3^{ième} ou 4^{ième} jour). Les larves après avoir transmis le parasite en sont stérilisées, de sorte que ni les nymphes, ni les adultes de 2^{ième} génération ne transmettent *B. bovis*. L'infection d'une nouvelle femelle de *Boophilus* est donc nécessaire pour que le cycle de *B. bovis* se poursuive (EUZEBY, 1988).

La transmission du parasite *B. bovis* au bovin est réalisée de manière active au cours de la morsure de l'hôte, après maturation dans les glandes salivaires (voir cycle de *R. microplus*). La transmission se faisant par l'intermédiaire de la salive, l'efficacité de celle-ci dépend notamment du temps de fixation de la tique (MASLIN *et al.*, 2004). Par ailleurs, les taux d'infection de *B. microplus* par *B. bovis* sont le plus souvent très faibles, aussi une infection n'apparaît pas systématiquement après exposition, et ce d'autant que les niveaux d'infestation seront bas.

Enfin, les veaux peuvent être infectés *in utero*, bien que cela implique des modifications pathologiques du placenta, et que ce mode de transmission soit accidentel et donc rare (CFSPH, 2008).

4. Portage

Etant donné que l'infection par *B. bovis* ne persiste pas chez la tique au-delà du stade larvaire, ce sont les bovins infectés, ou porteurs sains, qui sont considérés comme le principal réservoir du pathogène. En effet, après une infection, *B. bovis* peut persister jusqu'à plusieurs années chez ces individus, avec des pics de parasitémie à intervalles irréguliers (BOCK, 2006).

L'infection par *B. bovis* persiste en moyenne 4 ans chez l'espèce *Bos taurus*. De même l'immunité contre le parasite persiste 4 ans, indépendamment du statut infectieux. La plupart des bovins comportant une proportion de sang de *Bos indicus* significative se débarrassent de l'infection au bout de 2 ans, mais leur immunité persisterait malgré tout 3 ans (BOCK, 2006).

5. Facteurs de réceptivité

En zone d'enzootie, même si les troupeaux acquièrent une certaine immunité, les animaux peuvent être plus réceptifs à certaines périodes de leur vie.

De plus des ruptures de l'immunité sont possibles à l'occasion d'états de moindre résistance : sous-alimentation en saison sèche, maladies intercurrentes, vaccinations par germes vivants, phases de gestation et de lactation (EUZEBY, 1988).

Les jeunes veaux, âgés de 3 à 9 mois ont une plus grande résistance à l'infection et l'incidence de la maladie et les mortalités associées sont très nettement inférieures dans cette classe d'âge (BOCK, 2006).

D. Pathogénie et immunité

1. Processus pathologique

Généralement, *B. bovis* est plus pathogène que *B. bigemina* et *B. divergens*. Les infections sont caractérisées par une forte fièvre, une ataxie, une anorexie, un syndrome de choc circulatoire et parfois des signes nerveux en raison de la séquestration des érythrocytes infectés dans les capillaires cérébraux. Dans les infections à *B. bigemina*, les signes cliniques majeurs sont la fièvre, une hémoglobinurie et une anémie et la séquestration intravasculaire d'érythrocytes infectés n'a pas lieu. La parasitémie et le tableau clinique de l'infection à *B. divergens* sont similaires à ceux observés lors d'infection par *B. bigemina*.

La période prépatente dure généralement de 6 à 12 jours et le pic de parasitémie est atteint 3 à 5 jours plus tard (BOCK, 2006). Lors de la primo-infection du bovin, la parasitémie est relativement importante et ce jusqu'à 10 jours post-inoculation. Ensuite, elle chute à un faible taux, et ce durant une période variable. Dans la phase aiguë, la parasitémie maximale dans le sang circulant est inférieure à 1%, à la différence de *B. bigemina*, dont la parasitémie peut être supérieure à 10% voire atteindre 30 % (OIE, 2008). Contrairement à *B. bigemina* la stimulation par la chaleur de larves de tiques avant leur fixation (à 37°C pendant 3 jours, puis 30°C pendant 8 jours) permet la transmission de *B. bovis* immédiatement après la fixation des larves sur l'hôte, conduisant à un raccourcissement des périodes prépatentes observées en été (BOCK, 2004).

Les facteurs intervenant dans la pathogénie des babésioses sont différents selon l'espèce en cause. Pour *B. bigemina* et *B. divergens*, l'hémolyse et l'ictère prédominent, pour *B. bovis*, ce sont plutôt le choc et l'agglutination des hématies (CHARTIER *et al.*, 2000). Contrairement à *B. bigemina*, *B. bovis* modifie la membrane des hématies parasitées (filaments : « hématies en étoiles », protubérances) entraînant une hyper-coagulabilité de ces derniers. Ce phénomène est en partie responsable du phénomène de cyto-adhérence des hématies et de leur séquestration dans les capillaires des tissus et organes profonds (particulièrement le rein et le cortex cérébral), avec obstruction du courant sanguin et distension des capillaires. Ainsi la parasitémie ne coïncide pas avec le début de l'accès clinique et elle est toujours faible (EUZEBY, 1988)

Le phénomène d'hémolyse domine la pathogénie à travers un triple mécanisme (CHARTIER *et al.*, 2000) :

- **Destruction des hématies** parasitées lors de la libération des mérozoïtes. Ce phénomène n'a qu'une importance relative compte tenu du faible niveau de parasitémie de *B. bovis*. Par ailleurs, la destruction des hématies est supérieure, car leur destruction par le jeu des immuns complexes a lieu de façon indiscriminée entre hématies parasitées ou non parasitées.
- **Hémolyse intravasculaire**, par le jeu des immuns-complexes qui se forment entre les anticorps de l'hôte, les antigènes de surface des hématies déjà fragilisées par les protéases de la *Babesia*, et une fraction du complément. Ce type d'hémolyse est prédominant pour *B. bovis*, associé également au phénomène de choc.
- Une **hémolyse extravasculaire**, mettant en jeu les macrophages de la rate qui phagocytent les hématies parasitées grâce à l'effet opsonisant des immuns-complexes associés au complément. Ce phénomène est également moindre lors d'infection par *B. bovis*. En effet la

séquestration des hématies parasitées dans les capillaires des organes profonds, les soustrait à la phagocytose associée à un passage dans la rate.

La présence d'hémoglobine et de bilirubine libérées dans le plasma par la lyse des hématies est responsable d'**ictère** et d'**hémoglobinurie** suivis de **néphrite** et/ou d'hépatite si l'hémolyse est massive. En raison des mécanismes ci-dessus, l'ictère et l'hémoglobinurie sont moins marquées pour *B. bovis* que pour les autres *Babesia*.

Les pigments libres dans le plasma diffusent également au niveau de la muqueuse intestinale et de l'endothélium pulmonaire, pouvant déterminer des entérites et des pneumonies. Une **splénomégalie** est également observée par compensation de l'activité hématopoïétique.

B. bovis produit précocément une enzyme responsable d'effets vasodilatateurs, hypotenseurs, et augmentant la perméabilité vasculaire à l'origine d'un **choc par stase sanguine** et d'une chute du volume globulaire avant même l'hémolyse.

2. Immunité

a) Généralités

Une primo-infection est génératrice d'immunité, qui s'entretient en milieu enzootique par des réinfections répétées. On note également une transmission passive de l'immunité de la mère au veau (EUZEBY, 1988).

Les animaux infectés développent une immunité de longue durée contre la réinfection avec la même espèce de parasite. Des degrés de protection croisée d'animaux immuns pour *B. bigemina* contre une infection suivante par *B. bovis* existent. Les veaux présentent rarement de signes cliniques de la maladie après infection quels que soit l'espèce de *Babesia* en cause ou le statut immunologique de la mère (OIE, 2008).

D'une manière générale, les animaux élevés dans les régions d'enzootie sont plus résistants que ceux venant de régions indemnes. Les bovins présentent une immunité de prémunition dans leur jeune âge et ne sont pas considérés comme réceptifs avant 8 mois. Ensuite, les infections successives sont à l'origine d'une immunité de co-infection, qui n'empêche pas l'infection parasitaire, mais seulement son expression clinique (immunité « anti-clinique »). Généralement, les accès de babésiose vont s'observer sur des animaux non prémunis importés en zone d'endémie. Un état de santé déficient, suite à des maladies intercurrentes, ou des productions importantes peuvent provoquer des rechutes (MASLIN *et al.*, 2004).

b) Mécanismes

- Immunité innée

L'immunité innée, non spécifique, inclut des facteurs tels que la spécificité hôte-parasite, les facteurs génétiques, l'âge de l'hôte et la réponse des cellules hôtes (tels que le système des phagocytes mononucléaires et polynucléaires leucocytes).

Bien que l'utilisation d'animaux de laboratoire splénectomisés pour développer des modèles d'infection n'ait pas toujours été couronnée de succès, la rate joue un rôle majeur dans la réponse immunitaire à *Babesia spp.* En effet, une splénectomie entraîne des rechutes chez des animaux

infectés de longue date, un franchissement de la barrière d'espèce vers des hôtes non habituels ou encore des parasitémies de primo-infection supérieures à celles de cohortes d'animaux non splénectomisés (BOCK, 2006).

Il existe une immunité liée à l'âge de la primo-infection du bétail par *B. bovis* ou *B. bigemina*, et les jeunes veaux présentent une forte immunité innée par rapport aux bovins adultes. Initialement, cette immunité innée a été estimée associée au transfert passif d'anticorps protecteurs via le colostrum maternel. Toutefois, les veaux issus de mères non immunes présentent également une moindre sensibilité à *B. bovis* et *B. bigemina* (BOCK, 2004).

Récemment, il a été montré que la réponse immunitaire innée de jeunes veaux infectés par *B. bovis* impliquait l'induction précoce d'interleukine 12 (IL-12), d'interféron gamma (IFN- γ) et la synthèse d'ARNm de la NO-synthétase inductible (iNOS) dans la rate. En revanche, l'IL-12, l'ARNm et l'IFN- γ sont apparus plus tard et l'iNOS n'a pas été induite lors de l'infection de bovins adultes.

L'activation des monocytes, des macrophages et des neutrophiles constitue la première ligne de défense lors d'une infection par *Babesia spp.*, avec une action chimique antimicrobienne, de la phagocytose et la mise en jeu des cytokines (régulation de la réponse inflammatoire). Les macrophages stimulés par *B. bovis* produisent de l'IL-1 β , IL-12, le facteur alpha de nécrose tumorale (TNF- α) et du monoxyde d'azote (NO). Ils montrent une augmentation de leur activité phagocytaire prenant part au mécanisme d'élimination de *B. bovis* chez les bovins, associée au rôle d'opsonines joué par les anticorps spécifiques (BOCK, 2004).

Du monoxyde d'azote est produit dans les macrophages, les monocytes, les neutrophiles et les cellules endothéliales lors des infections aiguës. Des expériences in vitro ont suggéré que le NO peut réduire la viabilité de *B. bovis* et que des mérozoïtes de *B. bovis* peuvent induire la production de NO par les monocytes et macrophages en présence d'IFN- γ et de TNF- α (GOFF *et al.*, 2002). Le monoxyde d'azote pourrait avoir un rôle dans la pathogénie associée à *B. bovis*, permettant une réduction de la parasitémie et l'amélioration de l'anémie et la pyrexie.

- Immunité acquise

Lors d'infection par *B. bovis*, des anticorps dirigés contre les antigènes du parasite sont produits et agiraient probablement comme des opsonines, favorisant la phagocytose des babésies plutôt qu'en agissant par altération directe de la viabilité du parasite. Ils jouent par ailleurs un rôle important lors de réinfection (effet mémoire).

Lors d'infection par *B. bovis*, des complexes immuns se forment entre des antigènes de la babésie, des immunoglobulines bovines et le complément C3. La principale immunoglobuline présente dans ces complexes est une IgM mais on note également la présence d'IgG1 et d'IgG2, à de moindres concentrations. Ces deux types d'IgG favorisent l'opsonisation du parasite avec une meilleure efficacité des IgG2.

Une action cellulaire cytotoxique anticorps-dépendante serait également impliquée dans la guérison des infections à *B. bovis*. Une prolifération de cellules mononucléées et de lymphocytes T (helpers) a été notée dans le sang périphérique de bovins immunisés. Par ailleurs, les réponses cytokiniques à ces lymphocytes T CD4+ sont généralement de type Th1 ou Th0, sans clones Th2 mis en évidence.

Le modèle de l'immunité acquise à *B. bovis* et *B. bigemina* met en évidence le rôle central des lymphocytes T CD4+ au sein de la réponse immunitaire (BROWN *et al.*, 2001). En produisant des

cytokines, et parmi elle l'IFN- γ , ils activent les cellules phagocytaires et améliorent la production d'anticorps par les cellules de la lignée B (BOCK, 2004).

Enfin, *B. bovis* et *B. bigemina* partagent de nombreux antigènes, toutefois il n'existe pas entre ces deux parasites de protection croisée suffisante pour qu'une infection passée à l'un prévienne une nouvelle infection à l'autre.

3. Stabilité enzootique

La stabilité enzootique se définit comme un état où la relation entre l'hôte, l'agent pathogène, le vecteur et l'environnement sont tels que la maladie clinique est rare ou absente (d'après PERRY, 1996 dans BOCK, 2004).

Les bovins peuvent développer une résistance permanente à une espèce après infection. Un certain degré de protection contre d'autres espèces de *Babesia* peut aussi être considéré. Dans les zones d'enzootie où la transmission par les tiques se fait toute l'année, les animaux s'immunisent très jeunes. En effet, la protection passive conférée par l'immunité colostrale persiste environ 2 mois, et est suivie d'une immunité dite « innée » de 3 à 9 mois. Par conséquent les veaux exposés à la babésiose pendant les 6 à 9 premiers mois de vie présentent rarement des signes cliniques et développent une solide immunité à long terme (DALGLIESH, 1993).

Cette stabilité enzootique peut toutefois être rompue et des épizooties peuvent se produire si les changements climatiques, de traitement acaricide ou d'autres facteurs font baisser la charge en tiques et que les animaux ne se contaminent plus précocément. Des foyers sont également visibles dans des zones où la saison froide interrompt la transmission par les tiques, et recrée des conditions similaires à celles d'animaux sensibles introduits dans des régions enzootiques ou des tiques infectées introduites en zones indemnes (CFSPH, 2008). Dans des conditions d'instabilité enzootique, certains animaux ne parviennent pas à être infectés pendant une longue période après la naissance et ils peuvent ainsi développer, selon leur race, une forme sévère de maladie lors d'exposition ultérieure à l'infection. MAHONEY (1974) estime que si au moins 75% des veaux étaient exposés à l'infection par *B. bovis* entre 6 et 9 mois d'âge, l'incidence de la maladie serait très basse et un état de stabilité enzootique naturelle s'installerait (BOCK, 2004).

Une tique infectée suffit à transmettre *B. bovis*, mais les taux d'infection des tiques peuvent être faibles et par conséquent la transmission de l'infection aux bovins est donc généralement lente. Une étude de terrain en Australie, a montré que seulement 0,04% des larves de tiques étaient infectées par *B. bovis* dans des troupeaux de *Bos taurus* et que ce taux est encore inférieur sur des effectifs de *Bos indicus*. Le taux d'infection par *B. bigemina* est généralement plus élevé (0,23% dans la même étude). La stabilité enzootique a donc moins de chance de s'établir pour *B. bovis* que pour *B. bigemina* dans les régions où les deux sont présentes.

Des modèles mathématiques simples ont été utilisés pour prédire le niveau de stabilité dans un troupeau. Ils utilisent la vitesse de diffusion de l'infection dans un effectif de veaux (déterminée par sérologie à un âge précis), fournissant ainsi un moyen d'estimer le statut infectieux de l'élevage vis-à-vis de *B. bovis*. Ils se sont avérés utiles pour prédire les niveaux de stabilité dans les races européennes, mais moins dans d'autres races. Plus récemment, un modèle de prédiction de diffusion de la maladie a été développé par RAMSAY (1997) pour calculer plus précisément le risque d'incidence à partir de la séroprévalence par classe d'âge. Ce modèle estime la proportion d'animaux de chaque groupe d'âge et de chaque sexe qui serait touchée à différents degrés de sévérité de la maladie, et l'information est ensuite convertie dans un modèle de troupeau pour

estimer le nombre d'animaux dans chaque classe de sévérité. Ce modèle a été utilisé pour prédire l'impact potentiel de *Babesia spp.* dans certaines grandes propriétés en Australie et déterminer le ratio coût/bénéfice de mesures de contrôle (BOCK, 2004).

4. Facteurs de moindre sensibilité

De nombreuses publications reportent presque invariablement des symptômes de babésiose moins fréquents et moins sévères chez les bovins de race *Bos indicus* (figure 21, tableau 2) que chez *Bos taurus*. Ce phénomène est considéré comme le résultat de la relation évolutive étroite et ancienne entre les bovins *Bos indicus*, la tique *Rhipicephalus spp.* et *Babesia spp.* Cependant les facteurs génétiques déterminant cette moindre sensibilité n'ont pas encore été identifiés (BOCK, 2004).

Figure 21 Taureau Brahman (*Bos indicus*) de race pure (C.Marchal, LNC)



Récemment, des variations de sensibilité à *B. bovis* ont également été signalées chez des bovins *Bos taurus* avec environ 28% d'une population d'animaux adultes sensibles à l'infection mais présentant des signes cliniques de moindre intensité (CFSPH, 2008) alors qu'au sein d'un troupeau de race pleinement sensible, la moitié ou plus des adultes non traités et jusqu'à 10% des adultes traités peuvent mourir lors de la première exposition à *B. bovis*.

Tableau 3 Comparaison de l'immunité innée de différentes races bovines (BOCK, 1997)

Groupe	Race	Diminution moyenne de l'hématocrite (%)	Parasitémie moyenne	Augmentation maximale de température (°C)	Effectif traité
1	<i>Bos indicus</i> pur	25,7 ± 4,3	5,8 ± 2,2	0,7 ± 0,5	0/10
2	<i>Bos indicus</i> à 50%	46,7 ± 8,6	28,6 ± 13,6	1,6 ± 0,6	3/10
3	<i>Bos indicus</i> à 25%	45,9 ± 6,2	24,1 ± 10,0	1,7 ± 0,7	2/10
4	<i>Bos taurus</i> pur	55,5 ± 7,2	32,6 ± 8,3	2,4 ± 0,4	8/10

Moyennes obtenues sur des groupes de 10 bovins (avec intervalle de confiance à 95%)

Les effets de *B. bovis* dans les différents groupes montrent la moindre sensibilité de *Bos indicus* en race pure ainsi que de ses croisements

Les éleveurs des zones d'enzootie ont donc recours à l'usage des races de moindre sensibilité, en race pure ou en croisement avec des races sensibles (tableau 2). En Australie, une observation des taux de transmission de *B. bovis* sur des bovins croisés *Bos taurus* X *Bos indicus* avec une

proportion de sang *Bos indicus* allant de 3/8 à 1/2 a laissé supposer que dans un environnement défavorable à la survie des tiques (température, sécheresse), l'utilisation de ces croisements pourrait induire la disparition des tiques après plusieurs saisons sur les parcelles concernées. Cependant, lorsque des bovins *Bos indicus* issus de zone indemne sont déplacés vers une zone de forte infestation par *B. microplus*, les taux de transmission de *B. bovis* peuvent être initialement très élevés (BOCK, 2004).

E. Diagnostic clinique

1. Symptômes

De façon générale *B. bovis* est plus pathogène que *B. bigemina* ou *B. divergens*. Les signes cliniques sont plus sévères chez les individus adultes et particulièrement rares chez les jeunes animaux de moins de 9 mois. De même, conformément aux différences entre les deux processus pathologiques existants, la babésiose à *B. bovis* est une « babésiose à syndrome de choc », qui se distingue des « babésioses bovines à syndrome hémolytique » (*B. bigemina*, *B. divergens*) (CHARTIER *et al.*, 2000 ; CFSPH, 2008).

Les dénominations des babésioses et/ou des piroplasmoses à travers le monde, lorsqu'elles n'évoquent pas l'épidémiologie de la maladie, sont évocatrices des signes cliniques observés. En effet, on parle de « *Texas fever* » aux Etats-Unis, de « *Tick Fever* » en Australie (incluant l'anaplasmose) ou encore de « *Red water* » évoquant l'hémoglobinurie, de « *Tristezza* » en Amérique Latine et de « *Carceag* » en Roumanie (EUZEBY, 1988).

L'espèce *B. bovis* est inoculée par la larve de *R. microplus* généralement entre le 3^{ème} et le 5^{ème} jour de fixation et l'incubation dure de 6 à 12 jours. Les signes cliniques de la maladie aiguë incluent une hyperthermie élevée et des signes généraux peu caractéristiques : anorexie, apathie, poil bourru, dyspnée, répugnance au mouvement, atonie du rumen, constipation, avortement, agalaxie, baisse persistante de fertilité des taureaux. Les bovins en infection avancée sont particulièrement sensibles au stress et peuvent perdre connaissance ou mourir lors de simples manipulations en vue de leur traitement (CHARTIER *et al.*, 2010 ; BOCK, 2006).

La parasitémie est toujours faible (entre 0,5 à 2,5%) aussi l'hémolyse, l'ictère et l'hémoglobinurie bien qu'observés, seront toujours moins marqués que lors de piroplasmose à *B. bigemina* ou *B. divergens*, et les signes cliniques sont souvent observés avant même que le parasite ne puisse être mis en évidence par frottis sanguin. Le plus souvent, la clinique va se préciser par l'apparition de troubles de l'équilibre (ataxie, pédalage), de signes encéphaliques (hyperesthésie, désorientation, convulsions, paralysies, coma), de grincements de dents ou d'agressivité déclarée (attaque). Ces symptômes sont la conséquence des ischémies du cortex cérébral dues au microthrombus provoqués par l'agglutination des hématies parasitées. Les cas sévères de babésiose cérébrale sont réfractaires au traitement (CHARTIER *et al.*, 2000 ; JONSSON, 2008).

2. Lésions

a) Lésions macroscopiques

L'infection par *B. bovis* provoque un syndrome de choc hypotensif avec une stase vasculaire et séquestration d'érythrocytes parasités dans les vaisseaux périphériques. Les animaux morts présentent régulièrement une anémie avec ictère, hémoglobinurie, une bile anormalement épaisse

et granuleuse, des suffusions hémorragiques du péricarde et de l'endocarde et une congestion de l'encéphale et des viscères.

La **rate** présente une splénomégalie constante (bombement de son contenu au niveau des surfaces de coupe) avec une pulpe boueuse rouge foncée par dégénérescence des centres hématopoïétiques, au milieu de laquelle les corpuscules de Malpighi apparaissent proéminents par hyperplasie du tissu réticulaire.

Le **foie** est généralement hypertrophié, congestionné, marbré par décoloration sur un fond de couleur « brun feuille morte ». A la coupe, le lobule apparaît avec un centre jaunâtre et un pourtour grisâtre, la bile est granuleuse. Les **reins** sont hypertrophiés, avec une perte de distinction entre corticale et médullaire. Tous les organes profonds peuvent présenter des piquetés hémorragiques et des points de nécrose.

Figure 22 Infiltrations sanguines du cortex cérébral lors de babésiose aiguë (CFSPH, 2008)



Lors des formes aiguës, on peut observer une coloration rouge cerise du **cortex cérébral** caractéristique (congestion et pétéchies) (figure 22). On note également des pétéchies sur les séreuses péritonéales, sur l'épicarde et dans le myocarde, ainsi qu'à la surface et dans le parenchyme des reins.

Lorsque la maladie est à un stade plus avancé, la carcasse peut être pâle, avec un léger ictère, les reins et l'encéphale sont modérément congestifs ou pâles, la rate et le foie sont modérément augmentés et le cœur peut présenter des hémorragies lors de cas aigus. Une bile épaissie et granuleuse est un signe constant (CHARTIER *et al.*, 2000 ; BOCK, 2006).

b) Lésions microscopiques

La modification microscopique la plus frappante lors d'infection aiguë à *B. bovis* est la séquestration d'amas d'érythrocytes parasités dans les capillaires périphériques des organes profonds (principalement l'encéphale et le rein) et la congestion et les hémorragies qui en résultent. En effet, ces microthrombus distendent les capillaires du cortex cérébral et sont à l'origine d'un œdème interstitiel périphérique. Des phénomènes de coagulation intra-vasculaire peuvent aggraver ces lésions.

On note également, une nécrose centrilobulaire et des dégénérescences vésiculaires hydropiques du foie d'intensité variable, une accumulation de macrophages contenant des hématies parasitées ou non, de neutrophiles et de lymphocytes dans les veines centrolobulaires et sinusoides du foie. Une

réétention biliaire avec distention des canalicules peut être présente dans certains cas. Enfin, les cellules de Kupfer contiennent de l'hémosidérine.

Une nécrose faible à modérée de l'épithélium tubulaire rénal est visible dans la plupart des cas (néphrite). Une accumulation d'hémosidérine, une phagocytose d'érythrocytes et de débris cellulaires est observée au niveau des macrophages du foie, des nœuds lymphatiques, du poumon et dans une moindre proportion, de la rate et des reins.

La rate est congestionnée et le ratio pulpe blanche sur pulpe rouge est nettement diminué. Les centres germinatifs contiennent généralement peu de cellules et le nombre de lymphocytes est fortement diminué. Enfin, il y a une hyperplasie généralisée du système réticuloendothélial (CHARTIER *et al.*, 2000 ; BOCK, 2006).

3. Pronostic

Les taux de morbidité et de létalité sont très variables. Le traitement, l'âge, la race, l'exposition précédente et/ou la vaccination, ainsi que la souche de parasite, sont autant de paramètres impactant sur l'expression clinique de la maladie.

Le pronostic sera le plus souvent favorable lors de babésiose rapidement diagnostiquée et traitée, chez un animal jeune présentant pour la première fois une forme aiguë. La précocité du traitement est un élément clé du pronostic. En revanche, il devient très réservé lors de babésiose évoluant depuis plusieurs jours (ictère, hypothermie, hématurie, signes nerveux centraux), chez un animal âgé, ayant déjà présenté plusieurs accès piroplasmiques ou souffrant d'une autre pathologie, en particulier d'une insuffisance rénale.

Lors de babésiose clinique touchant des bovins non prémunis ou lors de rechutes, le pronostic est toujours grave, particulièrement lorsqu'il s'agit d'animaux importés de régions tempérées (en stress d'adaptation climatique) ou appartenant à des races sélectionnées de haute productivité laitière ou bouchère. Sans traitement, les taux de mortalité sont très élevés (70% à 80%), en revanche si les animaux sont traités à temps, les chances de guérison sont raisonnables. Le pronostic économique est cependant toujours réservé car la babésiose peut compromettre leur productivité future du fait des lésions chroniques dont elle est responsable.

Les animaux de races traditionnelles présentent des taux de morbidité très faibles, voire nuls, sauf dans le cas d'adultes non prémunis pour des raisons diverses (voir stabilité enzootique). De même, les veaux nés en milieu infecté, étant dans les meilleures conditions pour développer et entretenir leur prémunition, présentent une primo-infection le plus souvent cliniquement inapparente ou bénigne, de même que les rechutes possibles ultérieurement (CHARTIER *et al.*, 2000 ; MASLIN *et al.*, 2004 ; CFSPH, 2008).

4. Limites

Les signes cliniques de babésiose s'apparentent à ceux observés dans d'autres syndromes d'anémie hémolytiques hyperthermique d'origine infectieuse ou non, tels que l'anaplasmose, l'ehrlichiose, la theileriose, la trypanosomiase, la leptospirose, la myoglobinurie paroxystique, l'intoxication au cuivre, etc. Dans sa forme nerveuse, elle doit être distinguée d'autres causes d'encéphalites (rage, intoxications, etc.).

La suspicion clinique est donc basée sur des éléments épidémiologiques (maladies présentes / absentes dans la zone, saisons et zones d'activité des tiques) et des symptômes (syndromes pyrétique, hémolytique, nerveux éventuels).

Il n'est par ailleurs pas possible de faire la différence entre *B. bovis* et d'autres pathogènes (ex : *B. bigemina*, *A. centrale*) à partir des seuls signes cliniques et lésions macroscopiques, et le recours au laboratoire est incontournable (BOCK, 2006 ; CFSPH, 2008).

F. Diagnostic expérimental

Les procédures diagnostiques présentent le double intérêt d'identifier le parasite lors de phases aiguës de la maladie et de détecter l'infection chez des porteurs sains en vue de procédures réglementaires de contrôle de la maladie (BOCK, 2006).

1. Mise en évidence de l'agent pathogène

Le diagnostic positif peut être affirmé de façon directe, par la mise en évidence du parasite (frottis sanguin coloré, goutte épaisse) ou encore par amplification génique (PCR).

a) Technique hématologique

Les mérozoïtes de *B. bovis* peuvent être observées au microscope à partir de prélèvements sanguins (étalement fin ou goutte épaisse réalisés idéalement à partir de sang capillaire prélevé au bout de l'oreille ou de la queue) sur animaux malades ou morts récemment, mais également à partir de calques d'organes (encéphale, rein, foie, rate) sur bovins morts récemment (BOCK, 2006).

Cet examen parasitologique direct permet une diagnose le plus souvent de genre, la diagnose d'espèce étant beaucoup plus difficile. Il est tributaire de la bonne qualité des prélèvements et du niveau de conservation des cadavres lors de diagnostic *post-mortem*.

La parasitémie peut être déterminée à l'aide de champs d'observation calibrés (cellule de Malassez). Dans la plupart des observations, elle est de moins de 1% et au maximum de 10%. Avec *B. bigemina* et *B. divergens* des parasitémies plus élevées sont la norme.

Le sang prélevé à la jugulaire est de moindre intérêt que le sang capillaire (20 fois plus riche en parasites) compte tenu de l'accumulation des hématies parasitées par *B. bovis* dans la circulation périphérique. Enfin, les prélèvements réalisés sur des bovins traités aux babésicides sont le plus souvent inexploitable pour examen direct et ce dès le lendemain du traitement.

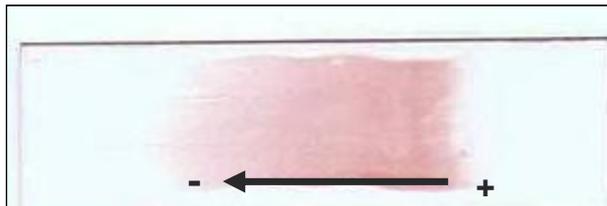
S'il n'est pas possible d'obtenir des gouttes de sang frais à partir de sang capillaire, du sang stérile provenant de la jugulaire peut être collecté avec un anticoagulant comme l'EDTA (acide tétraacétique éthylène diamine) à 1 mg/ml. L'héparine peut altérer la couleur caractéristique du marquage et n'est donc pas recommandée. Les échantillons doivent être conservés au frais, de préférence à +4°C, jusqu'à ce qu'ils soient livrés au laboratoire, de préférence quelques heures après leur collecte (OIE, 2008).

- Frottis sanguin

Les étalements fins de sang sont séchés à l'air, fixés dans du méthanol absolu pendant 1 min, et colorés dans une solution de Giemsa à 10 % pendant 20 à 30 min. Il est préférable de les colorer

juste après les avoir préparés afin d'obtenir une bonne définition de la coloration. Ils sont ensuite examinés à un grossissement de 800 à 1000 fois sous huile à immersion. (OIE, 2008).

Figure 23 Frottis sanguin sur lame de verre (C. Marchal, LNC)



L'identification du parasite et éventuellement de l'espèce peut être facilitée par l'utilisation de colorants fluorescents comme l'acridine orange à la place du Giemsa.

L'analyse en urgence de plusieurs frottis sanguins permet de confirmer une suspicion de babésiose bovine et suffit à la mise en place rapide du traitement, le diagnostic d'espèce pouvant être réalisé dans un second temps (MASLIN *et al.*, 2004).

Cette technique permet de détecter des parasitemies d'environ 1 parasite pour 10^5 - 10^6 hématies parasitées. Les frottis sont donc utilisables lors d'infection aiguës, par contre ils ne permettent pas la détection de porteurs sains, aux parasitemies trop faibles pour être détectées. Dans ce cas, il faut avoir recours à des techniques de biologie moléculaire.

Figure 24 Frottis sanguin : hématies de bovin parasitées par *B. bovis* (R. Perrot, LNC)

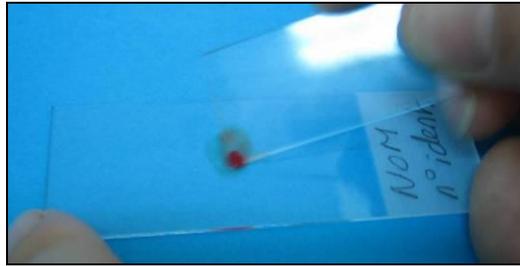


Frottis sanguin coloré au MGG, grossissement x 1 000 à immersion

- Goutte épaisse

Les étalements épais sont réalisés en plaçant une petite goutte (environ 50 μ l) de sang sur une lame propre. La goutte est alors séchée à l'air, fixée à la chaleur à 80°C pendant 5 min et colorée dans une solution de Giemsa à 10% pendant 15 à 20 minutes (OIE, 2008).

Figure 25 Réalisation d'une goutte épaisse (C. Marchal, LNC)



La technique est plus sensible que le frottis sanguin, et permet la mise en évidence d'un parasite parmi 10^6 - 10^7 érythrocytes, elle est donc particulièrement intéressante pour la détection d'infections de bas niveau. Le sang n'est pas étalé sur une grande surface de lame, il n'est pas fixé au méthanol avant coloration, aussi la lyse des érythrocytes facilite la concentration et la mise en évidence des parasites. Par contre, elle ne permet pas l'identification de l'espèce de *Babesia* présente.

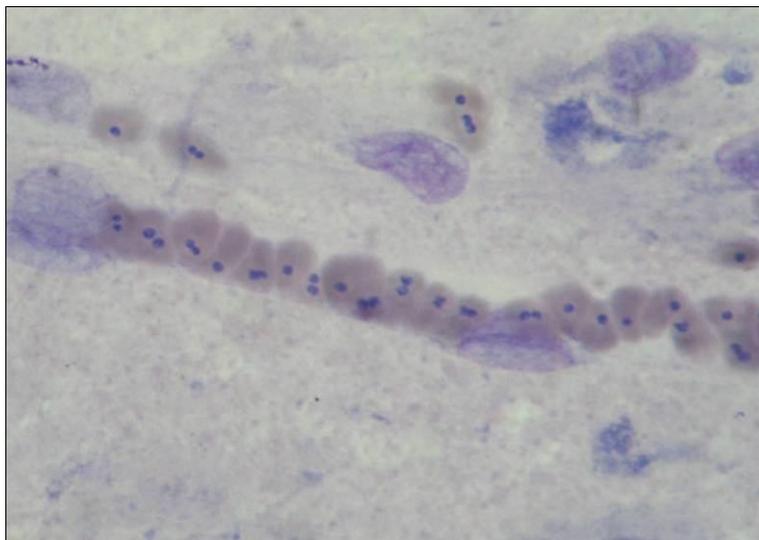
- Calques d'organes

Les échantillons utilisables sur des animaux morts sont de fins étalements de sang, ou des étalements à partir, par ordre de préférence, du cortex cérébral, de rein, de foie, de rate et de moelle osseuse. Les étalements d'organe sont réalisés en pressant une lame propre sur une surface de l'organe fraîchement sectionné ou en écrasant un petit morceau de tissu entre 2 lames de microscopes de telle sorte qu'un fin film de tissu soit présent sur chaque lame.

L'étalement est alors séché à l'air par agitation de la lame, fixé 5 min dans du méthanol absolu puis coloré pendant 20 à 30 min dans une solution de Giemsa à 10% (figure 26).

Cette méthode est utilisée pour le diagnostic des infections à *B. bovis* et est efficace même pour des infections de bas niveau. Elle n'est cependant pas valable si les échantillons sont prélevés 24h ou plus après la mort de l'animal. Les parasites peuvent toutefois être détectés dans le sang veineux prélevé dans la région des membres encore un ou plusieurs jours suivant la mort (OIE, 2008).

Figure 26 Calque d'encéphale : hématies de bovin parasitées par *B. bovis* (R. Perrot, LNC)



Frottis d'encéphale coloré au MGG, grossissement x 400
Capillaire cortical contenant des hématies agglutinées infestées par *Babesia bovis*

b) Culture

Les méthodes de culture *in vitro* ont été utilisées pour prouver la présence de *Babesia spp.* lors d'infection et *B. bovis* a été clonée en culture. La parasitémie minimale détectable par cette méthode dépend des équipements disponibles et de l'habileté de l'opérateur mais peut être aussi faible que 10^{-10} , ce qui en fait une méthode très sensible pour prouver l'infection. Sa spécificité de 100% est le principal atout de cette technique qui reste cependant lourde à mettre en œuvre (OIE, 2008).

c) Transfusion

La confirmation de l'infection chez un animal suspect peut aussi être réalisée par transfusion jugulaire d'approximativement 500 ml de sang à un veau splénectomisé exempt de *Babesia*. Le veau est alors suivi pour la détection de l'infection. Cette méthode est lourde et chère et évidemment non applicable à un diagnostic de routine. Des gerbilles de Mongolie (*Meriones unguiculatus*) peuvent cependant être utilisées pour mettre en évidence la présence de *B. divergens*. Ces techniques restent l'apanage de centres spécialisés et perdent de leur intérêt depuis l'apparition des techniques d'amplification de génome par PCR. (OIE, 2008).

d) Biologie moléculaire

Des techniques PCR permettent de détecter et de différencier les espèces de *Babesia* chez les bovins. Toutes ne sont pas concluantes, notamment vis-à-vis de l'observation directe au microscope. Cependant, des techniques PCR se sont révélées très sensibles notamment pour la détection de *B. bovis* et *B. bigemina* chez les bovins (FIGUEROA *et al.*, 1992 ; DALGLIESH, 1993 ; CALDER *et al.*, 1996 ; SALEM *et al.*, 1999 ; OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2005 ; THAMMASIRIRAK *et al.*, 2003, BULING *et al.*, 2007 ; KIM *et al.*, 2007). Des niveaux de détection aussi faibles que 3 érythrocytes parasités dans 20 µl de sang ont été annoncés (OIE, 2008).

Un certain nombre de techniques permettent la détection et la différenciation des espèces de *Babesia* en cause dans des infections (FIGUEROA *et al.*, 1992 ; DALGLIESH, 1993 ; CALDER *et al.*, 1996 ; SALEM *et al.*, 1999). Cependant, les épreuves de PCR ne sont pas adaptées à des tests à grande échelle et les épreuves sérologiques restent la méthode de choix pour les études épidémiologiques. Les tests PCR sont utiles comme tests de confirmation et dans certains cas en tant que tests réglementaires (import/export/certification) (OIE, 2008).

Des précautions strictes doivent être prises pour éviter les contaminations à l'origine de faux positifs et les résultats obtenus par PCR doivent toujours être corrélés aux données sérologiques (MASLIN *et al.*, 2004).

2. Épreuves sérologiques

Le diagnostic sérologique permet de remédier aux difficultés ou à l'impossibilité de mise en évidence des babésies. Dans la pratique les techniques sont à utiliser avec précaution et ne doivent pas dispenser de la recherche du parasite (CHARTIER *et al.*, 2000). Diverses méthodes de mise en évidence des anticorps sont disponibles : immunofluorescence indirecte (IFI), fixation du complément (FC) ou enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Toutefois, en zone d'enzootie ces méthodes sont peu utiles lors de cas cliniques, dans la mesure où elles ne permettent de révéler qu'une trace sérologique confirmant le contact entre l'animal et le parasite. Les tests immunologiques permettent en pratique de détecter les animaux infectés latents et

satisfont aux exigences des pays importateurs. En l'absence de portage, les anticorps disparaissent assez rapidement et peuvent se négativer après un traitement à l'imidocarbe (MASLIN *et al.*, 2004).

a) Fixation du complément

La réaction de fixation du complément (FC) est la plus anciennement pratiquée. Les résultats de l'épreuve sont dépendants des antigènes utilisés, lesquels sont le plus souvent des suspensions d'hématies fortement parasitées, lysées à l'eau distillée et centrifugées. Elle met en jeu des anticorps présents au cours de l'infection (en majorité des IgM). Elle a une forte spécificité (1 à 2% de faux positifs) et présente de faibles réactions croisées entre *B. bovis* et *B. bigemina* et seulement immédiatement après la guérison d'accès aigus.

L'inconvénient de la technique tient à la faible persistance des anticorps de fixation, en particulier pour *B. bovis*. La fixation du complément ne peut donc être mise en œuvre de façon satisfaisante que dans les deux mois qui suivent l'infection, même si celle-ci se poursuit de manière latente. Elle ne peut donc pas être utilisée en zone d'enzootie, mais présente un intérêt pour évaluer dans l'immédiat les effets d'une prémunition, détecter des foyers ou des cas résiduels en zone d'éradication. Enfin, cette technique détecte les anticorps colostraux (CHARTIER *et al.*, 2000).

Une technique de détection des anticorps dirigés contre *B. bovis* et *B. bigemina* a été décrite par l'USDA en 2006 pour le contrôle à l'importation de bovins dans certains pays. Elle est basée sur le protocole décrit et validé pour la détection des anticorps anti-*Babesia caballi* et anti-*Theileria equi* (OIE, 2008).

b) Immunofluorescence indirecte

L'immunofluorescence indirecte (IFI) est une réaction qui met en jeu des pré-albumines de la surface des hématies, sur lesquelles viennent se fixer les immunoglobulines du sérum à tester (principalement des IgG). Ces dernières sont mises en évidence par une antiglobuline anti-bovin conjuguée à un fluorochrome. C'est l'une des meilleures techniques de diagnostic chez les bovins : elle permet la différenciation entre *B. bovis* et *B. bigemina* et présente peu de réactions croisées entre les deux parasites (le titre diffère alors de celui du témoin positif). Il est estimé y avoir 3 à 4% de faux positifs et 2 à 3% de faux négatifs par cette technique dans les périodes d'infection latente. En raison de la bonne persistance des anticorps qu'elle détecte (jusqu'à 2 ans), cette technique est utilisable pour les enquêtes épidémiologiques. Enfin, cette technique détecte les anticorps colostraux (CHARTIER *et al.*, 2000).

L'épreuve d'immunofluorescence indirecte (IFI) a été largement utilisée pour détecter les anticorps de *Babesia spp.* Cependant l'épreuve pour *B. bigemina* est très peu spécifique et les réactions croisées avec des anticorps anti-*B. bovis* dans l'épreuve contre *B. bigemina* compromettent le diagnostic d'espèce et posent problème en particulier dans les régions où les deux espèces coexistent.

L'épreuve d'IFI a par ailleurs le désavantage de ne pouvoir être réalisée que sur un faible nombre d'échantillons et sa lecture est longue et subjective. Elle cède donc progressivement le pas à la méthode immuno-enzymatique (ELISA), notamment pour le diagnostic spécifique de l'infection par *B. bovis* et *B. bigemina* (OIE, 2008).

c) Dosage immuno-enzymatique

L'ELISA (Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay) est une technique immuno-enzymatique, fréquemment utilisée en immuno-sérologie pour détecter la présence d'un anticorps (ou d'un antigène) dans un échantillon à l'aide de l'antigène (ou de l'anticorps) correspondant, fixé sur un support insoluble. La liaison de l'anticorps et de l'antigène est révélée par la mise en œuvre d'une réaction enzymatique qui, en agissant sur un substrat chromogène ou fluorogène, permet l'émission d'un signal coloré et donc de visualiser la réaction de fixation anticorps-antigène.

C'est un test simple, facile d'emploi et peu coûteux. Il est cependant limité par la disponibilité en anticorps spécifiques. Les réactions s'effectuent en séries et le marqueur coloré permet une lecture rapide automatisée. La sensibilité de la méthode est comparable à celle de l'IFI mais ce test est beaucoup plus commode d'utilisation, notamment pour des grandes séries (CHARTIER *et al.*, 2000).

Une méthode reposant sur l'utilisation de mérozoïtes complets comme antigène a été développée et internationalement validée pour le diagnostic de l'infection par *B. bovis* (WALTISBUHL, 1987 ; DE ECHAIDE *et al.*, 1995 ; MOLLOY *et al.*, 1998). Ces tests sont de plus en plus utilisés pour *B. bovis* et sont à la fois sensibles et spécifiques. Des ELISA de compétition utilisant une association d'antigènes recombinants de surface de mérozoïte et de rhoptrie de *B. bovis* ont été récemment développés (GOFF *et al.*, 2003 ; BOONCHIT *et al.*, 2004 ; DOMINGUEZ *et al.*, 2004) mais n'ont pas encore été validés à grande échelle (OIE, 2008).

L'équivalent pour *B. bigemina* n'est pas encore disponible. Les tests ELISA pour la détection des anticorps de *B. bigemina* sont typiquement peu spécifiques. Cependant, un test ELISA développé récemment et validé en Australie (MOLLOY *et al.*, 1998) apporte des espoirs considérables. Des tests ELISA utilisant un antigène dérivé de culture ont aussi été développés pour *B. divergens* sans toutefois avoir été validés internationalement (OIE, 2008).

L'ELISA n'apporte pas d'éléments sur le stade clinique de l'animal. Toutefois un résultat positif à un test sérologique pour *B. bovis* est un indicateur fiable d'une infection antérieure en raison de la persistance des anticorps et de la longue durée du portage en particulier chez *Bos taurus*. Cependant la proportion de résultats faussement négatifs aux tests sérologiques augmente au fur et à mesure que les animaux éliminent l'infection. Cependant la technique ELISA reste performante en recherche, lors d'études épidémiologiques et pour la détection des porteurs lors de contrôle de mouvements d'animaux (BOCK, 2006; OIE, 2008).

d) Autres épreuves

D'autres épreuves sérologiques ont été décrites récemment et comprennent un ELISA sur membrane (Dot-ELISA) (MONTENEGRO-JAMES, 1992) un ELISA sur lame (KUNG'U, 1990), et des épreuves d'agglutination au latex (BLANDINO *et al.*, 1991 ; MADRUGA *et al.*, 1995). Ces épreuves présentent des niveaux acceptables de sensibilité et de spécificité pour *B. bovis* et, également pour *B. bigemina* dans le cas de l'ELISA sur membrane, Cependant, aucune de ces épreuves n'a été adoptée pour utilisation lors de diagnostics de routine dans des laboratoires autres que ceux qui les ont développés et validés. L'adaptabilité de ces épreuves au diagnostic de routine est de ce fait inconnue (OIE, 2008).

G. Méthodes de lutte

1. Prophylaxie

a) Sanitaire

La prophylaxie de la babésiose repose sur la prévention des piqûres de tiques et donc sur le recours aux molécules acaricides et aux différentes mesures de lutte intégrées, avec les limites que ces techniques connaissent (résistance, niveau d'infestation non nul, etc.).

Une chimioprophylaxie est possible dans les zones de forte enzootie. Elle repose sur l'utilisation de l'imidocarbe à la dose de 2 mg/kg (soit le double de la dose thérapeutique usuelle) conférant à l'animal une protection de 4 à 6 semaines. Celle-ci peut être assurée pour la durée totale de la saison à risque par le renouvellement des injections. Elle ne dispense cependant pas de l'utilisation des méthodes acaricides habituelles.

b) Médicale

Les bovins développent une immunité de longue durée après une première infection par *B. bovis*, *B. divergens* ou *B. bigemina*. Cette caractéristique a été exploitée dans certains pays pour immuniser les bovins contre la babésiose (MANGOLD *et al.*, 1996 ; PIPANO, 1997 ; BOCK, 2004). Des vaccins vivants ou atténués à partir de souches sélectionnées de *B. bovis*, *B. bigemina* ou *B. divergens* sont produits dans plusieurs pays à partir de sang d'animaux donneurs infectés. Un vaccin expérimental contre *B. divergens* préparé à partir de sang infecté de gerbilles a aussi été utilisé avec succès en Irlande.

La production de vaccins dérivés du sang impose l'utilisation de veaux indemnes de tout autre agent infectieux transmissible et des contrôles de post-production exigeants. Le coût de la production est donc important et peut de ce fait dépasser les moyens financiers de certains pays en zones d'enzootie. La plupart de ces vaccins sont donc fournis par des installations de production supportées par les gouvernements, en tant que service auprès des industries du bétail, en particulier en Australie, Argentine, Afrique du Sud, Israël et l'Uruguay (OIE, 2008).

Des essais de production de babésies ont été faits par culture *in vitro*. Cependant le coût de production et la possibilité de dérive antigénique des cultures, rendent cette pratique impraticable dans la plupart des laboratoires. Des vaccins expérimentaux basés sur des antigènes produits *in vitro* ont également été développés, mais le niveau et la durée de la protection ne sont pas encore validés. Des protéines parasitaires ont également été caractérisées et le développement de sous-unités vaccinales progresse bien qu'aucune d'entre elles ne soit encore commercialement disponible (OIE, 2008).

Un vaccin vivant atténué¹, de faible virulence, est produit par le Tick Fever Center (Department of Primary Industries and Fisheries, Queensland) et utilisé pour la prévention des fièvres à tiques en Australie (Queensland DPI & F, 2008). Ce vaccin trivalent (*B. bovis*, *B. bigemina* et *A. centrale*) est recommandé pour l'administration au jeune bétail, de préférence de moins de 1 an et une seule

¹ La méthode la plus fiable pour diminuer la virulence de *B. bovis* est basée sur des passages rapides de la souche sur des veaux splénectomisés. L'atténuation n'est pas garantie mais est effective en général après 8 à 20 passages sur veau (CALLOW, 1984 ; OIE, 2008).

vaccination est suffisante pour conférer une immunité à vie. Des réactions cliniques post-vaccinales se produisent occasionnellement avec une fréquence plus élevée chez les animaux âgés, les vaches en gestation et les taureaux. Le vaccin est actuellement disponible réfrigéré (durée de vie courte) ou surgelé (JONSSON, 2008).

Les vaccins utilisant des babesies vivantes ne sont en effet pas entièrement sûrs. Une recommandation pratique est de limiter leur utilisation aux veaux, quand l'immunité non-spécifique minimise les risques de réaction à la vaccination. Quand des animaux plus vieux doivent être vaccinés, le risque de réactions, parfois sévères, doit être surveillé et un traitement à l'aide d'un babesicide doit être administré au besoin. Les réactions à *B. bigemina* et *B. divergens* apparaissent habituellement entre le 6^{ième} et le 8^{ième} jour après la vaccination et celles à *B. bovis* entre le 10^{ième} et le 16^{ième} jour après la vaccination (CALLOW, 1984).

L'immunité protectrice se développe en 3 à 4 semaines et dure plusieurs années après une vaccination unique (OIE, 2008). Une inoculation suffit en général pour conférer une immunité de longue durée, estimée à 4 ans. Des échecs ont été rapportés avec le vaccin anti-*B. bovis* (BOCK, 1995) et sont dus au choix de la souche vaccinale, à la présence de souches hétérologues sur le terrain et à des facteurs de l'hôte. Il y a peu de preuves de chute de l'immunité avec le temps (CALLOW, 1984). Les vaccins contre la babésiose et l'anaplasmose sont souvent utilisés en même temps mais il n'est pas recommandé d'administrer d'autres vaccins simultanément (OIE, 2008).

2. Traitement

Il est aujourd'hui basé sur l'utilisation d'un piroplasmicide, le dipropionate d'imidocarbe. Ce diamidine aromatique se présente sous forme de soluté injectable. Des produits plus anciens restent commercialisés dans d'autres régions du monde (phénamidine, pentamidine, acriflavine) mais ne garantissent notamment pas la stérilisation des bovins vis-à-vis de *B. bovis* (amicarbalide, diminazène, etc.).

La dose **thérapeutique** à administrer lors de cas clinique est de **1 à 2 mg/kg**, par voie sous-cutanée. Cette injection peut être suivie d'effets locaux (douleur, abcès au site d'injection) ou généraux (coliques, diarrhée, hypersalivation, jetage). A dose **prophylactique** de **2 mg/kg**, il confère une protection pendant 6 semaines mais n'empêche pas la formation d'anticorps, ce qui permet dans un système à réinfections fréquentes l'installation d'une prémunition dès que la concentration le permet. Enfin, des tiques gorgées pendant l'effet prophylactique ne s'infectent pas. En traitement de **stérilisation**, à la dose de **2 à 5 mg/kg** il permet efficacement l'élimination de *B. bovis* et de *B. bigemina* (CHARTIER *et al.*, 2000).

Toutefois, certaines souches de *Babesia*, et en particulier de *B. bovis* ont été signalées comme devenant moins sensibles à l'imidocarbe et à l'usage, la dose de 3 mg/kg n'est plus curative. Elle reste cependant prophylactique.

L'usage prophylactique de l'imidocarbe à faible dose et sur de longues périodes, a été suspecté d'induire des résistances chez *B. bovis* bien qu'un échec complet du traitement n'ait pas été constaté lors d'essais *in vivo*. De même, une tolérance à l'imidocarbe a été notée expérimentalement sur des souches de *B. bovis* préalablement exposées à des doses prophylactiques. Dans ce cas, le traitement à la dose de 3 mg/kg des bovins infectés n'élimine pas complètement la souche préalablement exposée quatre fois à l'imidocarbe. Enfin, des souches de *B. bovis* cultivées en présence de concentrations sub-optimales d'imidocarbe dérivent naturellement vers une résistance huit fois supérieure à celle de la souche d'origine (RODRIGUEZ, 1995).

L'imidocarbe a un effet retard du fait de ses dépôts dans les tissus. Les interventions curatives ou répétées posent donc des problèmes de résidus dans les produits animaux (viande) imposant un délai d'attente avant abattage de 28j. Elles sont à éviter en élevage laitier. L'emploi prophylactique, qui se limite en général à une dose unique administrée pendant le jeune âge du bovin, pose en revanche moins de problèmes (CHARTIER *et al.*, 2000).

Deuxième partie : La babésiose à *Babesia bovis*
en Nouvelle-Calédonie

I. Le contexte calédonien

A. Données géographiques

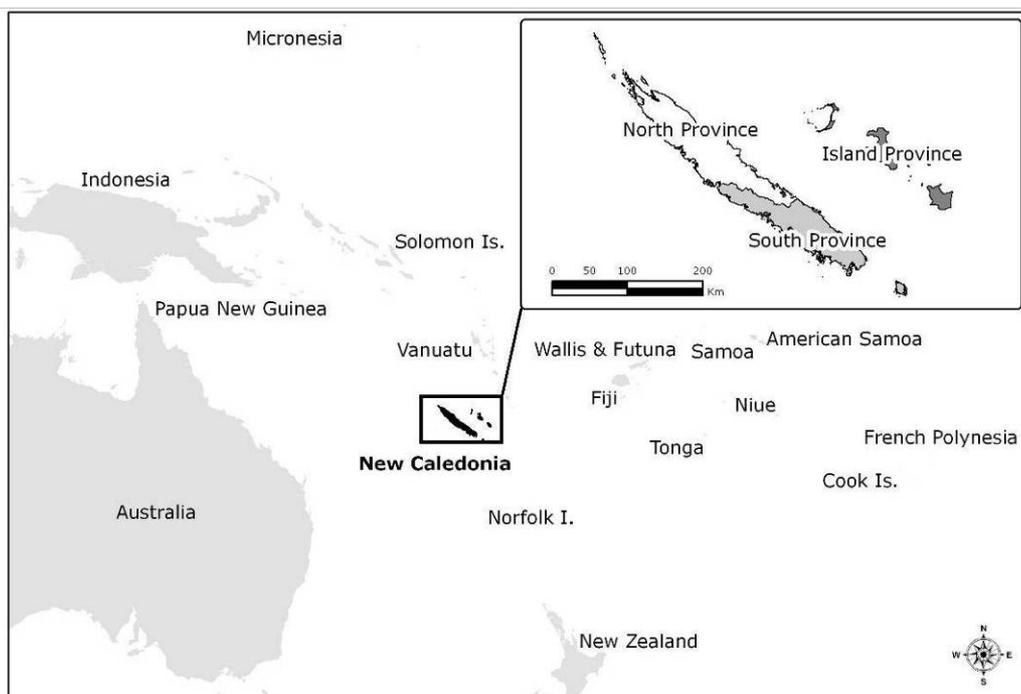
1. Localisation et superficie

La Nouvelle-Calédonie est un archipel situé dans le Pacifique Sud Occidental, à environ 1 500 km à l'Est de l'Australie et 2 000 km au Nord de la Nouvelle-Zélande, formant l'extrémité Sud de la Mélanésie qui comprend également la Papouasie-Nouvelle-Guinée, Fidji et le Vanuatu (figure 27).

Avec une superficie émergée de 19 000 km² et 23 400 km² de lagon, la Nouvelle-Calédonie est la troisième île du Pacifique Sud par sa superficie, après la Papouasie-Nouvelle-Guinée et la Nouvelle-Zélande.

L'archipel comprend : la Grande-Terre, île principale d'environ 400 km de long sur 50 km de large, les quatre îles Loyauté (Ouvéa, Lifou, Tiga et Maré) à l'Est, l'archipel des îles Belep au Nord, l'île des Pins au Sud, et quelques îlots lointains inhabités ([Maison de la Nouvelle-Calédonie](#), [Ministère de l'Outre-Mer](#)).

Figure 27 Situation géographique de la Nouvelle-Calédonie (DTSI, Service Géomatique)



2. Climat

La Nouvelle-Calédonie est située dans la zone intertropicale, entre le 20^{ème} et le 23^{ème} degré de latitude Sud. Elle possède un climat de type tropical dit océanique, car tempéré par le rôle

adoucissant de l'océan Pacifique et des alizés. Cette influence maintient les températures moyennes de 23°C et des valeurs extrêmes comprises entre 15°C et 35°C.

L'année est divisée en deux saisons, séparées par deux inter-saisons, déterminées par la position de la zone de convergence intertropicale (ZCIT) et l'importance de l'anticyclone de l'île de Pâques ([Wikipédia](#)) :

- été austral : de mi-novembre à mi-avril. Cette saison chaude et humide est caractérisée par des températures maximales voisines de 30°C, de fortes précipitations et des passages cycloniques. Janvier est le mois le plus pluvieux avec en moyenne 240 mm de pluie,
- première saison de transition, de mi-avril à mi-mai, avec une diminution du nombre de basses pressions, des précipitations et des températures,
- hiver austral : de mi-mai à mi-septembre. Cette saison plus fraîche et sèche est sous l'influence de perturbations d'origine polaire remontant la mer de Tasman, responsables de vents froids et forts d'Ouest associés à d'importantes précipitations sur la côte Ouest de la Grande Terre. Les températures sont généralement comprises entre 15 °C et 25 °C,
- deuxième saison de transition, ou saison sèche, de mi-septembre à mi-novembre. A cette période l'anticyclone de l'île de Pâques atteint son étendue maximale, faisant remonter les températures entre 18 et 26 °C et protégeant l'archipel des perturbations polaires. Cela se traduit par des alizés largement dominants et de très faibles précipitations. Octobre est le mois le plus sec avec des précipitations moyennes de 60,5 mm. De nombreux « feux de brousse » et incendies se déclenchent généralement à cette période de l'année.

Le climat néo-calédonien n'est toutefois pas homogène. La distribution spatiale des pluies est environ deux fois plus abondante sur la côte Est (côte au vent) avec jusqu'à 4 000 mm de pluie/an, que sur la côte Ouest, (côte sous le vent) où la pluviosité est localement inférieure à 1 000 mm/an, influençant grandement les paysages végétaux (HOFF, 1982 ; [Maison de la Nouvelle-Calédonie](#) ; DAVAR 2010).

3. Paysage

La Nouvelle-Calédonie présente une grande variété de paysages et héberge plus de 4 000 espèces de plantes, dont 2 500 endémiques principalement présentes sur substrat ultra-basiques ou en forêt (HOFF, 1982).

La Grande Terre, est traversée du Nord au Sud par une chaîne de massifs montagneux dont les sommets culminent parfois à plus de 1 600 mètres. Cette chaîne centrale coupe l'île en deux régions distinctes :

- La côte Est, exposée aux vents dominants et donc plus humide, présente des paysages de forêts tropicales denses (palmiers, cocotiers, etc.) avec des vallées étroites profondes et luxuriantes enchâssées entre les montagnes et l'océan.
- La côte Ouest, en revanche, est protégée des vents dominants par la chaîne, et est à donc plus sèche. Elle offre ainsi un paysage de vastes plaines herbeuses et de savanes à Niaouli propres à la culture et à l'élevage extensif, montant progressivement à l'Est en une série de

collines et de plateaux riches en minerais, recouverts de forêt sèche, vers les montagnes de la chaîne. Le littoral est quant à lui dominé par la mangrove (palétuviers).

Enfin, un écosystème particulier, dit de « maquis minier », caractérisé par une végétation buissonnante, à l'instar du maquis des zones méditerranéennes, s'est développé sur le sol ferreux des plaines et collines de l'extrémité Sud de la Grande Terre.

Les autres îles possèdent un relief plus plat (plateaux argileux ou coralliens) et chaotique (falaises, grottes, terrasses) ainsi qu'une végétation dense et hébergent des cultures vivrières et quelques petits élevages familiaux ([Ministère de l'Outre Mer](#), [Maison de la Nouvelle-Calédonie](#), [Wikipédia](#)).

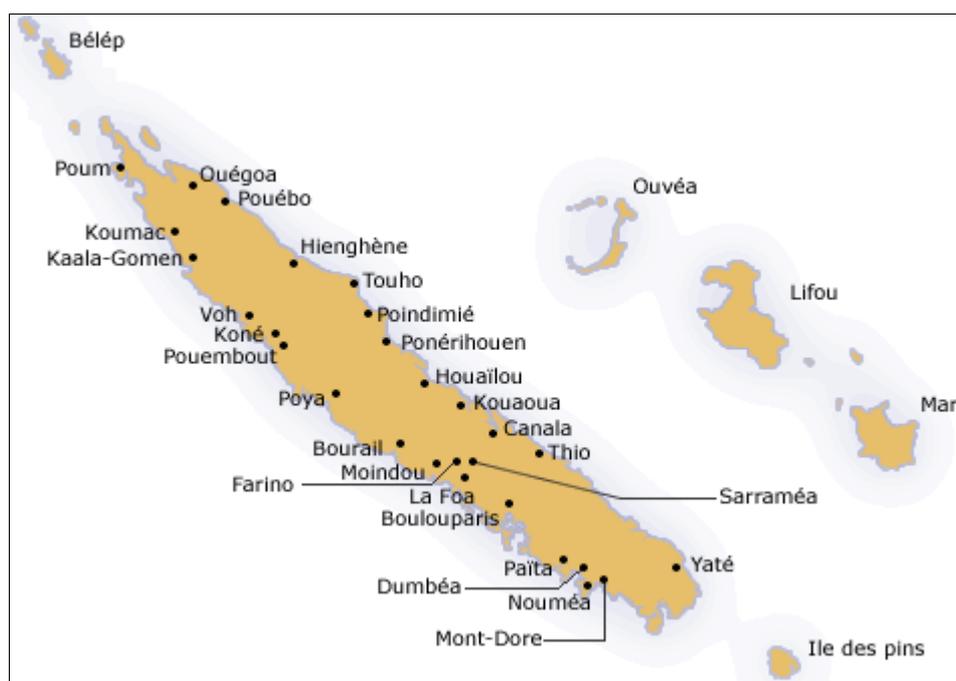
4. Population

La population de la Nouvelle-Calédonie a été estimée à 245 580 habitants lors du recensement de 2009. Depuis 1996, elle est en constante augmentation (1,72% par an).

Avec une densité de population de 13,2 habitants/km², 341 tribus et 33 communes, l'espace néo-calédonien semble très peu occupé. Cependant la population néo-calédonienne est très inégalement répartie.

Les habitants se comptent sur les doigts de la main dans certaines parties de la côte Ouest dédiées à l'élevage semi-extensif. De même, hormis quelques tribus et villages miniers, la modernisation des modes de vie a drainé les habitants des hauteurs de la chaîne vers la côte, voire jusqu'en ville (figure 28).

Figure 28 Carte des communes de Nouvelle-Calédonie ([AMNC](#))



Ainsi, seulement 17 436 habitants (7%) vivent aux îles Loyauté (8,8 hab./km²) et 45 137 (18%) dans la province Nord (pourtant la plus étendue des trois provinces, et où la densité n'est donc que de 4,7 hab./km²) contre 183 007 (75%) dans la province Sud (26,1 hab./km²) qui regroupe ainsi environ trois quarts de la population calédonienne sur seulement un peu plus d'un tiers du territoire.

Et au sein même de cette dernière province la répartition de la population est très déséquilibrée, avec une forte concentration à Nouméa et dans son agglomération. Nouméa, avec 97 579 habitants, rassemble ainsi 40% des habitants du territoire (2 135 hab./km²) sur à peine 0,35% de sa superficie, et son agglomération compte 163 723 personnes, soit 67% de la population totale sur moins d'1/10^e de la surface de l'archipel ([Wikipédia](#), [Maison de la Nouvelle-Calédonie](#)).

La Nouvelle-Calédonie est par ailleurs un territoire très cosmopolite hébergeant de nombreuses ethnies. Selon le recensement de 2009, la répartition ethnique de la Nouvelle-Calédonie est la suivante (plusieurs déclarations étant possibles pour une même personne) ([Wikipédia](#), [ISEE](#)):

Mélanésiens (Kanakas) : 99 078 personnes (environ 40% de la population)

- Européens (« Calédoniens », métropolitains, etc.) : 70 336 personnes (34%)
- Métis : 22 872 personnes (9%)
- Wallisiens et Futuniens : 21 112 personnes (9%)
- Asiatiques (Indonésiens, Vietnamiens, Chinois) : 7 470 personnes (3%)
- Tahitiens : 4 947 personnes (2%)
- Ni-Vanuatu : 2 248 personnes (1%)
- Autre (non spécifié) : 2 867 personnes (1%)

5. Institutions politiques

L'histoire institutionnelle de la Nouvelle-Calédonie est particulièrement complexe, l'île ayant connu une multitude de statuts différents. Colonie française de 1853 à 1946, elle sera ensuite Territoire d'Outre-Mer de 1946 à 1999 et enfin une Collectivité *sui generis* d'Outre-mer. De plus, dans les années 1980, les statuts d'autonomie interne se sont succédé pour essayer de faire face à la revendication indépendantiste croissante puis aux Événements : le dernier de ces statuts est celui défini par l'Accord de Nouméa, aujourd'hui en application.

Actuellement, les institutions de la Nouvelle-Calédonie sont définies par la Loi Organique n°99-209 du 19 mars 1999 relative à la Nouvelle-Calédonie.

Les Provinces

Le territoire est découpé en trois collectivités (figure 31) appelées Provinces (décret du 24 juillet 1989) qui ont compétence dans toutes les matières qui ne sont pas réservées à l'Etat, à la Nouvelle-Calédonie ou aux Communes. Elles s'administrent librement par des assemblées élues au suffrage universel direct.

- la Province Sud (7 012 km²), composée d'un peu moins de la moitié sud de la Grande Terre, ainsi que l'Île des Pins. Elle a pour chef-lieu Nouméa, la capitale du territoire ;
- la Province Nord (9 583 km²), comprend un peu plus de la moitié nord de la Grande Terre ainsi que les îles Belep. Elle a pour chef-lieu Koné, située sur la côte Ouest ;
- la Province des îles Loyauté (1 981 km²), comprend les îles d'Ouvéa, Lifou, Tiga et Maré. Son centre administratif est à Wé sur Lifou.

Le Congrès

Lors du même scrutin que pour les élections provinciales sont désignés les représentants des provinces qui siègeront au Congrès de la Nouvelle-Calédonie, l'Assemblée délibérante locale (article 62 de la loi organique). Le Congrès élit à la proportionnelle les membres du Gouvernement. Dans les champs de compétence dévolus au Territoire, le Congrès légifère en votant des lois de pays et est habilité à prendre en charge les transferts de compétences de la France vers le territoire.

Le Gouvernement

Le pouvoir exécutif et réglementaire est assuré par un Gouvernement collégial élu par le Congrès de la Nouvelle-Calédonie (Article 108 de la Loi Organique) dont il reflète la composition politique. Ainsi dans tous les domaines, les décisions ne peuvent être prises qu'à la majorité de ses membres. Toutefois, chaque membre du Gouvernement dispose d'un ou plusieurs des secteurs suivants à sa charge sans toutefois avoir ni le statut ni le titre de ministre à proprement parler : « mines, énergie, transport international »; « budget, fiscalité, économie numérique »; « écologie, développement durable, agriculture, élevage et pêche, »; « culture, condition féminine, citoyenneté », « enseignement »; « fonction publique », « économie, industrie, travail »; « santé, famille, solidarité et handicap »; « infrastructures publiques et transport local ».

L'Etat

L'État est représenté en Nouvelle-Calédonie par un haut-commissaire de la République, qui a rang de préfet. Depuis l'Accord de Nouméa, les prérogatives du haut-commissaire sont moindres qu'auparavant : seul chef de l'exécutif de 1989 à 1999, il veille désormais à l'exercice régulier des compétences des institutions de la Nouvelle-Calédonie et des Provinces et à la légalité de leurs actes. Il organise et gère par ailleurs les services relevant des pouvoirs régaliens de l'État : relations extérieures, immigration, monnaie, défense, justice, fonction publique de l'État, maintien de l'ordre et sécurité civile. Le haut-commissaire est par ailleurs représenté par trois Commissaires Délégués de la République, qui ont rang de sous-préfets et siègent dans les trois Provinces.

Le Sénat Coutumier

Le Sénat Coutumier est l'assemblée des différents conseils coutumiers du pays kanak, il est saisi des projets et propositions de loi du pays ou de délibération de la Nouvelle-Calédonie ou d'une Province relatifs à l'identité Kanak au sens de l'Accord de Nouméa. Par ailleurs, il est doté d'une fonction délibérative concernant les projets ou propositions de lois du pays touchant aux signes identitaires, au statut civil coutumier et au régime des terres. Il dispose aussi de la faculté de saisir le Gouvernement, le Congrès ou une Province de toute proposition intéressant l'identité Kanak ([Gouvernement de Nouvelle-Calédonie](#), [Province-Sud](#), [Wikipédia](#)).

B. Données agricoles

1. Surfaces agricoles

Tableau 4 Répartition des surfaces agricoles par Province (DAVAR, 2010)

Répartition de la surface agricole utilisée par province en 2002				
Surfaces en ha	province des îles Loyauté	province Nord	province Sud	Nouvelle-Calédonie
surface agricole utilisée (SAU)	1 164	121 647	125 066	247 878
superficie totale du territoire	198 090	958 260	701 200	1 857 550
SAU/superficie totale du territoire	1%	13%	18%	13%

(Source : RGA 2002)

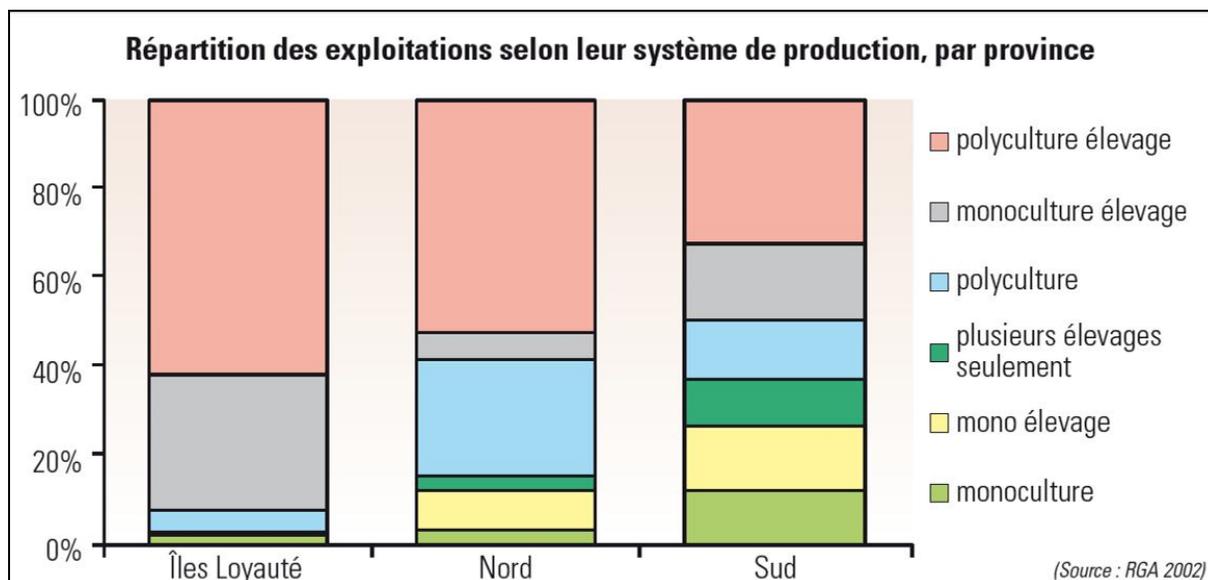
La superficie agricole utilisée représentait, en 2002, 247 878 ha, soit seulement 13% de la superficie de la Nouvelle-Calédonie (figure 31). La Nouvelle-Calédonie n'a donc pas, à proprement parler, une grande vocation agricole. Ceci s'explique notamment par la géographie de l'archipel : le relief de la côte Est offre une faible surface cultivable et les larges plaines de la côte Ouest sont souvent peu fertiles et très sèches. Par ailleurs la chaîne n'est que très peu propice à la culture. De même, 1/3 de la surface de la Grande Terre est occupé par des sols ultrabasiques, impropres à la culture. Enfin, les îles Loyauté, qui ne disposent pas de cours d'eau, possèdent une ressource en eau fragile et difficilement accessible et présentent de nombreux affleurements calcaires qui rendent les cultures difficilement mécanisables (DAVAR, 2010).

Ainsi, la faible part des surfaces cultivables, la qualité souvent mauvaise des sols, les aléas climatiques (cyclones et sécheresses fréquents), l'éloignement, notamment pour les producteurs du Nord et des Îles, du principal centre de consommation (Grand Nouméa) sont autant de freins pour le développement de l'agriculture calédonienne (DAVAR, 2010).

2. Systèmes de production

Le système « polyculture-élevage » prédomine avec près de la moitié des exploitations en 2002 (figure 29). À noter qu'aux îles Loyauté, les systèmes de production associant élevage(s) et culture(s) concernent essentiellement l'élevage de porcins, à la différence de la Grande Terre où l'élevage bovin est très souvent présent.

Figure 28 Systèmes de production agricole et répartition par Province (DAVAR, 2010)



3. Elevage bovin

a) Historique

Les premières têtes de bétail, originaires d’Australie, auraient été introduites en Nouvelle-Calédonie dans les années 1840 par des Anglo-saxons (santaliens, missionnaires) avant même la prise de possession de l’île par la France en 1853. Le premier grand éleveur français a lui obtenu une concession de 2500 ha en 1861 sur laquelle il installe une centaine de bovins en provenance d’Australie. En 1872, on dénombre 88 « propriétaires de bestiaux » pour une superficie totale de 105 000 ha, attribués par la colonisation. 6400 bovins environ ont alors été importés par la colonie entre 1860 et 1871.

Les races sont alors exclusivement anglo-saxonnes : Drhum, Hereford, Devon et quelques Angus. Les animaux de race pure étaient très rares, les croisements anarchiques. La première introduction de race Limousine daterait de 1905, on la retrouve ensuite en 1910-1912 (DOMENECH, 1984).

b) Races employées

Plusieurs races bovines sont employées en Nouvelle-Calédonie, certaines de manière historique, et qui sont encore prépondérantes, d’autres introduites plus récemment, induisant une mutation des pratiques d’élevage afin mieux répondre aux contraintes du milieu (chaleur, sécheresse, lutte contre les tiques). Les principales races employées sont les suivantes (UCS) :

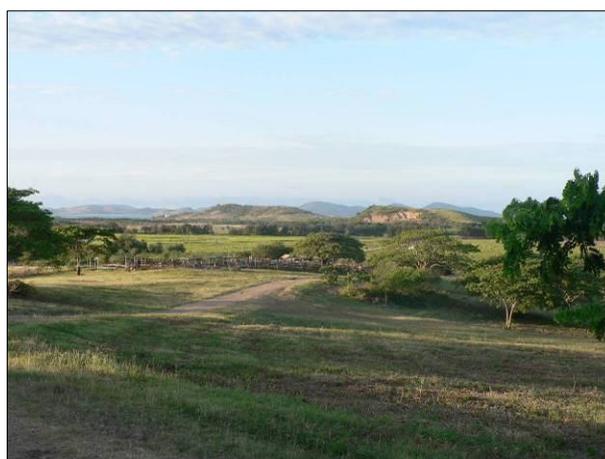
- **Limousin** : race française utilisée historiquement en Nouvelle-Calédonie, elle est encore à ce jour la plus employée dans l’élevage calédonien pour sa précocité, sa rusticité et ses bonnes capacités maternelles et bouchères. Par ailleurs, les limousins calédoniens bénéficient d’une longue adaptation aux conditions d’élevage tropicales et les effectifs importants permettent une forte intensité de sélection, mais demeurent sensibles à la pression exercée par les tiques.
- **Charolais** : autre race française élevée en Nouvelle-Calédonie depuis 1969. Très appréciée pour sa production bouchère exceptionnelle et sa capacité amélioratrice en croisement, la race Charolaise donne de bons résultats dans les stations d’élevage mais souffre particulièrement de la pression des tiques.

- **Santa Gertrudis** : créée à partir de 1910 au Texas (USA) par croisement du zébu Brahman (3/8) et du Shorthorn (5/8), cette race est présente en Nouvelle Calédonie depuis 1957. Elle est bien adaptée aux conditions d'élevage difficiles et dispose notamment d'une certaine résistance aux tiques ainsi qu'à la chaleur.
- **Zébu Brahman** : d'abord sélectionné aux Etats-Unis, il s'est largement répandu dans de nombreux pays tropicaux. Il a la capacité de s'adapter à des conditions d'élevage extrêmes. Il supporte bien la chaleur et résiste aux tiques. C'est un animal tardif avec d'excellentes facultés de récupération après une période de disette alimentaire. Dans les zones difficiles, il est de plus en plus utilisé en croisement avec les races taurines.
- **Droughtmaster** : race hybride récemment fixée (50% Brahman, 50% Shorthorn). Cette race a été développée dans le Queensland en Australie avec pour objectif d'améliorer la fertilité et la précocité du Brahman tout en conservant son adaptation aux conditions tropicales. Importée en Nouvelle-Calédonie en 2008, elle est pour l'instant utilisée en race pure afin de produire des reproducteurs mâles qui seront ensuite être utilisés en croisement terminal avec des vaches croisées Brahman.
- **Sénépol** : originaire de l'île de Sainte Croix dans les Caraïbes. Il s'agit d'une race composite constituée de N'Dama et de Red Poll. Ayant évolué en milieu hostile, cette race taurine a développé une résistance aux tiques et à la sécheresse qui lui permettent d'être bien adaptée au milieu tropical. Des reproducteurs Sénépol ont été importés en Nouvelle-Calédonie en 2008 afin d'être utilisés en croisement avec des troupeaux de *Bos taurus* d'origine européen, afin de bénéficier du fort degré d'hétérosis de cette race.
- **Hereford** et **Angus** : ces deux races sont encore utilisées de manière anecdotique sur le territoire (quelques élevages historiques, stations d'élevage amélioratrices).

c) Importance économique

L'élevage calédonien peut être qualifié de semi extensif (figure 29) avec un chargement moyen de l'ordre de 0,52 tête par ha soit 0,32 unité gros bovin (UGB) par ha. L'évaluation du nombre de naissances en 2006 s'élevait à 22 700, soit un taux moyen de fécondité de 0,63 veaux nés par vache et par an, avec de grandes variations selon les exploitations (DAVAR, 2010).

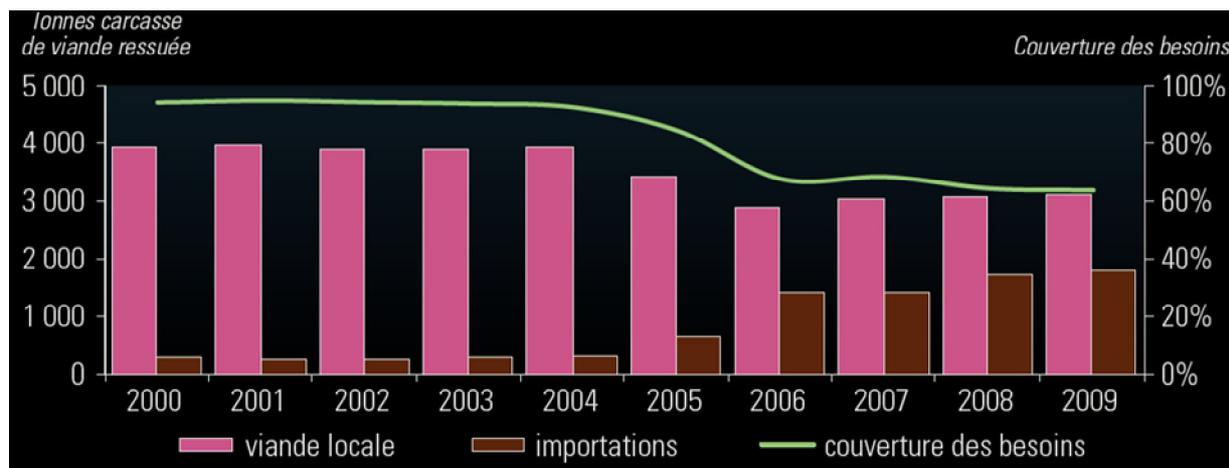
Figure 29 Station d'élevage bovin calédonienne (commune de Boulouparis) (C. Marchal, LNC)



En Nouvelle-Calédonie, l'élevage bovin tient une place prépondérante en occupant 97% de la surface agricole utilisée. Pendant près d'un siècle la filière bovine calédonienne faisait preuve d'une

stabilité remarquable avec un effectif d'environ 120 000 têtes de bétail. Une dégradation du cheptel bovin a été révélée en 2002 avec un cheptel de 111 000 têtes et 1 470 élevages, dont 1 100 avaient au moins 10 têtes. En 2006, le cheptel bovin était estimé à 80 000 têtes. La diminution notable de la production de viande en 2005 et 2006 a confirmé la baisse du niveau d'activité de cette filière et a induit une augmentation nécessaire de l'importation de viande bovine en provenance de Nouvelle-Zélande (figure 30).

Figure 30 Production, importations, couverture des besoins en viande bovine (DAVAR, 2010)



Des aides financières (Gouvernement, Provinces) ont été mises en place en 2007 en appui à la filière et la volonté d'amélioration génétique (inséminations artificielles, transplantations embryonnaires) incluant l'importation de reproducteurs (433 bovins importés d'Australie et de Nouvelle-Zélande ces dix dernières années) permet également d'améliorer la production.

Elle demeure cependant la deuxième filière la plus importante (17% des parts de l'ensemble des productions agricoles) derrière la filière légumes (25%), et juste devant l'aviculture (16%) et la filière fruits (15%). L'élevage bovin a ainsi produit 1,4 milliard de CFP en 2009 (l'ensemble des productions animales pesant 4 milliards de CFP) dont 859 millions de CPF en Province Sud et 517 en Province Nord pour 16 729 têtes abattues soit un tonnage global de 3 200 tonnes dont les 2/3 en Province Sud.

C. Capacités vétérinaires

La lutte contre les maladies animales relève de la Nouvelle-Calédonie, au titre de sa compétence en matière de réglementation zoo-sanitaire (Article 22, alinéa 22 de la Loi Organique 99/209 relative à la Nouvelle-Calédonie). Elle dispose à ce titre de différentes structures assurant des missions complémentaires.

1. Services vétérinaires

Depuis 2001, la Direction des Affaires Vétérinaires Alimentaires et Rurales (DAVAR) est chargée de la définition et de la mise en œuvre de la politique de la Nouvelle-Calédonie notamment dans les domaines suivants :

- Réglementation zoosanitaire et phytosanitaire
- Contrôles zoo et phytosanitaire aux frontières, hygiène et santé publique vétérinaire
- Statistiques (agriculture, agroalimentaire et espace rural)

- Gestion des ressources en eau du domaine public de la Nouvelle-Calédonie

Dans ces domaines, elle est en particulier chargée des activités suivantes :

- élaboration de législations, réglementations et protocoles
- exercice de la police, contrôles, inspections et certifications, mise en œuvre de plans de surveillance
- réalisation de diagnostics, d'analyses et d'études en laboratoires
- constitution et diffusion de statistiques, mise en place d'observatoires
- réalisation d'études et d'expertises, contribution à la planification et à l'évaluation de politiques publiques
- participation au schéma d'aménagement et de développement
- contrôle des établissements publics et organisations professionnelles
- mise en œuvre et contrôle des aides au secteur rural

La DAVAR comprend trois services techniques: le Service de l'Eau, des Statistiques et Etudes Rurales (SESER), le Service d'Inspection Vétérinaire, Alimentaire et Phytosanitaire (SIVAP), le service des Laboratoires Officiels Vétérinaires, Agroalimentaires et Phytosanitaires de la Nouvelle-Calédonie (LNC), répartis sur des sites distincts. Elle emploie environ 120 agents et dispose d'un budget de 1,7 milliards de CFP par an (hors dépenses de personnel), dont 1 milliard en crédits d'interventions ([DAVAR](#)).

a) Service d'Inspection Vétérinaire Alimentaire et Phytosanitaire

Le Service d'Inspection Vétérinaire, Alimentaire et Phytosanitaire (SIVAP) est chargé notamment des missions de santé publique vétérinaire et de protection des végétaux suivantes :

- analyses de risques et d'inspection zoo-sanitaire
- analyses de risques et d'inspection phytosanitaire
- inspections à l'importation
- sécurité sanitaire des aliments
- certifications vétérinaires et phytosanitaires à l'exportation

Il peut également être chargé de préparer les projets de réglementation relatifs à la biosécurité et à la sécurité sanitaire des aliments, et les projets de protocoles sanitaires pour l'exportation et l'importation de denrées alimentaires, de végétaux, produits végétaux, animaux et produits animaux ([DAVAR](#)).

b) Service des Laboratoires Officiels

En 1981, dans le cadre d'une vaste enquête zoo-sanitaire, l'Institut d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des pays Tropicaux (IEMVT) met en place le premier laboratoire vétérinaire de Nouvelle-Calédonie. En 1985, le Laboratoire Territorial de Diagnostic Vétérinaire (LTDV) est remis au Territoire de Nouvelle-Calédonie, devenant laboratoire officiel en matière de santé animale. En 2001, lors de la création de la DAVAR, il devient le "Service des Laboratoires Officiels Vétérinaires, Agroalimentaires et Phytosanitaires de la Nouvelle-Calédonie" (LNC). Ses missions ont été redéfinies par l'arrêté n°2007-5681/GNC du 27 novembre 2007 ([JURIDOC](#)) et comportent notamment des missions de contrôle, de diagnostic, d'analyses et d'études en laboratoires suivantes :

- analyses, études ou enquêtes ayant trait notamment au contrôle de la salubrité et de la qualité des denrées alimentaires et de l'eau, à la santé animale et à la protection des végétaux,

- étude et perfectionnement de moyens d'identification et de lutte contre les maladies des animaux et des végétaux,
- analyses officielles pour l'exportation et l'importation des animaux et denrées d'origine animale et végétale, dans la mesure où elles sont prescrites par le SIVAP ([DAVAR](#)).

Le secteur santé animale du laboratoire traite environ 15 000 échantillons pour environ 29 000 analyses annuelles (données : rapport d'activité LNC, 2009). Le LNC est par ailleurs le seul prestataire local d'analyses en santé animale.

2. Vétérinaires sanitaires

Une soixantaine de vétérinaires exercent dans le secteur public (DAVAR, IAC, Province Sud ou encore Institut Pasteur) et privé (cliniques canines, ou mixtes) en Nouvelle-Calédonie, à la fois à Nouméa mais également sur l'ensemble du territoire (données : SIVAP, 2010). La cinquantaine de cliniciens en activité disposent du mandat sanitaire et exercent à ce titre une surveillance épidémiologique passive. Les informations sanitaires sont alors transmises soit au SIVAP (lors foyers de pathologies et/ou de mortalités) soit au LNC à travers la demande diagnostique qui est financièrement prise en charge par le Gouvernement lors de suspicion de maladie réputée contagieuse (listées dans la Délibération 154 du 29 décembre 1998, relative à la police sanitaire vétérinaire en Nouvelle-Calédonie). Les vétérinaires sanitaires participent par ailleurs aux enquêtes épidémiologiques de même qu'aux mesures de police sanitaire (mise en place de traitements).

3. Autres organisations

D'autres organisations interviennent également sur les thématiques d'élevage ou de santé animale.

C'est le cas de l'Institut Agronomique néo-Calédonien² (IAC), qui conçoit et met en œuvre des programmes de recherche appliquée et d'appui au développement rural particulièrement sur la question de la gestion des tiques et assure également en routine le diagnostic parasitologique et la mise en œuvre des tests de résistance des tiques aux acaricides.

Les Provinces quant à elles, instaurent des stratégies spécifiques dans leur champ géographique, et apportent un appui technico-économique aux éleveurs par l'intermédiaire des Directions du Développement Rural (DDR).

D'autres organismes, similaires à ceux pouvant exister en métropole, apportent également leur appui, notamment dans l'organisation de la lutte contre les tiques : Syndicats d'éleveurs, Chambre d'Agriculture de la Nouvelle-Calédonie (CANC), Unité de Sélection et de Promotion des Races Bovines (UPRA bovine), Groupement des Techniques Vétérinaires (GTV).

Tous sont représentés au sein d'un comité de lutte contre la tique (CLT) présidé par un représentant des éleveurs et dont le secrétariat est assuré par la DAVAR. Après 10 ans de fonctionnement de ce comité, les administrations et professionnels de l'élevage ont décidé de s'organiser au sein d'un groupement de défense sanitaire (GDS) lequel reprendra une partie de ces missions (BARRE, 2010).

² L'IAC est un syndicat mixte entre l'Etat, les collectivités provinciales, la Nouvelle-Calédonie et le Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD)

D. Données sanitaires

1. Enquête de 1984 et actualisations

Une vaste enquête zoosanitaire, achevée en 1984, a permis de dresser un bilan de la santé animale de l'ensemble des espèces de rente présentes en Nouvelle-Calédonie. Elle répondait à une convention, signée en 1980 entre l'IEMVT et le Territoire, définissant les trois actions suivantes :

- rechercher les principales maladies infectieuses et contagieuses listées par l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE), l'Organisation des Nations Unies pour l'Agriculture et l'Alimentation (FAO) complétées de maladies d'importance économique, zoonotique ou présentant un intérêt épidémiologique régional particulier ;
- mise en place d'un laboratoire de diagnostic vétérinaire ;
- assurer la formation du personnel technique local.

La définition du statut du cheptel calédonien à l'égard des principales maladies contagieuses a constitué un préalable au développement des exportations / importations d'animaux sur pieds et produits d'origine animale.

Depuis 1981, une attention particulière a été portée à la recherche des foyers concernant les maladies visées par l'enquête (IEMVT, 1984).

2. Statut sanitaire général

Cette enquête initiale a permis de montrer que la Nouvelle-Calédonie était indemne de l'ensemble des principales pestes animales (ancienne liste A de l'OIE) et de la plupart des autres maladies contagieuses majeures (ancienne liste B de l'OIE) et ce notamment en lien avec ses particularités géographiques (territoire insulaire éloigné). A ce titre il n'existe en Nouvelle-Calédonie aucune prophylaxie obligatoire de l'ensemble des filières animales.

Depuis, le statut sanitaire ainsi déterminé vis-à-vis des maladies prioritaires par leur importance économique, zoonotique et épidémiologique est à la fois préservé par des mesures à l'importation strictes et conforté par une surveillance sanitaire régulière active et passive reposant sur le réseau épidémiologique constitué par les services vétérinaires (enquêtes, quarantaine, abattoirs) et la cinquantaine de praticiens vétérinaires qui exercent sur l'ensemble du territoire.

Les unités de recherche et de diagnostic locales (IFREMER, Institut Agronomique Néo-Calédonien, Institut Pasteur et Services des Laboratoires Officiels Vétérinaires Agroalimentaires et Phytosanitaires de la Nouvelle-Calédonie) appuyées par leur réseau scientifique international viennent compléter ce maillage sanitaire.

L'épidémiogigilance vis-à-vis des maladies absentes de Nouvelle Calédonie repose sur une surveillance sanitaire active à travers des enquêtes sérologiques, histologiques et microbiologiques menées par la DAVAR pour confirmer l'absence de certaines pathologies à partir d'échantillonnages réalisés en abattoir et dans les troupeaux sentinelles, complétée par la surveillance passive continue qu'assurent les vétérinaires inspecteurs en abattoir et les vétérinaires praticiens.

Concernant l'espèce bovine, le bilan sanitaire est particulièrement favorable, avec un cheptel indemne d'anaplasmose, de babésiose (jusqu'en 2008), de brucellose, de campylobactériose génitale bovine, d'encéphalopathie spongiforme bovine, de fièvre aphteuse, de fièvre charbonneuse, de fièvre Q, de leucose bovine enzootique, de péripneumonie contagieuse bovine, de peste bovine, de rage, de tuberculose, de trichomonose (déclaration OIE 2010, SIVAP).

On note cependant la présence de la dermatophilose, de la diarrhée virale bovine, de la rhinotrachéite infectieuse bovine (sous une forme non ou peu pathogène), de la néosporose, de la leptospirose, du botulisme, ainsi qu'une faible prévalence de paratuberculose (enquête d'actualisation sanitaire bovine 2008-2010, LNC).

3. Maladies transmises par les tiques

a) Babésiose bovine

Bien que présente dans différents territoires du Pacifique (Australie, Papouasie Nouvelle-Guinée, Tahiti), la babésiose bovine (à *Babesia bovis*) était considérée initialement absente du territoire calédonien. L'enquête zoonitaire réalisée entre 1981 et 1984 n'a en effet pas mis en évidence la babésiose bovine sur le territoire.

Pour 859 frottis sanguins négatifs, la prévalence de l'infection dans la population bovine calédonienne a été estimée inférieure à 0,3%. Dans ce cas, l'hypothèse d'un éventuel portage ne serait pas conforme à l'épidémiologie de la maladie en zone d'infestation massive par *Rhipicephalus microplus*. Par ailleurs, les observations de terrain et les recherches hématologiques négatives sur les bovins à symptômes suspects (ictère, anémie, hémoglobinurie, fièvre) ont conforté l'hypothèse d'absence de la maladie sur le territoire et ce malgré les limites du dépistage hématologique (IEMVT, 1984).

b) Autres agents pathogènes

Cette même enquête, a permis de conclure à l'absence des pathogènes suivants : *Ehrlichia ruminantium*, *Anaplasma spp.* et à la présence de *Theileria spp.* considérées non pathogènes. La Nouvelle-Calédonie jouit donc depuis de nombreuses années d'un statut sanitaire favorable, hébergeant la tique *Rhipicephalus microplus* sans son cortège d'agents pathogènes habituels.

4. Stratégies de lutte contre les tiques

La tique du bétail constitue donc le premier facteur limitant de l'élevage bovin. Par chance l'importation de la tique pendant la seconde guerre mondiale s'est faite sans son cortège de maladies (BARRE, 2010), c'est donc surtout l'effet direct des tiques qui est problématique en Nouvelle-Calédonie où l'action combinée de plusieurs moyens de lutte contribue à diminuer considérablement l'effet de cet ectoparasite.

a) Lutte chimique initiale et apparition de résistances

Les molécules acaricides se sont succédées en Nouvelle-Calédonie, au rythme de l'apparition des résistances et de nouvelles molécules :

- 1944 : Arsenic
- 1947 : DDT (organochloré)
- 1973 : Diéthion

- 1986 : Fluméthrine/Deltaméthrine
- 1992 : Chlorpyrifoséthyl
- 1996 : Amitraz
- Aujourd'hui : Amitraz, Avermectines

De manière quasi-systématique, les premières résistances sont mises en évidence au bout de 5 à 7 ans d'utilisation d'un principe actif donné soit en moyenne au bout de 70 à 90 utilisations. Face à ce constat d'échec des programmes d'éradication de la tique *R. microplus* en Nouvelle-Calédonie, le Comité de Lutte contre la Tique a encouragé le recours à une lutte intégrée.

b) Lutte intégrée

Cette nouvelle approche a pour objectif de maîtriser les populations de tiques dans les élevages à un niveau compatible avec la production de viande bovine tout en pérennisant les derniers principes actifs disponibles. Cette démarche s'inscrit dans une volonté de mise en place d'une agriculture responsable et de garantir la salubrité des viandes issues de cette production. Un partenariat interprofessionnel privé/public est également en cours de constitution pour construire un réseau d'épidémio-surveillance associé.

Le **volet agronomique** de la lutte intégrée repose sur une rotation des parcelles avec mise en défens et gyrobroyage, l'isolement des zones humides, un désherbage ciblé, la destruction des refus ainsi que la construction de barrières pour une meilleure gestion de la ressource pour lutter contre l'abondante population de cerfs. Il rencontre comme principales difficultés une humidité ambiante (« grande et petite » saison des pluies) et une température favorables à la tique, de même qu'une nécessaire intégration de la saisonnalité dans les choix de l'éleveur, limité notamment par la saison sèche et l'insuffisance fourragère qui lui est associée.

Ce volet est utilisé en association raisonnée avec l'usage de traitements acaricides courte (quota annuel de 10 bains) ou longue action (au plus trois fois / an), les derniers permettant de faire diminuer le niveau d'infestation des pâturages. Le schéma d'intervention du **volet chimique** de la lutte s'appuie sur le statut initial de l'élevage en terme de résistance aux acaricides (sensible, tolérant, résistant) et doit à terme tenir compte au mieux du niveau d'infestation, de la saison et des possibilités de rotation de pâturages, l'objectif étant d'espacer au maximum les traitements rémanents (éco-toxicité, gestion des résidus dans la viande). Le choix des principes actifs est orienté par des tests de résistance aux acaricides (par prélèvement de tiques gorgées, dosage des acaricides employés sur le terrain) au laboratoire et la notion de réversibilité.

Enfin, le **volet génétique** de la lutte repose sur l'acquisition progressive de races moins sensibles à l'infestation par les tiques. Il s'agit là d'une démarche à plus long terme, l'intervalle intergénérationnel étant de 4 ans en moyenne. Les races de moindre sensibilité aux tiques présentes en Nouvelle-Calédonie sont le Brahman, le Droughmaster, le Sénépol, le Santa Gertrudis, etc. Elles sont utilisées soit en races pures soit en croisement *B. taurus* x *B. indicus* (avec 50% de « sang » minimum) selon différentes stratégies économiques (taureau *B. taurus* x vaches *B. indicus*, taureau *B. indicus* x vaches *B. taurus*, en double troupeau ou en « criss cross ») selon le niveau d'infestation des tiques dans l'exploitation et selon le niveau zootechnique de l'exploitant et ses ressources foncières. Ce dernier volet rencontre de nombreuses difficultés, à la fois culturelles et techniques : attachement des exploitants à certaines races (morphologie, caractère), nouvelle attitude à adopter à l'égard des tiques (ne pas traiter ces animaux, accepter un certain niveau d'infestation), conduite

d'élevage différente, moindre rendement boucher, difficulté d'une bonne dissémination du progrès génétique avec une faible population de moindre sensibilité.

Enfin, la mise en place d'un **volet immunologique** de lutte est actuellement à l'étude par la DAVAR et l'IAC avec l'appui d'un expert australien. Celui-ci reposerait sur l'utilisation d'un vaccin contre les tiques, inspiré de celui utilisé en Australie jusqu'à la fin des années 90 (Gavac® Bm86 produit par Heber Biotec S.A. à la Havana, Cuba), lequel serait adapté aux souches de tiques présentes sur le territoire calédonien (DE LA FUENTE *et al.*, 1998 et 1999).

II. 1989 : Première introduction de babésiose bovine

L'enquête épidémiologique de 1981-84 et la surveillance épidémiologique passive ont permis de considérer que la babésiose bovine (à *B. bovis*) était absente du territoire calédonien.

En 1989, la première introduction du pathogène sur le territoire est répertoriée. Neuf mois après l'importation de bétail immunisé contre la babésiose avec un vaccin vivant, des cas cliniques de babésiose sont apparus dans une ferme laitière située au Nord de Nouméa (ANON, 2008b; DAF, 1992; UILENBERG, 1992).

A. Diagnostic du cas index

1. Suspicion clinique

Mi décembre 1989, dans un élevage de bovins laitiers de Païta, un premier bovin présentant de l'hématurie et un ictère décède, suivi d'un deuxième bovin qui a fait l'objet de prélèvements sanguins et d'une autopsie. L'hypothèse initiale de leptospirose est écartée et une autre maladie hémolytique est suspectée.

2. Confirmation de laboratoire

Les prélèvements adressés au Laboratoire Territorial de Diagnostic Vétérinaire révèlent la présence d'hématozoaires parasites dégénérés du fait de la mauvaise conservation des prélèvements. Le laboratoire, suspectant une maladie hémolytique jusqu'alors non décrite sur le territoire, expédie les prélèvements au laboratoire de référence métropolitain (IEMVT Paris) qui pose un diagnostic de certitude de babésiose et suspecte une co-infection par *B. bovis* et *B. bigemina*. Par la suite l'analyse par l'IEMVT des sérums des 98 bovins de l'élevage touché confirme la réalité de la babésiose et identifie sans ambiguïté les deux espèces en cause.

Les résultats confortent l'opinion selon laquelle la contamination de l'élevage s'est faite lors de l'importation d'Australie, au mois de mars 1989, de 20 génisses de race laitière. En effet, sur les 27 bovins ayant fourni des résultats positifs parmi les 98 bovins testés, 13 appartiennent à ce lot de 20 génisses et tous les 13 proviennent d'un seul et même élevage australien (13/15). (DAF, 1992)

B. Enquête épidémiologique rétrospective

1. Origines de l'introduction

Les animaux importés proviennent d'une zone officiellement indemne de tiques. A l'exception de deux taureaux, l'ensemble des bovins importés en mars 1989 provient d'une zone extrêmement proche de la zone à tiques, avec un risque important de contamination compte tenu de cette proximité. Les animaux de cette zone présentent en effet parfois des anticorps vis-à-vis de *B. bovis* ou *B. bigemina*, signant un contact avec ces parasites.

De plus, les éleveurs australiens vaccinent régulièrement leurs animaux contre la babésiose, y compris ceux destinés à être commercialisés. Il s'avère que certains des taureaux et génisses importés auraient reçu une injection vaccinale de *Babesia* vivantes.

2. Foyers à risque

Les 9 élevages importateurs de mars 1989, répartis du Sud au Nord sur les communes de Païta, Boulouparis, Bourail, Poya et Pouembout ont été déclarés infectés (2 352 bovins) et 28 autres élevages (voisins directs, élevages ayant eu des échanges de bétail de matériel ou de fourrage avec les élevages infectés, élevages importateurs depuis 1985) placés en observation (3 322 bovins).

C. Mesures instaurées

1. Mesures quarantainaires

Début janvier 1990, un arrêté³ portant déclaration d'infection a été pris et a placé en quarantaine l'élevage infecté, tous les élevages ayant présenté un risque épidémiologique particulier ainsi que tous les élevages ayant importé des bovins d'Australie en même temps que le lot de génisses supposé contaminant.

2. Contrôle sérologique

Des contrôles sérologiques de différents niveaux (élevages déclarés infectés, voisins directs, élevages présentant un risque épidémiologique, autres élevages importateurs depuis 1985 et échantillonnage aléatoire sur le reste du territoire) portant sur un total de 5 674 bovins ont été réalisés. Ils ont permis de montrer que la contamination de voisinage était limitée, que seuls deux élevages étaient réellement infectés (Païta, Bourail) et que deux autres secteurs étaient à garder en observation (Poya, Pouembout). La mise en place d'une campagne d'éradication semblait donc possible et légitime.

3. Traitement

Traitement piroplasmicide⁴ visant à stériliser les bovins : dipropionate d'imidocarbe à 2,1mg/kg par voie sous-cutanée associé à de la Terramycine longue action à 20mg/kg par voie intramusculaire.

- Elevage infecté : deux traitements à 7 jours d'intervalle, renouvelés après 9 mois
- Elevage en observation : deux traitements à 7 jours d'intervalle

Traitement acaricide : deltaméthrine (Butox®) en baignade tous les 15 jours ou fluméthrine (Bayticol®) en « pour-on » tous les 21 jours (obligatoire pour les élevages de la zone déclarée infectée).

³ Journal Officiel de la Nouvelle-Calédonie :

- Arrêté n° 102 du 11 janvier 1990 portant déclaration d'infection de babésiose bovine et instaurant des mesures sanitaires dans des élevages bovins.

⁴ D'après les recommandations du Dr B.L.RDADUNZ, Veterinary Officer, Board of Tick Control, Department of Agriculture, New South Wales Government, en janvier 1989

Prophylaxie sanitaire

En élevage infecté : concentration des bovins sur un périmètre limité de la propriété et ne présentant pas de frontière commune avec les élevages voisins.

Dans tous les élevages soumis à quarantaine : mise sous séquestre de tous les animaux domestiques (dérogation pour les abattages de bovins, avec mesures de désinfection des véhicules), identification spécifique des bovins, abattage de tout animal non identifié ou errant, mise en place des mesures de traitement, contrôle sérologique à 9 et 18 mois et abattage éventuel des bovins des élevages reconnus infectés si en nombre limité.

D. Bilan de la campagne

1. Résultats

Les résultats sérologiques obtenus sur la campagne sont cohérents avec l'hypothèse d'une introduction de la babésiose bovine au cours de l'importation australienne de mars 1989.

A l'issue de la campagne, seuls 9 bovins, sur les 4 022 adultes testés en zone de quarantaine, apparaissent encore sérologiquement positifs. Afin de garantir l'absence de circulation de babésies dans leurs troupeaux respectifs, ces bovins ont subi des contrôles approfondis par splénectomie directe ou transfusion à des veaux splénectomisés.

Tous les animaux séropositifs ont ensuite été abattus. La campagne a ainsi permis de limiter au strict minimum les abattages et de cibler ceux-ci sur des animaux jugés « à risque ».

En fin de campagne il n'existe aucun bovin séropositif dans la population testée. De même, dans la population générale, l'ensemble des 1 652 animaux prélevés de manière aléatoire s'avère négatif.

2. Coûts

Le coût global de cette campagne d'éradication s'élève à environ 1 969 328,75€

- Personnel (vétérinaires, aides, techniciens de laboratoire): 377 105,51€
- Fonctionnement (réactifs, traitements, communication) : 201 122,94€
- Véhicules (véhicules tout-terrain) : 33 520,49€
- Indemnisation des éleveurs (séquestres, abattages complémentaires) : 1 357 579,82€

Toutefois, l'installation enzootique de la babésiose en Nouvelle-Calédonie, par infestation de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* et en l'absence de prémunition des races de bovins aurait engendré des pertes importantes en élevage (mortalité décrite jusqu'à 80% dans certains cas).

Il s'agit en effet d'une maladie grave dont la diffusion lente et tenace qui aurait coûté environ 6 033 688,09€ à la filière, si la maladie n'avait affecté que 10% du cheptel (estimé à 120 000 bovins) la première année. De plus, en phase chronique, la maladie continue à engendrer des pertes de l'ordre de 1% à 10% par an en fonction de la pression acaricide maintenue sur les troupeaux.

3. Succès de l'éradication

Tous les élevages ont été libérés le 16 décembre 1991. Les élevages déclarés infectés ont été soumis à des mesures de transition, avec poursuite du traitement acaricide sur l'année 1992, contrôle sérologique de leurs troupeaux fin 1992 et test sérologique obligatoire et gratuit lors de vente d'animaux sur pieds (hors abattage).

En complément, le diagnostic approfondi et gratuit a été proposé pour tout bovin présentant une anémie, un ictère ou une hémoglobinurie.

L'équipement du territoire en moyens de diagnostic et d'intervention, qu'il convient de conserver, a permis à cette campagne d'aboutir à un résultat favorable puisque l'ensemble des mesures ont pu être levées en 1993⁵ et la Nouvelle-Calédonie a été déclarée à nouveau indemne en 1994 (ANON, 2008b).

⁵ Journal Officiel de la Nouvelle-Calédonie :
- Arrêté n° 1543-T du 7 avril 1993 portant levée des mesures prises lors de l'infection de babésiose.

III. 2008 : nouvelle introduction, nouvelle tentative d'éradication

Afin d'améliorer la performance des races et diminuer leur sensibilité aux tiques, les éleveurs de bovins calédoniens ont notamment recours à l'importation d'animaux sur pieds en provenance d'Australie. Ainsi, 20 ans après la première introduction de babésiose bovine sur le territoire, un nouveau foyer est détecté au début de l'année 2008.

A. Diagnostic du cas index

1. Suspicion clinique

Le cas index est un taureau d'un élevage de la région de Bourail. Il a été examiné par un vétérinaire le 5 mars 2008 pour hyperthermie, atteinte neurologique (ataxie, agressivité) et hémoglobinurie puis traité à l'oxytétracycline pour suspicion de leptospirose. L'animal est décédé le lendemain après une phase de décubitus.

2. Confirmation de laboratoire

Le diagnostic initial de babésiose a été fait sur la base d'un frottis sanguin positif (réalisé au LNC). Le prélèvement (sang sur EDTA) a été immédiatement adressé au Tick Fever Center (Queensland, Australie) pour confirmation par PCR classique (FAHRIMAL, 1992). Le même prélèvement a été testé ultérieurement par PCR en temps réel (technique Taqman) (KIM *et al.*, 2007) au laboratoire Frank Duncombe (France) donnant également un résultat positif. D'autres cas cliniques de babésiose bovine ont également été observés et confirmés dans trois autres propriétés de la Province Sud au cours de la quinzaine suivante.

B. Enquête épidémiologique rétrospective

1. Origines de l'introduction

La priorité immédiate a été de déterminer l'origine et l'extension du foyer. Une introduction récente de la maladie a été considérée comme probable et les investigations épidémiologiques ont révélé que chacune des propriétés présentant des cas cliniques avait acquis récemment du bétail Sénégal importé d'Australie.

Le 27 novembre 2007, un lot de 43 têtes de bétail Sénégal en provenance d'une zone indemne de tiques, a été importé d'Australie. Au cours de la pré-quarantaine, ce bétail a été vacciné avec un vaccin trivalent contre les « fièvres à tiques » contenant des formes vivantes atténuées de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* et d'*Anaplasma centrale*, acte enregistré dans le certificat de santé d'exportation. La vaccination du bétail a été réalisée contrairement aux exigences d'importation de la Nouvelle-Calédonie ; cependant l'anomalie dans la préparation pré-exportation des animaux n'a pas été détectée par le service de quarantaine néo-calédonien. Après les 15 jours de quarantaine faisant suite à leur arrivée, les animaux importés ont rejoint les différents élevages importateurs

calédoniens à la mi-décembre 2007. La plupart des bovins importés sont passés directement de la station de quarantaine à leur élevage de destination, sans mise à l'écart préalable.

Bien que la souche vaccinale de *B. bovis* soit atténuée, sa possible transmission par la tique ainsi que l'augmentation de sa virulence à la suite de passages successifs sur tiques sont décrites (BOCK, 2004). Étant donné le moment de la vaccination, le bétail Sénépol aurait été infectieux au moment de sa mise au pâturage. Considérant que le stade parasitaire de *R. microplus* (sur l'hôte : de l'attachement de la larve jusqu'au stade de femelle gorgée) prend 20 jours et que le stade non-parasitaire (au sol : de la femelle détachée à la larve mûre) prend 5 à 6 semaines, des larves infectieuses ont pu apparaître sur les pâturages entre début et mi-février 2008. Compte tenu d'une période d'incubation d'environ deux semaines avant l'apparition d'éventuels signes cliniques, ce scénario est en faveur de l'apparition des premiers cas cliniques début mars et donc à une détection relativement précoce de la maladie.

2. Résurgence du foyer de 1989 ?

Il a été considéré que la ré-émergence clinique de la maladie à partir d'une source enzootique (foyer de 1989) était très peu probable. En effet, la longue période depuis le dernier cas identifié, la population de bétail totalement naïve, l'existence d'un maillage vétérinaire compétent et d'un laboratoire vétérinaire avec l'expertise et la capacité de diagnostiquer les maladies transmises par les tiques plaident en défaveur de cette hypothèse.

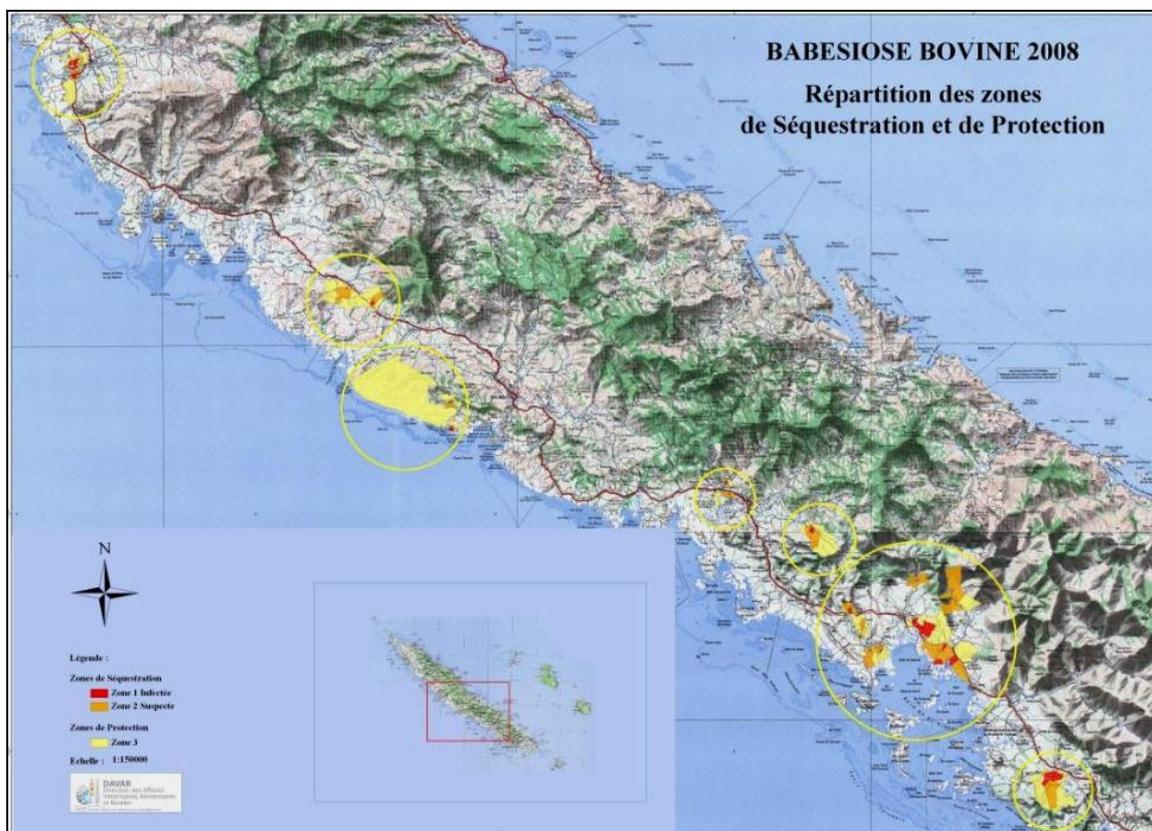
Par ailleurs, une enquête plus poussée a montré que le génotype des *B. bovis* isolées des cas cliniques néo-calédoniens diffère de la souche "Dixie" utilisée dans le vaccin contre la babésiose, mais est compatible avec le profil génétique de la souche vaccinale décrit après passage sur tiques (BOCK *et al.*, 2000). Un test PCR amplifiant des séquences répétées de l'ADN dans le gène Bv80 de *B. bovis* montre en effet que le vaccin dispose de deux séquences, dont une seule reste détectable après passage sur tiques (BOCK *et al.*, 2000).

Cette constatation a confirmé l'hypothèse selon laquelle les cas émergents de babésiose étaient bien attribuables à l'importation de bovins vaccinés avec le vaccin vivant atténué multivalent contre *Babesia bovis*. Les autres composants du vaccin : *Anaplasma centrale* et *Babesia bigemina*, ne semblent pas avoir été transmis au bétail local.

3. Foyers à risque

Les enquêtes épidémiologiques ont identifié 22 exploitations dans lesquelles l'introduction de *Babesia* a été considérée comme possible : 17 exploitations hébergeant des bovins importés ainsi que des exploitations dans lesquelles les bovins importés avaient été transitoirement présents, ou dans lesquelles les bovins présents avaient pu être en contact avec les bovins importés ou des pâturages potentiellement infectés (figure 31).

Figure 31 Carte de répartition des 22 foyers de babésiose bovine (Données : DAVAR-SESER)



Zones de séquestration : élevages infectés (en rouge) suspectés (en orange), zones de protection (en jaune)

Les troupeaux des 22 exploitations ont été déclarés⁶ « infectés » (ceux en contact direct avec le bétail importé ou ayant été dans les mêmes pâturages), ou « suspects » (troupeaux dans des parcelles voisines de parcelles infectées, mais sans contact direct connu). Ainsi 2 300 bovins ont été répertoriés dans la zone « infectée » et 1 600 bovins dans la zone « suspecte ».

Les élevages voisins, partageant une frontière avec des parcelles « suspectes » ont été considérés comme formant une « zone de protection ». Cette zone regroupe 65 élevages et environ 4 800 bovins. Enfin, une « zone de surveillance » a été délimitée, incluant tous les élevages situés dans un rayon de 10 km d'une exploitation infectée.

La description et l'évaluation rapide de l'introduction de la babésiose a été facilitée par la mise à disposition de cartes précises et de systèmes d'information géographique (SIG).

⁶ Journal Officiel de la Nouvelle-Calédonie (JONC) :

- Arrêté n° 2008-1239/GNC du 11/03/2008 portant déclaration d'infection de babésiose bovine ;
- Arrêté n° 2008-1467/GNC du 25/03/2008 relatif aux dispositions administratives et techniques à mettre en œuvre pour l'éradication de la babésiose bovine en Nouvelle Calédonie ;
- Arrêté modifié n° 2008-3407/GNC du 22/07/2008 relatif aux dispositions complémentaires à mettre en œuvre pour l'éradication de la babésiose bovine en Nouvelle-Calédonie.

C. Mesures instaurées

1. Réflexion préliminaire

a) Collaboration avec l'Australie

Les gouvernements australien (ANON, 2008) et néo-calédonien ont reconnu que les actes ou omissions commis par leurs services de quarantaine ont contribué à l'introduction de *B. bovis* en Nouvelle-Calédonie. Dans cet esprit, les autorités des deux pays ont convenu de collaborer à l'élaboration et à la mise en œuvre d'un programme de gestion de cette introduction. La décision de mise en place de mesures de contrôle de la maladie ainsi que ses modalités ont été basées sur une évaluation de la distribution de la maladie, de son importance et de la faisabilité de mise en œuvre des mesures de lutte.

b) Etude de faisabilité

L'enquête épidémiologique et les premières analyses réalisées ont suggéré que la babésiose a été détectée peu après son introduction sur le territoire, et a été limitée à un nombre relativement restreint d'élevages structurés. Toutefois, la tique du bétail est très répandue en Nouvelle-Calédonie, les bovins employés sont principalement de race européenne (*Bos taurus*) très sensibles à la babésiose et des mouvements d'animaux ont lieu entre les différents élevages. Il a donc été considéré qu'en l'absence de mesures de contrôle, la maladie deviendrait enzootique dans toute la population bovine de l'île. Bien qu'une analyse économique formelle n'ait pas été effectuée, il a été considéré que l'établissement de la babésiose chez les bovins de Nouvelle-Calédonie imposerait une charge financière importante et continue aux éleveurs et aux autorités de santé animale (Gouvernement de Nouvelle-Calédonie, correspondance non publiée, 2008).

c) Atouts scientifiques et techniques

Les aspects techniques, les ressources et les orientations socio-politiques sont autant d'éléments impactant sur la faisabilité du contrôle.

Les aspects techniques de lutte contre la maladie ont été soutenus par une bonne compréhension de l'épidémiologie et de la biologie de *B. bovis* et de la tique du bétail, par la capacité de détecter l'infection directement (par PCR) et indirectement (par sérologie), et par la disponibilité de moyens médicaux (médicaments antiprotozoaires, acaricides) et par les mesures sanitaires (quarantaine, biosécurité, restrictions de déplacement) pour le contrôle de la maladie. Une bonne connaissance de l'épidémiologie de la maladie, décrite notamment par (MOREL, 2000) et (BOCK, 2004), a été cruciale dans le développement de la stratégie adoptée.

Alors que l'épisode de 1989 avait été contrôlé par l'abattage des animaux infectés et à risque, une toute autre stratégie a été élaborée. Celle-ci a été basée sur la connaissance que *B. bovis* ne persiste pas au-delà du stade larvaire de la tique vectrice (FRIEDHOFF, 1988), permettant ainsi de rompre le cycle de transmission sans avoir recours à l'éradication totale du vecteur.

d) Atouts structurels et financiers

Il a été considéré que des ressources suffisantes étaient disponibles pour entreprendre un programme de lutte agressif contre la maladie. Ces ressources comprennent un service de santé animale compétent, capable de mettre en œuvre un programme de lutte contre la maladie, un

laboratoire de diagnostic équipé, des installations de contention dans les élevages permettant l'identification des animaux, leur prélèvement et leur traitement; des ressources législatives, avec un appui organisationnel et administratif, du matériel pour la collecte et le traitement des échantillons biologiques, des médicaments et les drogues acaricides et, surtout, des financements gouvernementaux et privés du programme de lutte contre la maladie. Les avis des éleveurs de bovins, ainsi que les avis du public et du Gouvernement, ont également été pris en compte dans l'évaluation de la faisabilité socio-politique des options de contrôle des maladies. A la fois les organisations professionnelles et les autorités locales de santé animale ont appuyé ce programme de contrôle.

2. Stratégie d'éradication

a) Principe de la stratégie

Une stratégie à deux volets a été adoptée pour éradiquer *B. bovis*, sans chercher l'élimination des tiques vectrices :

- Mise en place d'une lutte agressive contre les tiques associée à des traitements anti-protozoaires répétés par le dipropionate d'imidocarbe afin à la fois de « blanchir » les animaux infectés et de fournir une protection continue contre les réinfections. À notre connaissance, l'utilisation d'imidocarbe à cette échelle, avec un objectif d'éradication de la babésiose, n'a jamais été réalisée.
- Recours à une mise en quarantaine stricte et des mesures de biosécurité et de contrôle des mouvements dans toutes les exploitations des zones suspectes et infectées. Des mesures de quarantaine plus souples ont été appliquées aux élevages situés en zone de protection. Ces mesures de contrôle ont été soutenues par la législation locale (voir Arrêtés du JONC précédemment cités) et des efforts concertés ont été déployés pour conseiller les éleveurs concernés sur la nature, la justification et l'importance des mesures à appliquer.

b) Campagne d'identification préliminaire

En 2008, il n'existe pas encore en Nouvelle-Calédonie de système d'identification pérenne généralisée mis en place sur l'ensemble des bovins. En effet, ce n'est que depuis 2007 que les jeunes animaux sont systématiquement bouclés dans le cadre d'un dispositif d'aide financière à la filière allaitante. Pour les animaux nés avant ces mesures, les éleveurs identifient (marquage au fer, boucles auriculaires) - ou pas - leurs animaux avec un numéro de travail non référencé par ailleurs.

Tous les animaux des zones suspectes et infectées ont donc été identifiés (bouclés) dans les deux oreilles, au cours de la première série de mesures de contrôle de la maladie. Les étiquettes d'oreilles attribuent un numéro d'identification individuel à chaque animal (« B » + n° élevage unique + n° chronologique animal unique), permettant la tenue de registres précis de l'état de la maladie, des échantillons de laboratoire prélevés et des antécédents thérapeutiques de chaque animal.

c) Gestion de la population de cerfs

La population de cerfs rusa (*Cervus rusa timorensis*) est très abondante en Nouvelle-Calédonie (BARRE *et al.*, 2001) et est présente dans au moins quelques-unes des exploitations touchées. *R. microplus* peut se nourrir et se gorger sur le cerf rusa mais sa contribution à l'infestation des pâturages est considérée comme étant limitée (BARRE *et al.*, 2001). Il n'y a

également aucun élément dans la littérature montrant que le cerf rusa ou d'autres espèces de cervidés sont une source de *B. bovis* pour les tiques et jouent un rôle dans l'épidémiologie de l'infection. Les cerfs ont donc été ignorés dans la planification de cette campagne, mais la surveillance des bovins dans la zone de surveillance autour de chaque exploitation infectée de la maladie permet la détection de toute propagation éventuelle de l'infection par un cerf ou par un autre biais en dehors de la zone infectée.

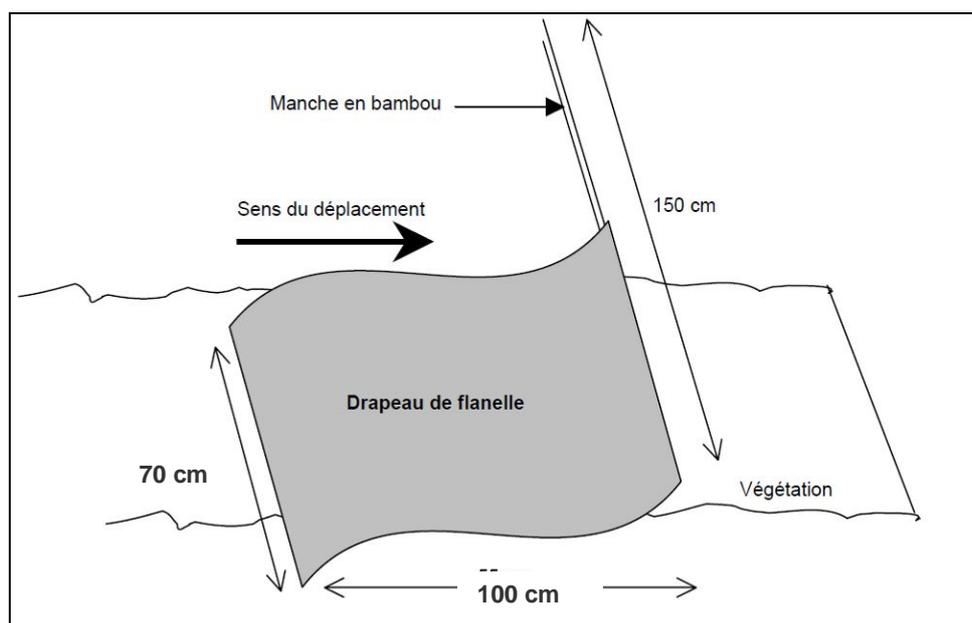
d) Lutte contre les tiques

Une lutte intensive contre les tiques a été mise en place dans toutes les exploitations des zones infectées et suspectes afin de briser le cycle de vie des tiques et de prévenir toute contamination ultérieure des pâturages par des larves infectées par *Babesia*.

Une évaluation de la population de tiques et de la résistance aux acaricides a été menée en parallèle. Dans les élevages où les tiques sont sensibles à l'amitraz (Tactic®), les bovins ont été traités (couloirs de pulvérisation ou bains) avec cet acaricide à des intervalles d'environ 15 jours. Cet intervalle a été considéré comme inférieur à la durée habituelle du stade parasitaire (sur l'hôte) de la tique (estimé à 20 jours). Il permettrait ainsi de prévenir le gorgement de tiques adultes femelles sur un animal infecté et donc le passage de l'infection, par transmission trans-ovarienne, à une nouvelle génération de larves.

L'efficacité des mesures de contrôle des tiques a été évaluée par l'inspection visuelle fréquente des bovins et la surveillance du niveau d'infestation des pâturages par les larves de tiques. La surveillance des pâturages a été réalisée chaque mois en faisant glisser un morceau de flanelle (1,0 x 0,7 m) à travers le pâturage dans 4 à 20 transects de 100 m chacun (figure 33), le nombre de transects étant établi selon la taille de l'exploitation (ZIMMERMAN et GARRIS, 1985). La concentration de deltaméthrine ou d'amitraz des bains et des systèmes de pulvérisation utilisés a également été évaluée périodiquement par le Secteur Chimie du LNC par technique de chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

Figure 32 Méthode de collecte des larves de tiques « au drapeau » (adapté de CHAUVET, 2004)



Toutes les femelles gorgées détectées sur les animaux ont été prélevées et leur résistance à l'amitraz a été testée (DUCORNEZ *et al.*, 2005; MILLER, 2002). Sur les 23 tests réalisés dans 13 élevages entre mars et décembre 2008, la résistance a été confirmée dans deux élevages et suspectée dans cinq autres. Dans ces exploitations, l'amitraz a été remplacée par une ivermectine longue action (Ivomec Gold®) empêchant le gorgement des tiques femelles sur une période de 64 jours (FERLAT, 2004). Après plusieurs mois d'utilisation de l'amitraz, la plupart des élevages non résistants sont également passés à l'ivermectine longue action pour des raisons de commodité.

Aucune résistance à l'ivermectine n'a été détectée en Nouvelle-Calédonie à ce jour. Toutefois, afin d'éviter l'apparition de résistance, une alternance entre l'ivermectine et le fluazuron (Acatak®) a été mise en place.

e) Traitement piroplasmicide

Le deuxième élément clé de la stratégie de lutte contre la maladie repose sur l'utilisation d'un traitement piroplasmicide stérilisant sur l'ensemble des bovins des zones infectées.

Le choix de l'imidocarbe (Imizol®, Imidox®) s'est appuyé sur les éléments disponibles dans la littérature scientifique. Sa capacité de stérilisation vis-à-vis de *B. bovis* a été décrite à des doses de 2mg/kg (CALLOW et MC GREGOR, 1970). En outre, la dose de 3mg/kg, empêche 85% des infections à *B. bovis* après 3 semaines, 100% après 4 semaines et encore 85% au bout de 6 semaines (DE VOS, 1986). La dose utilisée dans cette campagne (3mg/kg), a été celle recommandée par le fabricant pour la prévention de l'infection.

Les responsables de la campagne ont donc opté pour un régime de traitement de 3 injections consécutives d'imidocarbe administrées à intervalles de 4 semaines environ (BARRE *et al.*, 2010) à la dose dite de « stérilisation » (3mg par kg de poids vif en injection sous-cutanée) dans l'objectif de « blanchir » les animaux infectés et de fournir une protection continue pendant une période d'environ 12 semaines.

Lors du choix de cette modalité de traitement, il a été nécessaire de faire la balance entre la protection conférée contre l'infection par *Babesia* en regard des risques d'effets indésirables ou toxiques associés à des doses élevées et répétées d'imidocarbe.

Au cours des 3 mois pendant lesquels les bovins ont été protégés par l'imidocarbe, les éleveurs ont été encouragés à faire paître leurs animaux dans les pâturages potentiellement contaminés pour permettre une diminution par « serpillage » des larves infectées.

La présence à l'état libre de larves de tiques infectées sur les pâturages, et donc la période à risque potentiel associé a été l'un des points importants à considérer lors de la campagne d'éradication. En supposant que les interventions, une fois mises en œuvre, ont prévenu toute re-contamination des pâturages avec de nouveaux stades larvaires infectés, cette période a été définie par la longévité des stades larvaires libres sur les pâturages. Cette période à risque a donc défini la durée minimale pendant laquelle des mesures de contrôle de la maladie devaient être appliquées. Bien qu'une période de 4 mois ait été probablement suffisante en Nouvelle-Calédonie (ANON, 1984; UTECH, 1983), une période à risque de 6 mois, plus prudente, a été adoptée.

f) Surveillance

L'efficacité du programme d'éradication a été suivie par une surveillance clinique et sérologique des animaux. Le statut sérologique de tous les bovins des zones infectées et suspectes a été évalué par

technique ELISA (MOLLOY *et al.*, 1998) et ce, dès le premier traitement à l'imidocarbe. Cette évaluation sérologique initiale a permis d'estimer la prévalence de l'infection dans chaque troupeau et de fournir des données de référence avant l'usage du traitement piroplasmicide.

Des tests ELISA successifs ont été entrepris afin de détecter tout bovin nouvellement infecté et de suivre la cinétique des anticorps des animaux préalablement exposés à *B. bovis*. Ces séries de surveillance sérologique ont été effectuées à environ 60, 120 et 210 jours après le premier test. Un test de PCR en temps réel (BULING *et al.*, 2007) a été utilisé pour confirmer le statut infectieux des animaux séropositifs ainsi que ceux dont le résultat ELISA était équivoque ("suspects").

En dehors des foyers répertoriés une surveillance clinique et sérologique a été appliquée à tout cas suspect (mortalité, fièvre, ictère, hémoglobinurie, etc.) signalé.

D. Techniques diagnostiques employées

Pour assurer le suivi de la campagne, le Laboratoire de Nouvelle Calédonie (LNC), en collaboration avec le Tick Fever Center (TFC), de Queensland en Australie, a choisi d'avoir recours à un dosage immuno-enzymatique (ELISA) (ANON, 2008; MOLLOY *et al.*, 1998) et à une PCR en temps réel (BULING *et al.*, 2007). Les études de validation antérieures du test ELISA ont estimé la sensibilité individuelle du test à plus de 95% et sa spécificité individuelle à 98% (ANON, 2008; BOCK, 2006). La PCR en temps réel est décrite comme très sensible et capable de détecter au minimum 1 000 copies d'ADN (soit 0,1 fg) après dilutions en série d'ADN cible de *B. bovis* (BULING *et al.*, 2007).

1. Hématologie

a) Objectifs d'utilisation

La technique de recherche d'hémaparasites sur frottis sanguin coloré est utilisée en routine au LNC. A ce titre, elle a été employée en première intention pour le diagnostic des cas cliniques suspects de babésiose, afin d'obtenir un premier résultat sans délai, complété au besoin d'une sérologie et/ou d'une PCR. Cette technique a notamment permis de faire face aux premières demandes diagnostiques sur clinique observée, le temps de prendre en main les méthodes ELISA et PCR qui ont été dans un premier temps réalisées en sous-traitance auprès du TFC puis au LNC après transfert de compétences.

b) Prélèvements et méthode

Bien que devant être idéalement réalisés sur sang périphérique (scarification auriculaire ou du bout de la queue), pour des raisons pratiques sur le terrain, les frottis sanguins ont été réalisés à partir de sang prélevé à la veine caudale, sur tube Vacutainer® EDTA. Malgré une perte de sensibilité de la technique, la charge parasitaire circulante élevée des bovins symptomatiques a systématiquement permis une mise en évidence des parasites sur frottis sanguin.

Un rappel technique a été réalisé par le laboratoire auprès des vétérinaires praticiens et le matériel nécessaire au prélèvement et à la réalisation de frottis sur tout bovin suspect leur a été également remis.

2. Calques d'organes

a) Objectifs d'utilisation

Cette technique inspirée du frottis sanguin permet d'observer au microscope, après coloration, les éventuelles *Babesia* séquestrées dans les fins capillaires sanguins des organes internes. Elle a été utilisée pour des bovins trouvés morts ainsi que pour des bovins sauvages de zone infectée soumis à abattage faute de toute possibilité de manipulation.

b) Prélèvements et méthode

Lors de mortalité en élevage, il n'a pas toujours été possible de disposer de l'encéphale qui est de loin le meilleur prélèvement. Toutefois la réalisation de calques à partir de pools d'organes (rate, foie, rein) a permis de confirmer la mort de babésiose.

Concernant les bovins sauvages, soumis à un protocole défini (abattage et prélèvement systématique de sang sur tube sec et d'encéphale), les calques ont été réalisés à partir de petites portions (< 1mm³) de cortex, riche en capillaires sanguins, écrasées entre deux lames de verre ensuite séchées à l'air libre, colorées au MGG et observées au microscope.

Des modifications organiques ont par ailleurs pu être relevées chez certains bovins fortement infestés, avec notamment un cortex « rouge cerise » comme décrit dans le tableau lésionnel de la maladie.

Cette technique a été complétée d'une PCR sur organes, plus sensible, lorsqu'aucune forme de babésiose n'a été visible en calque.

3. Sérologie

a) Objectifs d'utilisation

Le suivi de la campagne d'éradication a reposé sur l'utilisation à la fois d'un test ELISA indirect (MOLLOY *et al.*, 1998) qui a été choisi et adapté avec l'aide du TFC du Queensland à une utilisation à grande échelle et d'un test de PCR en temps réel, (BULING *et al.*, 2007) tous deux spécifiques de *B. bovis*. Ces tests ont permis de dresser un état des lieux initial de l'infection rapidement après la détection du cas index et d'identifier les animaux infectés dans les 22 exploitations directement touchées.

Ensuite, en cours de campagne, ils ont été utilisés pour confirmer l'élimination de l'infection existante et l'absence de nouveaux cas. Les bovins des exploitations touchées ont été soumis selon les exploitations à 4 ou 5 tests sérologiques successifs à environ 2 mois d'intervalle, mis en place en même temps que les traitements chimio-prophylactiques.

D'autre part, le schéma chimio-prophylactique a eu un effet profond sur les taux d'anticorps et de nombreux animaux séropositifs sont devenus séronégatifs dans les 2 mois. Aucun nouveau cas n'a été détecté après la deuxième série de contrôles et environ 12 mois après le diagnostic initial, les 22 élevages infestés ont été considérés comme indemnes de *B. bovis*.

b) Prélèvements et méthode

Les échantillons de sang ont été recueillis dans des tubes à vide (Vacutainer®) sans anticoagulant par ponction de la veine caudale et identifiés au numéro « babésiose » de l'animal correspondant. Les tubes ont été centrifugés à 1 000g dans les 24h et les sérums prélevés et conservés à -20°C jusqu'à leur analyse.

Les tests ELISA ont été réalisés selon le protocole utilisé au TFC (MOLLOY *et al.*, 1998), lequel produit également l'antigène brut à partir d'érythrocytes infectés.

Tous les sérums ont été testés en duplicat et les résultats sont exprimés en valeur de densité optique (DO, en nm) par rapport au contrôle positif. Ainsi un échantillon est :

- **Positif** si $DO \geq 0,4$ x la moyenne de DO du contrôle positif élevé
- **Suspects** si DO entre 0,2x et 0,4x la moyenne de DO du contrôle positif élevé
- **Négatif** si $DO \leq 0,2$ x la moyenne de DO du contrôle positif élevé

En raison du manque de connaissances relatives aux performances du test dans son emploi à grande échelle en Nouvelle-Calédonie et des implications sanitaires d'éventuels faux négatifs, une approche très conservatrice a été adoptée dans l'interprétation des résultats sérologiques, et tous les résultats « suspects » en ELISA ont été considérés comme « positifs ».

Le choix de ce seuil a bien sûr conduit à un certain nombre de résultats faussement positifs qui ont été secondairement évalués dans une population « naïve » (voir paragraphe relatif aux performances des tests).

Le taux de faux positifs n'a en effet pas pu être quantifié en cours de campagne compte tenu des modalités de celle-ci, mais l'erreur avait alors été néanmoins jugée acceptable d'un point de vue économique et sanitaire. Par ailleurs, cette approche a été adoptée afin de minimiser le risque de faux négatifs. Alors qu'il n'était pas possible de quantifier ce risque, les directeurs de campagne ont considéré que la probabilité que des animaux infectés n'entrent pas dans le processus de prise en charge a été considérablement réduite par la rigidité des mesures de quarantaine, la fréquence des tests sur la totalité des bovins des troupeaux touchés et ce pendant au moins 4 mois après la fin de la période de couverture chimio-prophylactique.

4. Biologie moléculaire

a) Objectifs d'utilisation

La PCR a été utilisée initialement pour vérifier la présence de *B. bovis* chez les bovins importés ainsi que dans les exploitations touchées. Elle a été également utilisée pour clarifier le statut des animaux présentant des résultats suspects en ELISA ainsi que celui des cas cliniques suspectés.

b) Prélèvements et méthode

Pour toutes les opérations de suivi, la PCR a été réalisée sur prélèvement sanguin sur EDTA. Elle a également été réalisée à partir d'organes (portions de cortex cérébral principalement) lors de l'exploration diagnostique des mortalités bovines et du suivi de l'éradication du bétail sauvage en zone infectée.

Les échantillons de sang ont été recueillis dans des tubes sous vide (Vacutainer®) avec anti-coagulants (EDTA) par ponction de la veine caudale et identifiés au numéro « babésiose » de l'animal correspondant. Les tubes ont été conservés à -20°C pour les tests PCR éventuels.

L'extraction d'ADN à partir de sang total a été réalisée selon le protocole du kit QIAamp DNA Mini Kit® (QIAGEN).

La détection du génome de *B. bovis* a été réalisée par PCR en temps réel ciblant le gène du cytochrome b avec le couple d'amorces « cbsog-1 » et « cbsog-2 » (BULING *et al.*, 2007).

Chaque série de tests a été réalisée avec un contrôle positif (dilutions d'ADN de *B. bovis* fourni par le TFC, ou par la suite issu d'échantillons positifs) et un contrôle négatif (eau distillée RNase-free). Les tests ont été réalisés avec un thermocycleur AB 7300 (Applied Biosystem) et les résultats ont été analysés avec le logiciel de l'AB 7300.

5. Evaluation des performances ELISA et PCR

Le suivi de laboratoire est l'une des composantes essentielles de la campagne d'éradication, cependant les détails de celle-ci ayant été finalisés dans les deux semaines après la détection du cas index, et en raison de l'urgence de mise en place des mesures de suivi et de lutte, l'évaluation approfondie de la qualité des tests diagnostiques (sensibilité, spécificité) dans la population animale cible n'a pas pu être réalisée avant leur utilisation.

Toutefois, il est à considérer qu'à l'échelle du troupeau, la sensibilité des tests de dépistage se trouve améliorée par rapport à leur sensibilité individuelle, permettant une meilleure détection des cas positifs. A l'inverse, la spécificité des tests de dépistage à l'échelle du troupeau est dégradée, et l'interprétation des résultats positifs requiert une certaine prudence (TOMA *et al.*, 1996).

Les résultats présentés ici sont le résultat d'une année de surveillance diagnostique intense des 22 élevages où la babésiose a été présente ou suspectée. Avec les tests effectués dans ces propriétés, la surveillance des propriétés avoisinantes et les validations d'essais, ce sont environ 25 000 tests ELISA et 1 000 tests PCR qui ont été réalisés (BARRE *et al.*, 2010).

a) Performances de l'ELISA

Au début du programme d'éradication, une centaine d'échantillons ont été testés à la fois au LNC et au TFC pour s'assurer de la reproductibilité des résultats entre les deux laboratoires. De même ces échantillons ont également été testés par les deux opérateurs différents au LNC, afin d'en contrôler la bonne reproductibilité intra-laboratoire.

D'autre part une base de données « ELISA » a été obtenue à partir de sérums de référence négatifs recueillis sur 450 bovins n'ayant jamais été en contact avec *B. bovis*. Presque tous ces sérums ont montré des valeurs de DO en dessous du seuil négatif. Ainsi, la moyenne de DO attendue pour un échantillon négatif a été estimée à environ 0,05 nm et est similaire à celle observée chez les bovins naïfs en Australie (WALDRON, 2008). Cette première estimation a permis d'évaluer la spécificité de la technique à plus de 98% (soit 2% de résultats faux positifs), en accord avec les données publiées dans la littérature (ANON, 2008; BOCK, 2006). Un taux comparable de faux négatifs a été retrouvé dans les 13 élevages n'ayant présenté aucune preuve de transmission de *B. bovis*, malgré l'introduction de bétail vacciné.

Une seconde estimation, plus fine de la spécificité de l'ELISA a été réalisée en fin de campagne à l'occasion d'une enquête d'actualisation sanitaire de la filière bovine conduite entre 2008 et 2010 (environ 1 500 bovins, issus de 38 élevages considérés comme n'ayant eu aucun contact avec ceux contaminés en mars 2008, ont été testés et 0,4% des résultats sérologiques s'avèrent non nuls, correspondant à une spécificité de la technique estimée à 99,6%).

b) Performances de la PCR en temps réel

La sensibilité de la méthode PCR a été testée en utilisant un extrait d'ADN calibré (nombre de parasites équivalent de 1.5×10^6 / Pi) fourni par TFC. Le tableau 4 montre la correspondance entre le cycle seuil (Ct), les différentes dilutions (10^{-1} à 10^{-6}) de cet ADN extrait et les quantités parasitaires correspondantes.

Tableau 5 Estimation des performances de détection de *B.bovis* par PCR en temps réel

Dilutions de l'extrait d'ADN	Valeurs de Ct	Quantité parasitaire correspondante
Pur	13.6	$1.5 \times 10^6 / \mu\text{l}$
10^{-1}	16	$1.5 \times 10^5 / \mu\text{l}$
10^{-2}	18.8	$1.5 \times 10^4 / \mu\text{l}$
10^{-3}	22.1	$1.5 \times 10^3 / \mu\text{l}$
10^{-4}	24.1	$1.5 \times 10^2 / \mu\text{l}$
10^{-5}	28.1	15 / μl
10^{-6}	30.1	1.5 / μl
10^{-7}	indéterminé	-

Valeurs de Cycle seuil (Ct) de PCR en temps réel et quantité de parasites *B. bovis* correspondantes
Estimations à partir de dilutions en séries d'un extrait d'ADN calibré

Sur la base de ces résultats, une valeur de Ct de 30 a été arbitrairement acceptée comme seuil de positivité. Ainsi un échantillon est :

- **Positif** si $Ct \leq 30$
- **Suspects** si Ct compris entre 30 et 40
- **Négatif** si $Ct \geq 40$

Ce test, bien que très sensible lorsqu'il est utilisé avec l'ADN de *B. bovis* calibré n'a cependant pas réussi à détecter un certain nombre de cas séropositifs en état d'infection latente.

Alors que tous les bovins importés étaient séropositifs 3 mois après la vaccination, seulement 95% ont été détectés par PCR en temps réel bien qu'une persistance de *B. bovis* soit décrite chez les bovins *Bos taurus* pendant au moins 4 ans (BOCK, 2006) alors que tous ces animaux ont été inoculés en même temps.

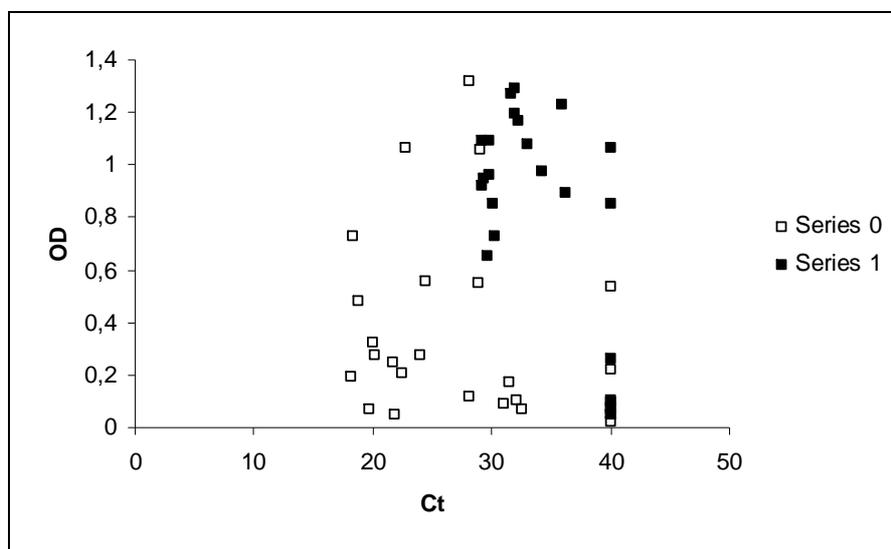
De même, parmi les animaux séropositifs des élevages 1 et 3, seuls 87,5% et 84% ont respectivement été positifs par PCR en temps réel lors du premier contrôle. Certains de ces animaux ont sans doute été des porteurs sains et leur parasitémie inconnue, mais, alors que la littérature décrit la PCR comme détectant des parasitémies très faibles (KIM *et al.*, 2007) et que la sensibilité estimée sur extrait d'ADN calibré semblait très bonne (tableau 4), la capacité de détection des infections récentes par PCR (dans élevage n°1 par exemple) a été quelque peu décevante et à l'origine de quelques faux négatifs.

c) Evaluation conjointe ELISA et PCR

Un travail de comparaison de l'ELISA et de la PCR a été mené à l'occasion du suivi de l'élevage n°1, où la transmission active de *B. Bovis* a été avérée.

Lors de la première série de contrôles, parmi les 50 bovins séropositifs ou suspects en ELISA: sur les 24 bovins présentant des niveaux élevés d'anticorps ($DO > 0,6$ nm), 21 (87,5%) étaient également positifs par PCR en temps réel avec les valeurs de Ct d'environ 30, suggérant que ces animaux ont alors été testés au moment du pic anticorps associé à leur primo-infection (environ 3 mois après l'introduction du bétail infecté). De même ces bovins, testés au cours d'une enquête préliminaire 2 semaines plus tôt (désignée « contrôle 0 »), étaient séronégatifs ou suspects en ELISA, mais positifs en PCR en temps réel avec les valeurs de Ct d'environ 20 indiquant que les animaux étaient en début de primo-infection. Les données de comparaison des résultats des contrôles 0 et 1 pour ces bovins sont présentées sur la figure 33.

Figure 33 Distribution des résultats sérologique (OD) et de PCR (Ct) correspondants



Valeurs pour 24 bovins de l'élevage n°1, à 75 jours (série 0) et 90 jours (série 1) après contact avec les bovins importés. Une valeur de Ct de 40 a été arbitrairement attribuée aux résultats négatifs en PCR en temps réel

Parmi les 26 animaux restants, 11 ont eu une faible réaction positive en ELISA ($DO < 0,6$ nm) et 15 étaient sérologiquement suspects (DO de 0,3 à 0,4 nm) au 1^{er} contrôle, mais tous étaient négatifs en PCR en temps réel. La raison de ces résultats apparemment discordants en PCR n'a pas été identifiée, d'autant que la totalité de ces animaux ont été infectés avant le démarrage du protocole de traitement par imidocarbe.

Malgré leurs imperfections (faux négatifs en PCR et faux positifs en ELISA), les tests utilisés se sont révélés être une aide précieuse pour les autorités et les épidémiologistes en charge de la campagne, leur permettant de définir l'extension du foyer, de suivre l'efficacité des mesures d'éradication, et de confirmer l'obtention de celle-ci dans les 22 élevages concernés. Néanmoins, les gestionnaires de la campagne ont adopté une approche prudente qui a permis de compenser les imperfections des tests diagnostiques utilisés. La recherche de tout nouveau cas a donc reposé sur l'utilisation complémentaire des deux techniques et tout bovin nouvellement séropositif ou suspect a systématiquement été testé en PCR puis reprélevé 15 jours plus tard pour être retesté.

6. Suivi clinique et sérologique

Entre avril 2008 et mars 2009, un total d'environ 16 000 ELISA et 600 tests PCR en temps réel ont été effectués au cours des 5 tests contrôles successifs des 22 exploitations touchées et révèlent l'ampleur de l'opération de surveillance menée. Les résultats ont notamment permis d'évaluer le niveau de transmission de *B. bovis* dans les exploitations et de regrouper celles-ci sur la base de ce critère.

a) Cas cliniques

Avant les premières interventions de contrôle de la maladie, la transmission de *Babesia* ainsi que des cas cliniques ont été confirmés dans 5 des 22 fermes en lien avec les bovins importés (tableau 5). Environ 1 800 bovins ont été potentiellement exposés dans les 5 propriétés et 20 ont été confirmés morts de babésiose ; 23 nouveaux cas cliniques ont été traités et guéris. Ces chiffres n'indiquent cependant pas la fréquence réelle de la maladie clinique, certains cas ayant pu être détectés alors que d'autres cas potentiels ont probablement été traités à l'imidocarbe avant l'apparition de symptômes.

b) Bilan sérologique initial

Environ 3 900 têtes de bétail dans les 22 exploitations touchées ont été testées par ELISA entre la fin mars et avril 2008 (tableau 5). Ce premier bilan sérologique a montré que tous les bovins de race Sénégal importés étaient séropositifs, en accord avec leur statut vaccinal. De même, quarante des bovins Sénégal (soit 95%) étaient également positifs par PCR avant traitement à l'imidocarbe, soit environ quatre mois après leur vaccination.

Cette enquête initiale a également donné une première indication du niveau de transmission des *Babesia* dans chaque élevage et a permis de les classer selon ce critère (tableau 5) :

- Dans les 5 élevages où des cas cliniques ont été détectés (n°1 à 5) les résultats sérologiques confirment une transmission importante au sein du bétail local. La séroprévalence du cheptel de ces exploitations varie de 1% à 44% (résultats ELISA positifs et suspects, à l'exclusion des bovins importés).
- Quatre 4 élevages (n°6 à 9), ont présenté des preuves sérologiques de transmission au bétail local en l'absence de cas cliniques.
- Sur 7 élevages (n°10 à 16), la première série de tests sérologiques a donné des résultats équivoques en termes de transmission de *B. bovis* avec un très petit nombre de résultats ELISA suspects chez les bovins locaux.
- Enfin, les bovins locaux des six derniers élevages (n°17 à 22) étaient tous séronégatifs et aucun cas clinique n'a été constaté.

Tableau 6 Résultats du contrôle sérologique « initial » des 22 élevages “infectés” et “suspects”

Elevage	Transmission*	Résultats du premier contrôle sérologique (ELISA)					
		Positifs		Suspects	Négatifs	Séroprévalence (positifs ou suspects) (%) (Sénépols exclus)	
		Nombre total d'animaux (entre parenthèses, nombre de Sénépols)					
1	++	114	(3)	87	449	31	(31)
2	++	113	(9)	5	679	15	(14)
3	++	20	(1)	1	147	13	(12)
4	++	2	(1)	0	77	3	(1)
5	++	8	(1)	0	96	8	(7)
6	+	5	(2)	0	11	31	(21)
7	+	2	(1)	0	46	4	(2)
8	+	6	(2)	10	532	3	(3)
9	+	2	(0)	1	74	4	(4)
10	?	2	(2)	1	96	3	(1)
11	?	6	(6)	1	121	5	(1)
12	?	1	(1)	1	176	1	(0.5)
13	?	2	(2)	2	211	2	(1)
14	?	0		1	366	0.3	(0.3)
14	?	0		1	51	2	(2)
16	?	0		2	28	7	(7)
17	-	1	(1)	0	35	3	(0)
18	-	1	(1)	0	4	20	(0)
19	-	3	(3)	0	264	1	(0)
20	-	1	(1)	0	46	2	(0)
21	-	6	(6)	0	0	100	(0)
22	-	0		0	1	0	(0)

Contrôle réalisé 4 mois après l'introduction des bovins Sénépols et avant la mise en place des mesures de lutte (* Indicateur qualitatif de transmission de *B. bovis* : « ++ » = transmission sérologiquement avérée, associée à des cas cliniques ; « + » = transmission sérologiquement avérée, en l'absence de cas cliniques, « ? » = transmission équivoque, petit nombre d'animaux sérologiquement suspects uniquement, « - » = absence d'éléments cliniques et sérologiques de transmission ; les séroprévalences sont exprimées en pourcentage pour des raisons d'harmonisation des résultats)

c) Evolution sérologique globale

Le tableau 6 ci-dessous résume l'évolution des séroprévalences et des titres en anticorps des animaux des 22 élevages suivis, au cours des quatre contrôles sérologiques successifs de la campagne. Ces résultats sont détaillés ensuite par catégorie d'élevage, et les cas particuliers explicités.

Tableau 7 Evolution des séroprévalences et titres en anticorps moyens par catégorie d'élevage

Elevages	Contrôle n°1 (J0 – imidocarbe)			Contrôle n°2 (J60)			Contrôle 3 (J120)			Contrôle 4 (J200)		
	DO moyenne	Prévalence moyenne (%)	Nb de bovins testés	DO moyenne	Prévalence moyenne (%)	Nb de bovins testés	DO moyenne	Prévalence moyenne (%)	Nb de bovins testés	DO moyenne	Prévalence moyenne (%)	Nb de bovins testés
“Positifs” avec signes cliniques (n°1 à 5)	0.576 ± 0.319	12.89	363	0.354 ± 0.248	11.14	348	0.176 ± 0.099	4,01	307	0,141 ± 0.062	2,32	280
“Positifs” sans signes cliniques (n°6 à 9)	0.708 ± 0.436	6.20	23	0.386 ± 0.230	2.47	18	0.163 ± 0.130	0.38	14	0.156 ± 0.074	0.46	14
“Equivoques” (n°10 à 16) et “Négatifs” (n°17 à 22)	0.058 ± 0.018	0.00	1303	0.045 ± 0.009	0.00	1290	0.034 ± 0.007	0.00	882	0.044 ± 0.006	0.00	1098

Evolution au cours des quatre contrôles successifs (les animaux sérologiquement suspects ont été inclus aux effectifs négatifs et les Sénégalais importés ont été exclus de l'ensemble des calculs)

Dans certains troupeaux, au moins 78% des animaux séropositifs au premier contrôle sont devenus «suspects» ou «négatifs» lors du deuxième contrôle, environ 60 jours plus tard.

Au troisième contrôle, les titres d'anticorps des bovins séropositifs au premier et/ou au deuxième contrôle ont nettement diminué. De même, la séroprévalence a diminué dans tous les élevages où la transmission a eu lieu avant les interventions.

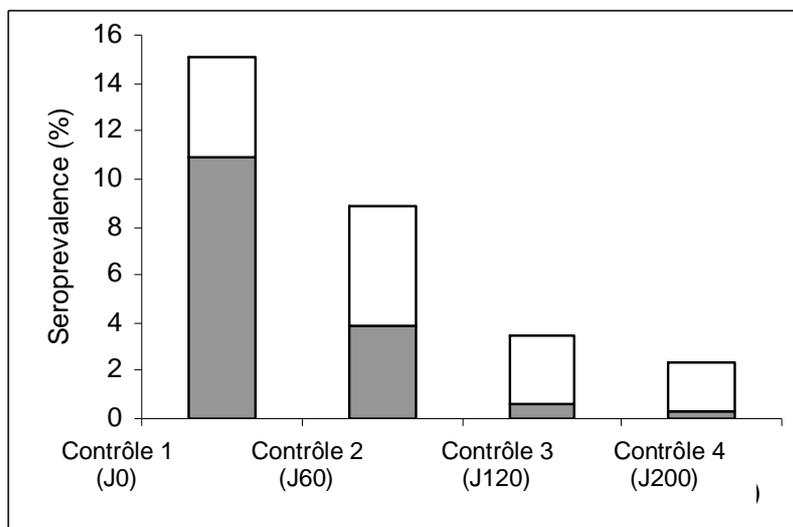
Au quatrième contrôle sur les 3 609 animaux testés, seuls sept animaux issus de deux élevages sont restés séropositifs et la séroprévalence globale (cas « suspects » inclus) dans les neuf exploitations confirmées infectées est passée à 2,4%. La baisse générale de densité optique et l'absence de nouveaux séropositifs ou « suspects » suggère qu'aucune transmission de *Babesia* n'a eu lieu entre le troisième et le quatrième contrôle sérologique.

Enfin, un cinquième contrôle sérologique a été mené à environ 320 jours après le début de la campagne (soit en février, mars 2009) dans trois exploitations infectées (n°1 à 3). Aucun animal n'a été détecté comme séropositif, ce qui suggère qu'aucune transmission de *Babesia* n'a eu lieu depuis le quatrième contrôle. Vingt-neuf animaux sérologiquement suspects ou faiblement positifs ont été testés par PCR et se sont révélés négatifs.

d) Evolution globale dans les élevages présentant une transmission

Après trois traitements consécutifs d'imidocarbe réalisés à 28 jours d'intervalle, les valeurs de densité optique des sérums positifs en ELISA et la séroprévalence ont diminué de façon marquée dans les neuf élevages (n°1 à 9) où la transmission de la babésiose a eu lieu (figure 34).

Figure 34 Evolution de la séroprévalence de *B. bovis* (9 élevages à transmission avérée)



Evolution au cours des sept premiers mois de la campagne d'éradication dans les exploitations n°1 à 9 (tableau 6). En blanc : « Suspects » ; en gris « Positifs »

Dans les cinq élevages présentant une transmission importante et des cas cliniques (n° 1 à 5), seulement sept animaux sont restés séropositifs à 200 jours parmi les 257 séropositifs dénombrés au début du programme d'éradication (tableau 6). Ces résultats suggèrent que la combinaison entre lutte contre les tiques et traitements d'imidocarbe a blanchi les infections existantes et permis de prévenir de nouvelles transmissions.

e) Suivi des élevages présentant une transmission avec cas cliniques (n°1 à 5)

Dans les 5 élevages présentant des cas confirmés de babésiose (n° 1 à 5, tableau 6), la transmission au bétail local a été confirmée par ELISA et par PCR (tableau 7). L'évolution des densités optiques et des taux de séroprévalence au cours des 4 premiers contrôles sérologiques sont présentées dans le tableau 6 ci-avant.

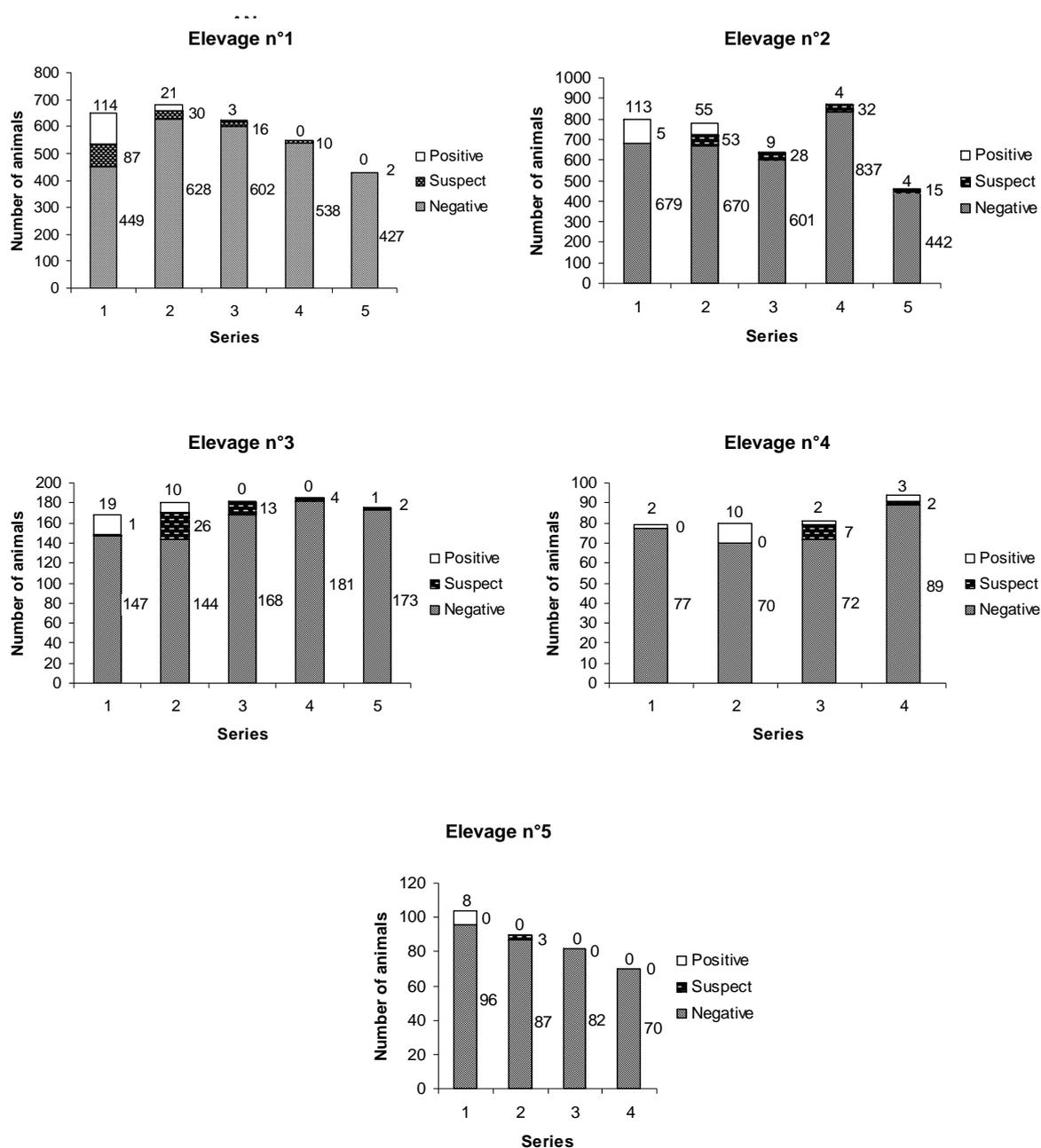
Tableau 8 Evolution sérologique des 5 élevages à transmission avérée avec cas cliniques

Elevage	Contrôle n°1 (J 0)			Contrôle n°2 (J 60)			Contrôle n°3 (J 120)			Contrôle n°4 (J 210)		
	P	D	%*	P	D	%*	P	D	%*	P	D	%*
1	114	87	30.9	21	30	7.5	3	16	3.1	0	10	1.8
2	113	5	14.8	55	53	13.9	9	28	5.8	4	32	4.1
3	20	1	12.5	10	26	20.0	0	13	7.2	0	4	2.2
4	2	0	2.5	10	0	12.5	2	7	11.1	3	2	5.3
5	8	0	7.7	0	3	3.3	0	0	0	0	0	0

(P = nombre de bovins positifs en ELISA ; D = nombre de bovins suspects en ELISA ; %* = pourcentage de bovins positifs ou suspects en ELISA dans chaque élevage)

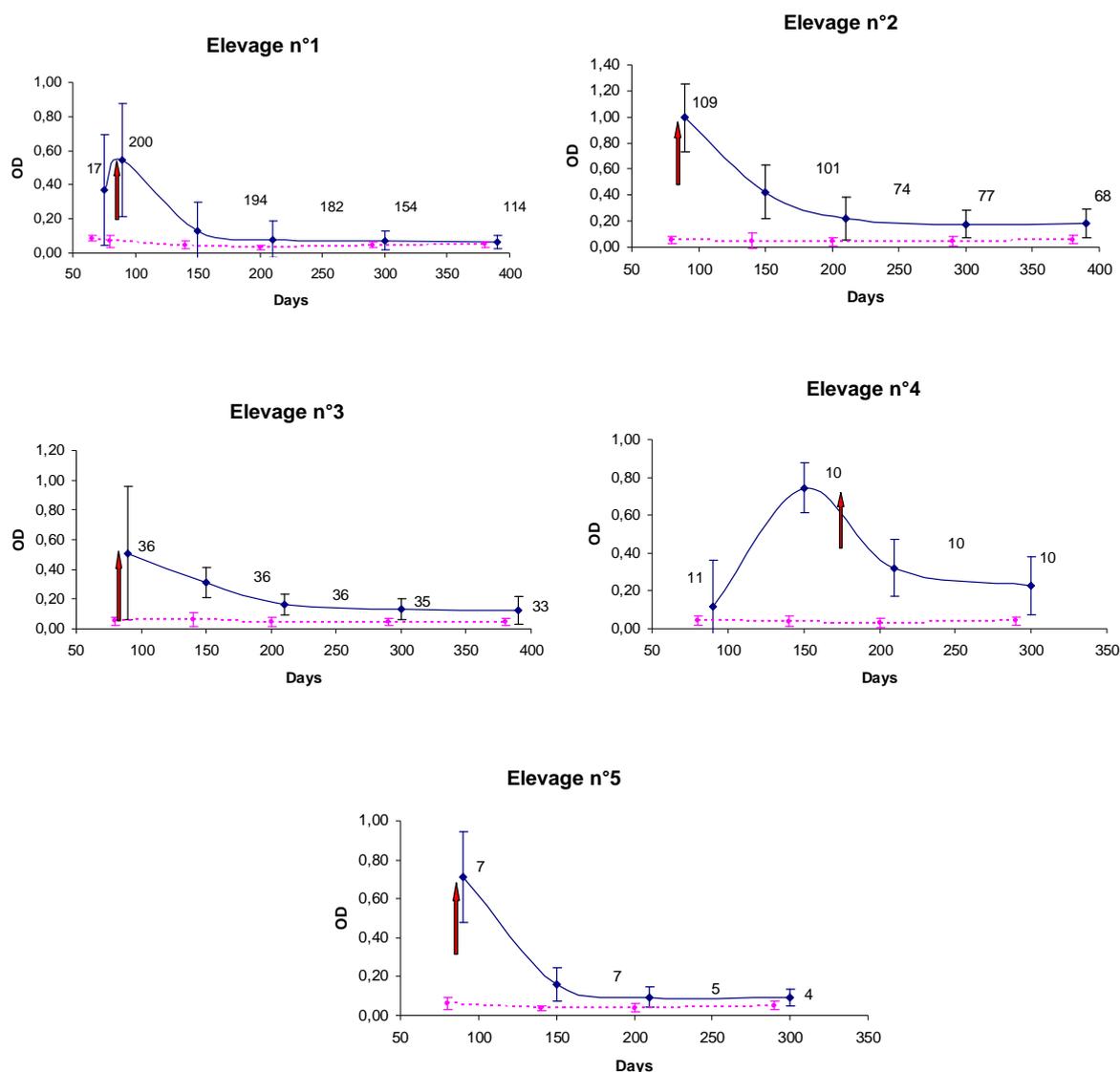
Les observations faites dans les exploitations individuelles sont également présentées plus en détails dans les figures 35 et 36 ci-dessous :

Figure 35 Evolution sérologique des 5 élevages à transmission avérée avec cas cliniques



Fréquence des cas positifs, suspects et négatifs en sérologie ELISA *B. bovis* (bovins sénépols exclus)

Figure 36 Profil sérologique des 5 élevages à transmission avérée avec cas cliniques



Moyenne des DO : Courbe continue: effectifs positifs - Courbe pointillée : effectifs négatifs
 Flèche : traitement d'imidocarbe - Effectifs testés entre parenthèse (bovins sénépols exclus)

- Elevage n°1** : parmi les 201 animaux (31%) séropositifs ou suspects au 1^{er} contrôle, seuls 10 sont restés suspects (2%) lors du 4^{ème} contrôle et 2 lors du 5^{ème} contrôle. La diminution du nombre de cas positifs et suspects a été particulièrement rapide entre les contrôles n°1 et 2, soit au cours des 2 mois suivant le premier traitement d'imidocarbe. Un animal infecté n'a cependant montré aucune baisse de ses taux d'anticorps (DO de 0,5, 0,9 et 0,8 au cours des contrôles 1 à 3) et a été abattu après le 3^{ème} contrôle. Aucun nouveau cas n'a été détecté lors des contrôles 4 et 5, et les valeurs de DO sont retombées au niveau de référence (DO moyenne des animaux négatifs du troupeau), confirmant qu'il n'y avait pas de transmission de *B. bovis* après la mise en place des mesures.

- **Élevage n°2** : une diminution similaire de la prévalence des séropositifs a été observée. Trois nouveaux cas suspects ont été cependant détectés lors du 3^{ème} contrôle sérologique. Ils se sont alors révélés négatifs en test PCR à l'époque et ont été trouvés séronégatifs deux mois plus tard, lors du 4^{ème} contrôle. Il n'a pas été possible de déterminer si le traitement imidocarbe a provoqué une chute des réponses anticorps de ces animaux ou s'il s'agissait de résultats faussement positifs.
- **Élevage n°3** : la séroprévalence a été de 12% (19 positifs et 1 douteux) au 1^{er} contrôle tandis qu'au 2^{ème} le bovin ayant fourni des résultats douteux est devenu séropositif et 2 nouveaux résultats positifs et 14 nouveaux résultats douteux ont été détectés. Sur les 19 animaux séropositifs au 1^{er} contrôle, 16 (84%) étaient également positifs en PCR tout comme 8 des 9 des animaux qui ont séroconverti plus tard (analyses PCR réalisées rétrospectivement). Ces résultats suggèrent que le troupeau était dans les premiers stades de l'infection au moment du premier traitement d'imidocarbe et que lors du prélèvement des bovins lors du contrôle n°1, quelques-uns des animaux étaient en phase de séroconversion malgré le traitement. En raison du nombre de nouveaux séropositifs détectés au 2^{ème} contrôle, la baisse des valeurs de DO post traitement dans cet élevage n'a pas été aussi rapide que dans l'exploitation n°1, cependant aucun nouveau cas n'a été détecté après le 2^{ème} contrôle.
- **Élevage n°4** : seul un bovin local a été positif en ELISA et PCR lors du 1^{er} contrôle, mais l'infection s'est ensuite propagée à un troupeau du même élevage, classé en zone de protection et donc non traité, situé sur une parcelle voisine. Ce troupeau se trouvant dans un pâturage situé en contrebas de la zone infectée, des larves de tiques infectées ont pu avoir été lessivées vers la zone de protection au cours de fortes pluies (BARRE *et al.*, 2010). La prévalence de l'ensemble de ces deux troupeaux a par conséquent augmenté à 12,5% deux mois plus tard (2^{ème} contrôle). Trois des 4 animaux séropositifs étaient également positifs par PCR lors du 2^{ème} contrôle au cours duquel le traitement d'imidocarbe a été mis en place dans ce deuxième troupeau. Aucun nouveau cas n'a été détecté dans cet élevage lors des contrôles ultérieurs. Un veau né d'une vache séropositive s'est révélé séropositif et négatif en PCR au 4^{ème} contrôle et les anticorps détectés ont été présumés être d'origine colostrale. La surveillance sérologique dans cet élevage a cessé après le 4^{ème} contrôle malgré 5% de bovins encore séropositifs ou suspects. Les responsables de campagne ont en effet considéré que les modalités de gestion de cette exploitation permettraient de détecter rapidement toute apparition de nouveaux cas.
- **Élevage n°5** : outre le cas index révélateur de l'introduction de *B. bovis* en Nouvelle-Calédonie, 7 autres bovins se sont révélés séropositifs lors du 1^{er} contrôle (7,7% de séroprévalence). L'un d'entre eux a également été positif en PCR (Ct = 29,2 et DO = 1), suggérant une infection très récente. Deux autres animaux avec des valeurs de DO relativement élevées (0,943 et 0,854, respectivement), ont été négatifs en PCR. Aucun nouveau cas n'a été détecté après le traitement à l'imidocarbe et les valeurs de DO ont rapidement diminué (comme observé dans l'élevage n°1) avec seulement 2 suspects (3% du troupeau) persistant au 2^{ème} contrôle et se négativant lors du contrôle suivant.

f) Suivi des élevages avec preuve de transmission, sans cas cliniques (n°6 à 9)

L'infection a été confirmée par ELISA et PCR dans ces 4 élevages malgré l'absence de signes cliniques constatés. Il est d'ailleurs probable que dans ces élevages, le traitement par l'imidocarbe ait été administré aux bovins infectés avant que les signes cliniques ne puissent se manifester.

Les réponses en anticorps ont été similaires à celles observées dans les élevages présentant des cas cliniques (tableau 6). Les séroprévalences (incluant les cas suspects) de ces élevages lors du premier contrôle, ont été de 2,1, 2,5, 3,9 et 21,4% respectivement. Parmi les animaux séropositifs, 5 sur 29 (16,7%) l'étaient également en PCR. Dans l'élevage n°6, 3 des 5 bovins séropositifs ont montré une forte réponse humorale lors du 1^{er} contrôle (DO > 1), mais se sont révélés négatifs en PCR.

Aucun nouveau cas n'a été détecté dans ces élevages, durant les trois mois après le traitement d'imidocarbe, les valeurs de DO ont chuté progressivement jusqu'à des niveaux de base. L'évolution des titres en anticorps (valeurs de DO) et des taux de séroprévalence (pourcentage d'animaux séropositifs ou suspects) au cours des 4 séries de tests sont résumés dans le tableau 6. Un seul bovin sérologiquement suspect au 1^{er} contrôle a été confirmé infecté par PCR et était encore suspect lors du 4^{ème} contrôle ELISA.

g) Suivi des élevages à transmission équivoque (n°10 à 16) ou sans preuve de transmission (n° 17 à 22)

Les 7 élevages n°10 à 16 ont présenté quelques bovins avec des résultats sérologiques équivoques lors des premiers contrôles. Ces réponses se sont par la suite négativées et aucune preuve de circulation de *B. bovis* n'a été mise en évidence.

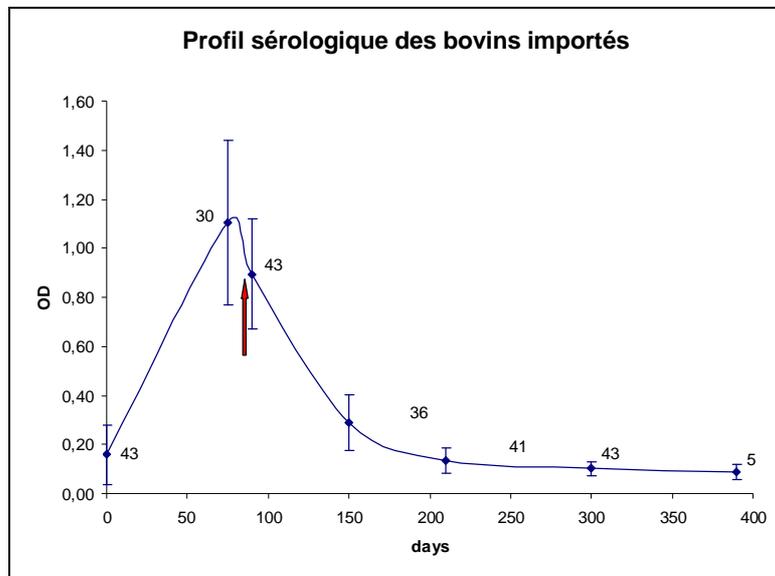
De même, aucune preuve sérologique de transmission n'a été révélée lors du contrôle sérologique initial des 6 derniers élevages (n°17 à 22). Les PCR ont été effectuées chez tous les animaux sérologiquement suspects et tous se sont révélés négatifs. En outre, aucun signe clinique n'a été observé à aucun moment dans ces élevages durant la période de surveillance.

Comme exposé dans le tableau 6, les niveaux d'anticorps dans l'ensemble de ces 13 exploitations ont toujours été très faibles (moyenne des valeurs de DO <0,1) et sont restés stables entre les différents élevages de même qu'au cours des contrôles successifs. Ces niveaux de DO sont comparables à ceux des troupeaux n'ayant jamais été en contact avec *B. bovis*. Les résultats suspects en ELISA ont donc été assimilés à des faux positifs et il a été estimé qu'il n'y avait aucune preuve de transmission de babésiose dans ces élevages, malgré la présence de bétail importé dans 9 d'entre eux.

h) Suivi de l'effectif de bovins Sénégalais importés

Une attention particulière a été donnée au bétail importé d'Australie à l'origine de l'infection. Les sérums prélevés au cours de la période de post-quarantaine chez les 43 Sénégalais importés ont donc été analysés rétrospectivement pour la recherche des anticorps anti *B. bovis*. Malheureusement, aucun échantillon n'avait alors été conservé pour les essais de PCR. A cette époque, soit 13 jours après leur vaccination, 23% des animaux avaient déjà séroconverti en ELISA (4 positifs, 6 suspects). Début mars, lorsque le foyer a été détecté, soit environ 3 mois après la vaccination, la totalité des 43 bovins importés était séropositive et 41 (95%) étaient également positifs par PCR (avec une valeur moyenne de Ct de $31,6 \pm 2$) (figure 37).

Figure 37 Profil sérologique des bovins Sénégalais importés



Moyenne des densités optiques (OD) à chaque série de contrôle post quarantenaire
Effectifs testés indiqués sur la courbe ; la flèche indique le premier traitement à l'imidocarbe

Ces résultats sont cohérents avec les réponses sérologiques post-vaccinales observées en Australie, la durée de 13 jours coïncidant approximativement avec la période prépatente de la souche vaccinale de *B. bovis* employée. Par ailleurs les titres d'anticorps présentent généralement un pic de DO à 3 - 4 semaines post vaccination (DE VOS, 2000, non publié). Ces résultats sont également en accord avec les observations faites au Brésil (GONCALVES *et al.*, 1999) où une séroconversion est décrite 19 jours après inoculation expérimentale et 11 jours après infection par des tiques. Là encore, les titres anticorps atteignent un pic la 4^{ème} semaine post contamination.

Les 43 Sénégalais importés ont également été traités à l'imidocarbe au début de la campagne avec le même effet de décroissance progressive de leurs titres d'anticorps que celui observé chez les bovins locaux traités. Ainsi 120 jours après traitement, 36 étaient négatifs et 7 suspects et tous se sont révélés séronégatifs 200 jours après traitement.

i) Cinétique d'anticorps après traitement à l'imidocarbe

L'imidocarbe a été utilisé avec un objectif de stérilisation des animaux infectés par *B. bovis* comme précisé précédemment. Le régime de 3 doses successives administrées à 4 semaines d'intervalle (BARRE *et al.*, 2010) devait permettre d'éliminer toute infection ou réinfection pendant environ 12 semaines.

L'absence de toute preuve de nouvelle infection dans les élevages dès le deuxième contrôle a montré que ce traitement, associé aux autres mesures mises en place a effectivement permis de briser le cycle de transmission de *B. bovis*.

En effet, le schéma de traitement a eu un effet profond sur les taux d'anticorps des animaux positifs. A titre d'exemple, l'élevage le plus infecté (n°1), a vu 75% de ses animaux séropositifs se négativer dans les 2 mois et 100% dans les 10 mois après la mise en place du traitement. Des effets similaires ont été observés dans les autres élevages présentant une transmission ainsi que chez les bovins importés. En fin de compte, très peu d'animaux sont demeurés séro-positifs ou ont présenté des résultats suspects malgré les traitements, et ils ont été abattus par mesure de précaution.

Une étude de l'effet de l'imidocarbe sur la réponse immunitaire à *B. bovis* (CALLOW *et al.*, 1974) a montré une forte chute de la réactivité en immuno-fluorescence des animaux traités au cours des 6 mois post traitement, alors que celle des témoins non traités ne chute pas. En comparaison, les anticorps de bovins non traités seraient toujours détectables en ELISA (technique MOLLOY *et al.*, 1997) pendant au moins 4 ans (BOCK, 2006). Enfin une autre étude australienne a montré que les taux d'anticorps de 23 bovins inoculés expérimentalement avec la même souche vaccinale *B. bovis* que celle détectée en Nouvelle-Calédonie et non traités à l'imidocarbe étaient encore séropositifs 17 mois post inoculation, malgré une chute moyenne de D.O. de 1,2 à 0,5 nm (WALDRON, 2009, non publié).

La chute rapide des niveaux d'anticorps constatée dans cette campagne a donc été interprétée comme une indication de chemosterilisation efficace des infections existantes. La chute importante et rapide des niveaux d'anticorps des bovins suivis a permis une surveillance sérologique efficace dans la détection d'éventuelles nouvelles infections ou réinfections, ce qui n'aurait pas été possible si les taux d'anticorps étaient restés élevés après le traitement par l'imidocarbe.

7. Suivi des populations de tiques

Les populations de tiques présentes sur le bétail et les pâturages avant les interventions diffèrent entre les exploitations en fonction notamment des pratiques de lutte employées et de la susceptibilité des races présentes. Suite à l'adoption d'un traitement agressif à l'amitraz, les populations de tiques (récoltées par la technique du drapeau) ont rapidement diminué sur le bétail et sur les pâturages.

Des tiques adultes femelles ont été détectées dans cinq exploitations en mai 2008 (deux mois après le début des mesures de lutte) et dans une à trois des exploitations au cours de chacun des mois suivants. Les pâturages de toutes les exploitations, à l'exception d'une, n'avaient plus de tiques adultes ni de larves détectables sur les pâturages au bout de quatre mois de traitement.

8. Estimation des effets secondaires de l'imidocarbe

Un total de 2 307 bovins dans la zone infectée ont été traités trois fois à l'imidocarbe à intervalles d'environ 28 jours. Le protocole retenu va au delà des recommandations du fabricant, mais a été adopté pour maximiser la période de protection vis à vis des réinfections par *B. bovis*. Les injections ont été bien tolérées dans l'ensemble et seuls quelques animaux ont montré des symptômes modérés et transitoires : salivation, ataxie, agitation, tremblements, diarrhée. Ces effets secondaires sont décrits dans la littérature lors de l'utilisation de fortes doses d'imidocarbe chez les bovins (ADAMS, 1980; COETZEE *et al.*, 2006).

Un délai d'attente viande de 28 jours est généralement recommandé après un seul traitement avec l'imidocarbe. La clairance de la molécule par l'organisme est lente avec seulement 53 % excrétés au 10^{ème} jour post injection (OMS, 1998). Des résidus entre 0,06 et 0,12 mg/kg ont été signalés dans le foie et le muscle 224 jours post administration (COLDHAM *et al.*, 1995). L'importance des résidus après traitements multiples n'est par contre pas connue.

Dans cette campagne, les résidus dans les reins, le foie et les muscles de cinq bovins ont été analysés par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) (Symbio Alliance, Brisbane, Australie) cinq mois après la troisième administration d'imidocarbe. Sur la base de ce petit échantillon, il semble que cinq mois après la dernière dose les résidus d'imidocarbe chez les bovins de Nouvelle-Calédonie ont été bien inférieurs à la limite maximale de résidus (LMR)

recommandée par l’Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority (APVMA, 2009) et très proches de celles recommandées par l’European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA, 2003) et la Food and Agricultural Organisation of the United Nations (FAO, 2003) (Tableau 8).

Tableau 9 Résidus d’imidocarbe dans les tissus animaux 5 mois après 3 injections de 3 mg/kg

<i>Résidus (en mg/kg)</i>	<i>Rein</i>	<i>Foie</i>	<i>Muscle</i>
Moyenne	2.02	1.34	0.23
Ecart-type	0.23	0.48	0.03
Minimum	1.65	0.88	0.18
Maximum	2.21	2.06	0.26
Max. – Min.	0.56	1.18	0.08
FAO (2006) LMR	2.00	1.50	0.30
EMA (2003) LMR	1.50	2.00	0.30
APVMA (2009) LMR	5.00	5.00	1.00

9. « Stérilisation » et libération des principaux élevages

À la fin de novembre 2008, après le quatrième contrôle sérologique, soit environ huit mois après le début du programme de lutte, les experts en santé animale de Nouvelle-Calédonie et d’Australie se sont réunis pour examiner les progrès du programme d’éradication et établir la base sur laquelle les élevages pourront être considérés comme à nouveau indemnes de *B. bovis*.

Le risque d’infection par *B. bovis* a été évalué dans chaque élevage en tenant compte des résultats de chacune des quatre séries de surveillance sérologique, de l’efficacité de la lutte contre les tiques, du respect des mesures de lutte contre le parasite et de toute autre information épidémiologique pertinente.

Trois catégories de risques ont ainsi été définies comme suit:

Risque négligeable : élevages sans preuve clinique ou sérologique de transmission sur aucune des quatre séries de surveillance. Niveau de confiance élevé quant à une absence totale de transmission et de contamination des pâturages.

Risque faible : élevages présentant une évidence sérologique de transmission et d’éventuels signes cliniques avant les interventions (présence de bovins séropositifs au premier et éventuellement deuxième contrôle), mais sans preuve de transmission après les interventions (absence de nouveaux séropositifs détectés en troisième ou quatrième contrôle). Remarque : certains animaux ont été infectés (et détectés positifs en PCR) au cours de la première série de surveillance, mais n’ont pas séroconverti avant la deuxième série de surveillance, il ne s’agit donc pas à proprement parler de nouveaux séropositifs.

Risque élevé : Elevages avec évidence sérologique de transmission et signes cliniques éventuels avant les interventions et, où éventuellement, la transmission a commencé après les interventions (nouveaux animaux séropositifs détectés et/ou animaux avec titres en anticorps stables ou en augmentation lors de la troisième ou de la quatrième série).

Huit mois après le début de la campagne, 12 exploitations agricoles (n° 11 à 22) où la transmission n’a de toute évidence pas eu lieu ont été classées comme étant à risque négligeable. Les mesures de

quarantaine et de lutte ont été levées dans ces exploitations, bien qu'elles soient restées sous surveillance clinique.

Sept exploitations (n°4 à 10) ont été considérées comme étant à faible risque, mais sont restées sous mesures de quarantaine et surveillance clinique accrue pour une période de trois mois avant d'être catégorisées à risque négligeable. La sensibilité de la surveillance clinique a été reconnue comme limitée, mais le risque de persistance de *Babesia* y a été jugé très faible.

Trois exploitations (n°1 à 3) ont été considérées comme ayant un risque de persistance de *Babesia* plus élevé. Ces fermes sont restées en quarantaine et les mesures de lutte ont été soumises à une cinquième série de tests sérologiques après une période de trois mois. Aucune nouvelle preuve sérologique de transmission n'a été détectée alors, et sur cette base chacune des trois exploitations a été reclassée comme étant à faible risque⁷.

E. Gestion d'un foyer de bétail sauvage

Quatre mois après le début des mesures de lutte, la babésiose a été diagnostiquée dans un troupeau de bétail sauvage estimé à quelques centaines de têtes, dans une propriété de 1 000 ha adjacente à un élevage infecté (élevage n°1).

Le relief montagneux et l'absence d'installations de contention rendant impossible la mise en application de mesures de contrôle médical, l'abattage complet par le tir du bétail présent dans cette propriété a été considéré comme la seule approche possible permettant d'éliminer les *Babesia* présentes dans la propriété, afin d'éviter la contamination des élevages voisins et le maintien d'un réservoir de la maladie. Mais le relief accidenté, l'étendue et la densité végétale de la zone retardent l'éradication complète de ce foyer, toujours en cours à l'heure actuelle.

1. Etat des lieux

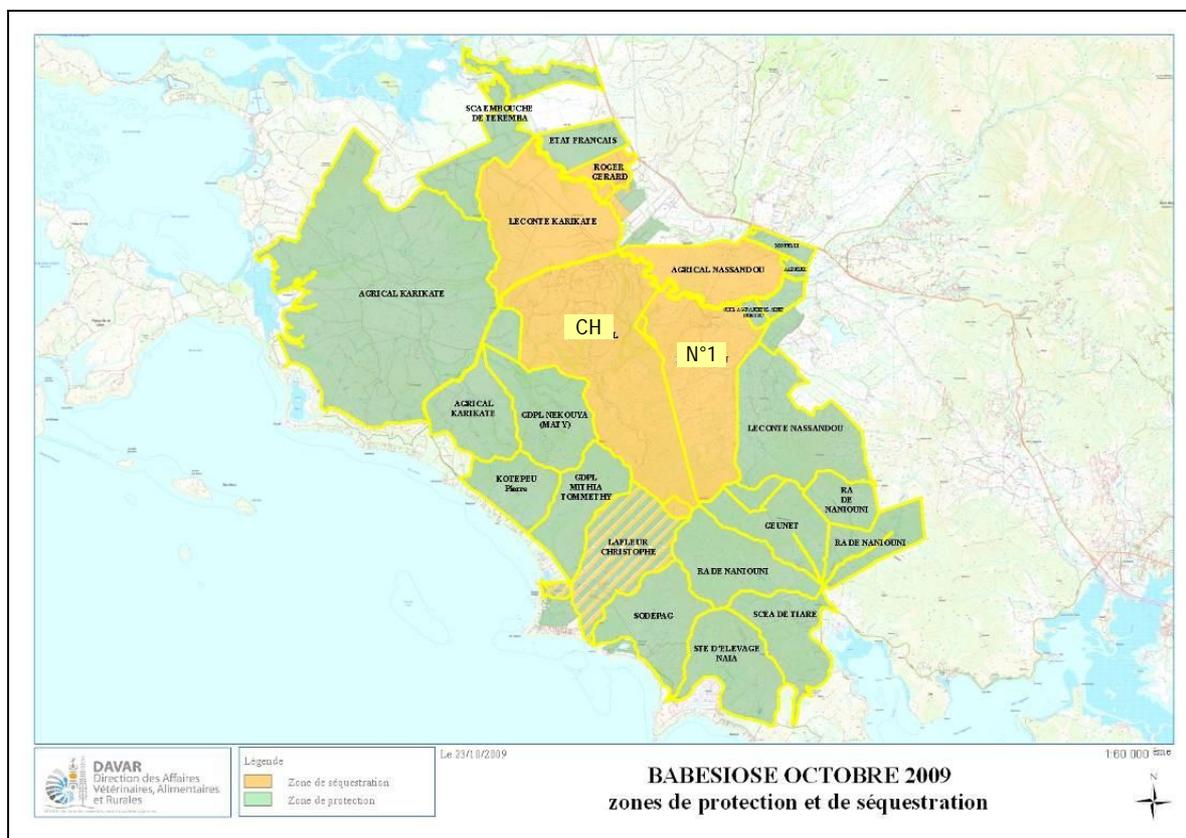
La propriété « CH » est située sur la côte Ouest, dans la municipalité de Païta, à 32km au Nord de Nouméa, entre les villages de Païta et de Tontouta. Elle est orientée selon un axe Nord-Nord-Ouest / Sud-Sud-Est, et mesure 5 120 m dans sa plus grande longueur, 3 500 m dans sa plus grande largeur et couvre 1 070 ha. Elle culmine à 320 m au Sud (figure 38).

La majorité de la propriété a un relief accidenté avec des vallées profondes, et un relief plus plat dans sa partie Nord (30m alt). Elle est recouverte d'une végétation dense de mauvaises herbes et de buissons introduits (Lantana, Leucaena, Agaves ...) et quelques vestiges de forêt sèche indigène (8-12m de haut) dans les talwegs. Des retenues d'eau et des sources sont dispersées sur la propriété. Des pistes utilisables uniquement par des véhicules à quatre roues motrices peuvent atteindre la plupart des zones de la propriété. Enfin, elle est entourée avec une ancienne clôture de fil barbelé qui isole théoriquement la propriété de ses six voisins.

⁷ Journal Officiel de la Nouvelle-Calédonie :

- Arrêté n° 2010-2183/GNC du 15 juin 2010 modifiant l'arrêté n° 2009-5513/GNC du 1er décembre 2009 relatif aux dispositions complémentaires à mettre en œuvre pour l'éradication de la babésiose bovine en Nouvelle-Calédonie.

Figure 38 Localisation des propriétés CH et n°1 (cartographie : DAVAR-SESER)



Propriété CH placée en zone de séquestration (orange), propriété n°1 placée en zone de séquestration (orange), propriétés voisines placées en zone de protection (vert)
(Carte au 1/60 000)

Avant l'élaboration de toute action, le gérant de la propriété a estimé le troupeau de bovins sauvages entre 80 et 120 têtes de différentes races taurines. La propriété héberge également environ 30 chevaux et une population de cerfs indéterminée. Sur les 6 propriétés voisines, 3 sont des propriétés mélanésiennes (GDPL⁸) hébergeant des bovins sauvages, les 3 autres sont des élevages commerciaux gérés par des éleveurs européens. L'une de ces fermes (n°1) a été concernée par l'épisode de babesiose initial, début de 2008. Cet élevage avait introduit 3 Sénégalais vaccinés et a subi des mortalités par babesiose dans l'un de ses troupeaux.

2. Stratégie spécifique

a) Délimitation de la zone de surveillance

Afin de surveiller une éventuelle extension de ce foyer par la divagation des bovins sauvages, la zone de surveillance a été largement étendue pour être délimitée par des barrières naturelles (route, mer), incluant la totalité des 17 élevages de cette région répartis sur plus de 13 000ha.

⁸ GDPL : Groupement de Droit Particulier Local. Un GDPL est une structure juridique originale créé en 1982 pour concilier les exigences du droit civil européen et l'organisation coutumière traditionnelle. Il regroupe des individus attachés entre eux par des liens coutumiers (famille, clan, tribu) et est géré à ce titre par le droit coutumier (www.adraf.nc).

b) Abattage et contrôle au laboratoire

Il a été décidé d'abattre la totalité du bétail sauvage de la propriété CH. Le gérant de la propriété accompagné par des équipes de chasseurs a été en charge de cet abattage. Pour chaque tête de bétail tué, un échantillon de sang sur tube sec et l'encéphale dans sa totalité ont été prélevés, respectivement pour test ELISA et recherche d'hémoparasites à la fois par examen direct et par PCR. A chaque abattage un effort de localisation des animaux a été réalisé (animaux numérotés par ordre chronologique et replacés manuellement sur une carte de la propriété). De même un effort de dénombrement des bovins restants a été mené tout au long de cette campagne d'abattage.

c) Suivi de la population de tiques

A partir de l'observation épidémiologique et compte tenu du risque de propagation de la maladie du cheptel de la propriété n°1 aux bovins sauvages de la propriété CH, une enquête a été établie pour évaluer la population de larves de chaque côté de la clôture n°1/CH et de tester par PCR leur infectivité. Le déplacement d'un morceau de flanelle de 1,0 x 0,7 m sur 100 m transects à travers les pâturages (n°1) ou le long des sentiers sur les habitats herbeux (CH) a été utilisé pour la surveillance des larves, sur quatre et sept transects respectivement. Les larves ont été dénombrées et collectées pour chaque transect.

3. Suivi et résultats

a) Cas cliniques

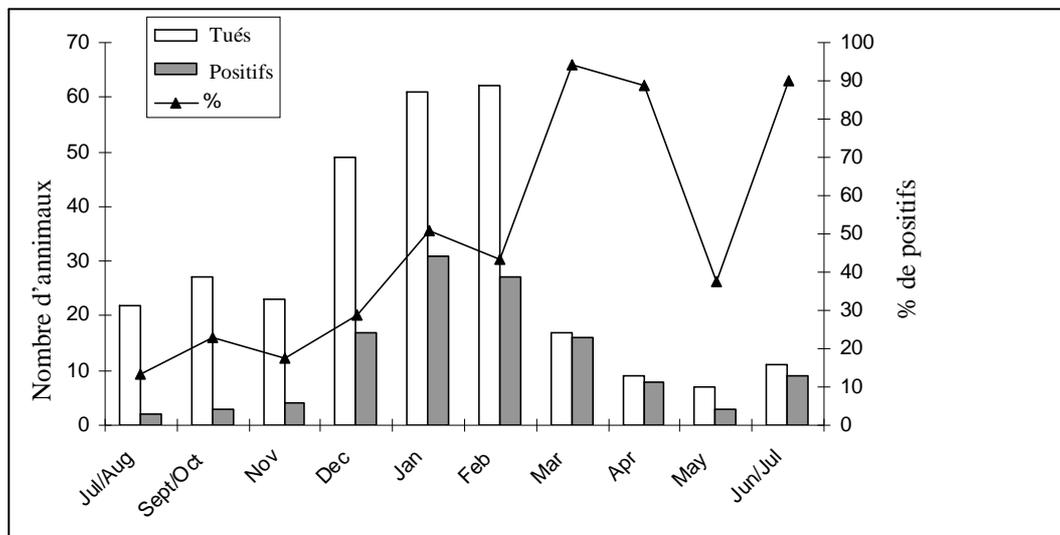
Malgré une très forte prévalence de la babésiose chez les animaux abattus dans cette propriété, il n'a pas été reporté de morbidité ni de mortalité.

b) Suivi diagnostique des animaux abattus

Il a fallu quelques mois pour convaincre le propriétaire CH d'éliminer le bétail de sa propriété. L'abattage a commencé lentement à la fin juillet 2008, mais a augmenté de façon spectaculaire à partir de décembre 2008 à mars 2009. Le premier cas positif de babésiose a été détecté en août 2008, et l'abattage systématique de tous les bovins de la propriété a ainsi pu être négocié avec le propriétaire.

Cette mesure a été couplée à une analyse systématique au laboratoire : sérologie et diagnostic direct (calque et PCR) sur cortex cérébral. À la fin juillet 2009, un total de 289 bovins ont été tués et prélevés. 120 (41,5%) d'entre eux étaient positifs vis-à-vis d'au moins l'une des trois méthodes utilisées au laboratoire (figure 40). En décembre 2009, 300 bovins au total (soit trois fois plus que l'estimation initiale, pour une densité de 0,28 tête / ha) ont été tués et environ 15 animaux seraient encore en vie.

Figure 39 Evolution des effectifs de bovins sauvages abattus et infectés de la propriété CH



Nombre (et pourcentage) de positifs (calque d'encéphale et / ou PCR ou ELISA)

Le nombre d'animaux positifs est resté relativement faible jusqu'en octobre / novembre, puis a augmenté considérablement pour atteindre un pic en mars 2009, avec 94,1% des animaux infectés.

Par la suite, la proportion de cas positifs est restée supérieure à 80%, sauf dans la période mai / juin (1 seul animal tué en juin) où elle est tombée à 37,5%. Cette évolution semble bien corrélée avec les variations saisonnières associées à une transmission de la maladie plus importante en été, quand le nombre de tiques augmente (BOCK, 2004).

Toutefois, le suivi des populations de larves (figure 40) montre que le nombre de larves de tiques présentes sur la propriété CH a évolué à l'inverse du nombre de cas de babésiose chez les bovins. Il est donc plus probable que la période de juillet à novembre 2008 corresponde à une « phase de latence », avant que la maladie n'ait été très répandue chez les bovins, même dans des endroits éloignés géographiquement. Cela pourrait signifier également que, bien que moins nombreuses, les larves de tiques ont eu une meilleure efficacité dans la transmission de *Babesia*, en lien avec des résultats PCR positifs essentiellement sur cette période.

Le tableau 9 présente la contribution de chaque technique pour la détection des 120 cas positifs. Aucune de ces techniques n'a été à elle seule en mesure d'identifier tous les cas positifs, et seulement 29 positifs sur 120 (24,2%) ont pu être identifiés par les 3 techniques en même temps. La PCR et la sérologie, utilisées conjointement ont permis le diagnostic de tous les cas, tandis que la détection directe a été beaucoup moins sensible que la PCR pour le diagnostic sur tissu cérébral (plus de 50% des cas détectés par PCR ne sont pas reconnus au microscope).

Tableau 10 Répartition des cas positifs de la propriété CH pour les 3 techniques de dépistage

		Examen direct		PCR en temps réel		Sérologie	
		Positif	Négatif	Positif	Négatif	Positif	Négatif
Examen direct	Positif	/	/	47	0	29	16
	Négatif	/	/	55	16	57	12
PCR en temps réel	Positif	39.2%	45.8%	/	/	70	28
	Négatif	0%	13.3%	/	/	16	0
Sérologie	Positif	24.2%	47.5%	58.3%	13.3%	/	/
	Négatif	13.3%	10%	23.3%	0%	/	/

Répartition : nombre et % du nombre total de positifs - n= 120 bovins testés positifs à au moins l'une des trois techniques de dépistage

Les animaux suspects en PCR et en sérologie ont été inclus avec les positifs, considérant qu'ils étaient probablement en phase précoce d'infection. Les suspects en examen direct ont été considérés comme négatifs en raison des difficultés d'identification, en particulier sur les tissus morts, où la dégénérescence post mortem implique des changements morphologiques du parasite.

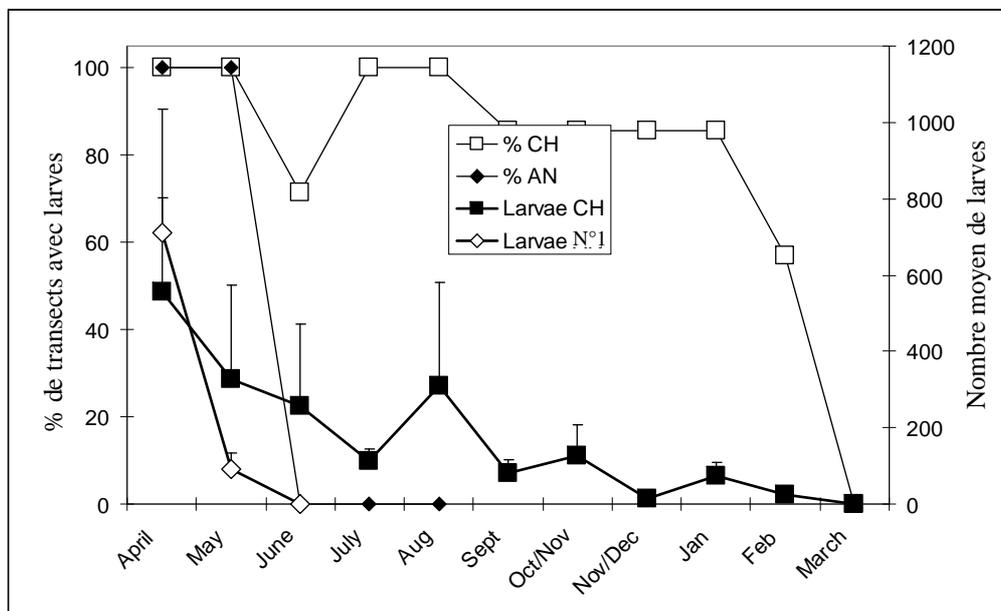
Remarque : Dans 4 cas, la qualité des échantillons de sang n'a pas permis la réalisation de l'ELISA, la comparaison ne porte alors que sur l'examen direct et la PCR. Dans 3 cas, l'encéphale n'a pas été transmis, les résultats ne sont alors disponibles que pour le diagnostic ELISA.

Prises isolément, la PCR a été capable de détecter plus de 80% des résultats positifs, la sérologie près de 72%, et la détection directe un peu moins de 40%. Ces résultats mettent en lumière la meilleure sensibilité de la PCR et de la sérologie par rapport à la détection directe. En particulier, aucun cas n'a été positif en détection directe et négatif en PCR, renforçant l'intérêt de cette dernière dans le dépistage des animaux porteurs asymptomatiques. Parmi eux, 58,3% étaient positifs à la fois en PCR et en sérologie, tandis que 23,3% étaient positifs en PCR seulement, correspondant probablement à des animaux pour lesquels la séquestration cérébrale de *Babesia* a eu lieu avant une réponse anticorps détectable par ELISA. D'autre part, 13,3% des échantillons n'ont été positifs qu'en sérologie et représenteraient des animaux ayant totalement récupéré de la maladie.

c) Estimation du niveau d'infestation des pâturages

Au début de l'enquête, les larves étaient présentes et nombreuses de chaque côté de la limite entre les propriétés n°1 et CH. L'élevage n°1 où la babésiose a été confirmée par des cas cliniques (11 morts) et une prévalence d'anticorps élevés (31%) en mars 2008, a été immédiatement soumise - comme les autres fermes infectées - à une procédure de suivi strict avec des traitements acaricides intensifs (amitraz à 15-20 jours d'intervalle) et l'injection d'imizole.

Figure 40 Evolution des populations de larves sur les propriétés CH et n°1



Propriété n°1 sous traitement imidocarbe et acaricide - Propriété CH : bétail sauvage, absence de traitement

La diminution des larves sur les pâturages a été rapide et importante. Deux mois après la mise en place de ces mesures médicales, les larves avaient disparu (figure 41).

Au contraire, la population de larves sur la propriété CH reste importante sur une longue période et est finalement devenue indétectable en mars 2009, soit 9 mois après le début de l'abattage du bétail et 4 mois après l'intensification des mesures d'abattage.

La disparition progressive des hôtes bovins a entraîné la disparition subséquente des tiques. Les larves n'ont plus été détectables en mars 2009, lorsque 80% de leurs hôtes bovins ont été supprimés.

d) Evaluation de « l'infectivité » des larves

Des larves de tiques nées au laboratoire et issues de femelles gorgées recueillies sur les bovins abattus entre mars 2008 et février 2009 ont été testées en PCR babésiose. En fonction du nombre de larves contenues dans un échantillon (90 à 300 larves environ, plongées dans l'alcool absolu et conservés à -18°C avant analyse), 2 à 10 pools ont été étudiés par lot.

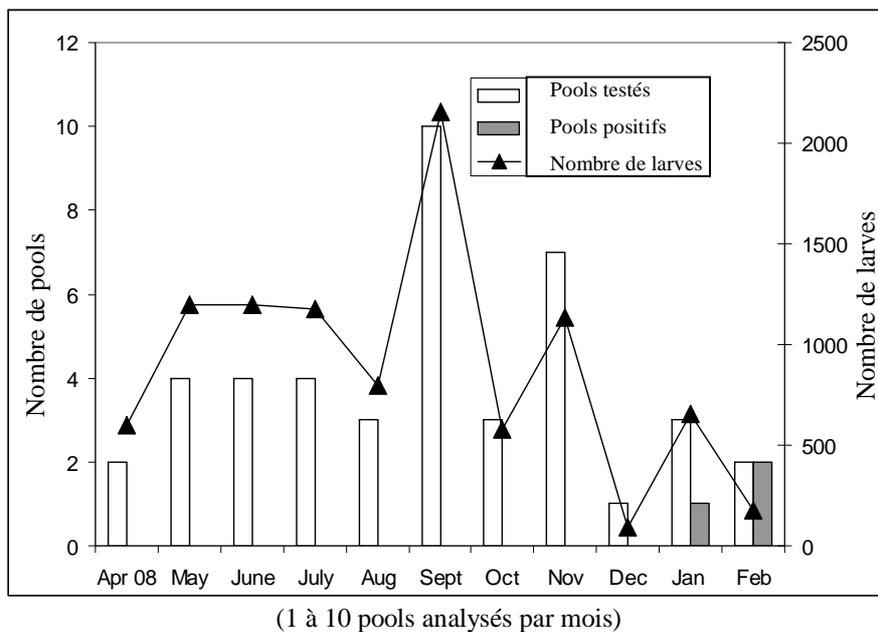
Dans un premier temps, l'extraction de l'ADN de tiques a été réalisée à partir de tiques adultes et/ou de larves par la méthode d'écrasement-ébullition décrite par GUERRERO en 2006 puis remplacée par la méthode de HALOS *et al.* (2004).

Comme l'ADN de *B. bovis* a été difficile à détecter dans les tiques et les larves, la qualité de l'extraction d'ADN a été évaluée par l'amplification d'un gène de tique afin de s'assurer de la bonne qualité de l'extraction de l'ADN. Le protocole de PCR utilisé est une technique classique (KOFFI *et al.*, 2006) basée sur le couple d'amorces BmA06F et BmA06R. Cette méthode a été utilisée avec un thermocycleur AB 2720 (Applied Biosystems).

Parmi 43 pools et environ 9 800 larves testées, seuls 3 pools (127, 87 et 87) de larves recueillies en fin de période, en janvier et février 2009 (peu avant leur disparition) ont été détectés positifs en

babésiose (figure 41). A cette même période on note une augmentation de la transmission et une grande partie du bétail est positif en PCR ou en sérologie (figure 40).

Figure 41 Evolution des effectifs de larves testés, et positifs en PCR, sur la propriété CH



e) Extension du foyer

A la mi-2009, de nouvelles infections ont été détectées dans les troupeaux de trois élevages adjacents. L'un des élevages (élevage n° 1) avait été initialement infecté, puis reclassé comme étant à faible risque, les deux autres n'avaient pas été précédemment connus comme étant infectés. Il est donc très probable que les bovins sauvages divaguants aient été à l'origine de ces nouvelles infections.

Dans les mois suivants, cinq élevages voisins supplémentaires ont été touchés par la babésiose et le protocole de traitement initial a été mis en place avec succès dans ces exploitations. Les autres élevages de la zone ont été - et sont encore - soumis à des mesures de biosécurité couplées à des contrôles sérologiques répétés et ce, jusqu'à la fin de la gestion du foyer sauvage. Les résultats de cette surveillance en zone dite de Tamoia, ne sont pas présentés dans ce document.

Enfin, les mesures de restriction actuellement appliquées à l'ensemble de la zone ne pourront être levées que lorsque l'éradication du bétail sauvage sera achevée.

4. Conclusions sur ce cas particulier

La situation épidémiologique de la zone n°1/CH a permis de suivre l'évolution naturelle de la maladie, en l'absence de mesure de lutte contre les tiques et contre l'agent pathogène.

Il ne fait aucun doute que les bovins sauvages de la propriété CH ont été infectés en mars-mai 2008 à partir de larves nées de tiques femelles tombées à proximité de la barrière n°1/CH après un repas sanguin sur des bovins n°1 infectés.

Suite à des mesures médicales strictes, et à l'utilisation du bétail pour « ramasser » les larves de tiques sur les pâturages infestés, la diminution des populations de larves a été forte et rapide, et elles n'étaient plus détectables 3 mois après le début des mesures.

Au contraire, les larves persistent sur une longue période quand les hôtes sont disponibles. Elles deviennent indétectables (sur 7 transects de cent mètres chacun sur des sites de pâturage adaptés) lorsque 80% des hôtes ont été supprimés, c'est à dire avec une densité de bétail réduite de 0,28 à 0,05 bovin / ha.

Même un gérant expérimenté peut sous-évaluer d'un facteur 2 ou 3 le nombre de bovins adultes dans un site avec un relief accidenté et une végétation dense. Dans ces sites, l'abattage des bovins est difficile et prend du temps. D'autres méthodes (abattage par hélicoptère) auraient pu être plus rapides et efficaces. Elles n'ont cependant pas été retenues afin d'éviter de créer la panique dans le troupeau et la fuite des bovins sauvages infectés à l'extérieur.

L'infection s'est propagée largement dans le troupeau de bétail sauvage. Peu d'animaux (5,5%) étaient positifs pour les cinq (5,5%) à sept (12,5%) mois consécutifs à l'infection. Dans les 3 mois suivants, 47% des bovins ont été infectés et la plupart d'entre eux (80%) dans les 4 derniers mois, coïncidant avec la quasi éradication du bétail.

La technique de PCR en temps réel sur des larves ne s'est pas révélée être un outil approprié pour étudier l'infection de larves et encore moins pour prédire si les larves sur un pâturage sont infectées. Malgré la taille des échantillons (la plupart d'entre eux possédant environ 300 larves), ceux-ci ne peuvent être considérés positifs que si une forte proportion des hôtes sont infectés. Dans notre enquête, en janvier et février 2009, les échantillons positifs de larves correspondent à une période où 47% des hôtes étaient positifs en PCR ou ELISA. Ces méthodes sont très sensibles sur les tissus bovins, mais pas sur les tiques. Ou alors, conformément à la littérature (BOCK, 2004) très peu de larves de tiques étaient infectées.

L'éradication de l'infection semble réaliste si les bovins sauvages et les tiques vectrices sont éliminés en même temps dans une zone définie et si les hôtes et les tiques ne s'échappent pas vers des régions périphériques incontrôlables.

CONCLUSION

L'introduction du parasite *Babesia bovis* en Nouvelle-Calédonie en 2007 démontre les risques associés au commerce international de bétail. Malgré de bonnes procédures de quarantaine et l'usage de protocoles sanitaires, des erreurs peuvent se produire avec des conséquences potentiellement graves liées à l'introduction notamment d'agents pathogènes « exotiques ». Toutefois, dans ce cas, la campagne liée à l'éradication de la babésiose montre que de bonnes connaissances scientifiques, une collaboration technique, l'existence de ressources humaines et financières adéquates ainsi qu'un soutien politique contribuent à la bonne gestion du risque d'introduction d'agents pathogènes.

La détection précoce et une enquête épidémiologique complète et immédiate, ont permis la délimitation rapide et l'endiguement du foyer de babésiose bovine. Ceci a été rendu possible grâce à un service vétérinaire compétent, un laboratoire de diagnostic, un réseau de collaborations, des données agricoles précises et un Système d'Information Géographique performant. Les éléments techniques de réponse à l'épisode de babésiose ont exigé une approche collaborative entre professionnels néo-calédoniens et australiens avec la contribution de vétérinaires praticiens, de parasitologues, d'épidémiologistes et de biologistes. L'engagement des éleveurs, le soutien politique et le financement ont également été essentiels dans la mise en œuvre de ce programme d'éradication de la babésiose bovine.

Des critères objectifs, tels que la nature et l'épidémiologie de la maladie, son importance économique ou encore la faisabilité d'une campagne de lutte, ont été appliqués pour mettre en place la politique d'éradication. La décision d'éradiquer l'infection a été d'une importance particulière, plutôt que d'adopter une stratégie alternative telle que l'abattage ou le confinement à long terme.

La gestion de l'introduction de l'infection a nécessité la prise de décisions malgré certaines incertitudes. Jusqu'à présent, le recours à des doses multiples d'imidocarbe n'avait jamais été utilisé avec un objectif d'éradication à grande échelle. L'accès à une importante quantité d'informations épidémiologiques, parasitologiques et pharmacologiques a permis la prise de décisions rationnelles.

En dépit de l'insuffisance de validation et des limites des tests de laboratoire, les résultats des 16 000 tests ELISA et 580 PCR ont aidé les gestionnaires de la campagne à déterminer l'ampleur initiale de l'épisode de babésiose bovine et à évaluer l'efficacité des mesures de lutte contre l'infection tout au long de la campagne. Ces tests ont notamment permis de confirmer l'absence de nouvelles infections et la « stérilisation » des quelques rares cas d'infection persistant après le traitement par l'imidocarbe. Par ailleurs, les résultats obtenus ont confirmé la valeur de l'utilisation à grande échelle de ces tests de dépistage complémentaires dans une campagne d'éradication de cette ampleur.

Le déclin rapide des titres d'anticorps des animaux traités suggère que le régime de trois injections successives d'imidocarbe à environ 28 jours d'intervalle a été très efficace dans l'élimination de l'infection et a permis de prévenir la réinfection des troupeaux. Cet effet de l'imidocarbe sur l'infection par *B. bovis* est en accord avec les observations récentes sur la capacité de ce médicament à traiter les infections par *B. caballi* chez les chevaux (SCHWINT *et al.*, 2009). La baisse de séroprévalence et l'absence de nouvelles infections dans les troupeaux indique que la

stratégie adoptée - traitement répété à l'imidocarbe associé à un contrôle agressif des tiques et des mesures de biosécurité - a efficacement éliminé l'infection du cheptel et est en faveur de ce protocole comme alternative aux autres stratégies de lutte telles que l'abattage ou les tentatives d'élimination à grande échelle des tiques vectrices.

La plupart des problèmes associés à la gestion de cette introduction de babésiose en Nouvelle-Calédonie ont été des difficultés d'application sur le terrain des mesures préconisées : mise en défaut des protocoles de quarantaine requis du fait d'erreurs et oublis, difficultés de maintien des clôtures adéquates, de regroupement des troupeaux dans leur totalité et enfin de suppression d'un réservoir d'infection dans un troupeau de bovins sauvages.

Cependant, cette campagne a également montré de nombreux éléments positifs en réponse à une introduction d'une infection exotique. Parmi eux : la capacité des services vétérinaires et du laboratoire à reconnaître et à répondre à une incursion, la collaboration technique avec d'autres pays et organismes, la communication et le soutien des filières touchées, le soutien politique et financier, et un solide bagage scientifique en appui à la politique de contrôle de l'infection.

L'ensemble des travaux menés au cours de cette campagne d'éradication a fait l'objet de plusieurs publications rédigées en collaboration entre les équipes néo-calédoniennes et australiennes:

- Barré N., Happold J., Delathière J-M., Desoutter D., Salery M., De Vos A., Marchal C., Perrot R., Grailles M., Mortelecque A. (2011), A campaign to eradicate bovine babesiosis from New Caledonia, *Ticks and Tick-borne Diseases*, Volume 2, Issue 1, March 2011, 55-61
- Grailles M., Mortelecque A., Pronost S., Gruel E., Marchal C., Rantoen D., Desoutter D., Waldron S., Happold J., De Vos A. (2011) Serological and molecular surveillance of cattle during a campaign to eradicate bovine babesiosis from New-Caledonia, à paraître.
- Barré N., Graille M., Happold J., Mortelecque A., Desoutter D., De Vos A., Delathière J-M., Marchal C. (2011), Epidemiology of an outbreak of babesiosis (*Babesia bovis*) in a herd of feral cattle in New-Caledonia, à paraître.
- Hüe T., Marchal C. (2011) Epizootie de babésiose bovine en Nouvelle-Calédonie: une stratégie d'éradication innovante. Bulletin Epidémiologique Santé Animale – Alimentation, numéro spécial DOM-TOM, sous presse.

BIBLIOGRAPHIE

Ouvrages et publications

1. Adams L.G., Corrier D.E., Williams J.D. (1980) A study of the toxicity of imidocarb dipropionate in cattle. *Res Vet Sci* **28**, 172-177.
2. Anon (1984) *Ticks and tick-borne disease control. A practical Field Manual Vol 1*. Tick Control, FAO, Rome.
3. Anon (2008) *Bovine babesiosis*, Chapter 2.4.2, Manual of standards for diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, Office International des Epizooties, Paris.
4. Barre N., Bianchi M., Chardonnet L. (2001) Role of Rusa deer *Cervus timorensis rusa* in the cycle of the cattle tick *Boophilus microplus* in New Caledonia. *Experimental and Applied Acarology* **25**, 79-96.
5. Barré N., Delathière J-M. (2010) *Stratégies de lutte contre la tique du bétail en Nouvelle-Calédonie, synthèse des connaissances*, Etudes et synthèses, IAC Editions, 95p.
6. Barré N., Uilenberg G. (2010) Spread of parasites transported with their hosts: case study of two species of cattle tick. *Rev Sci Tech. Apr.* **29**(1), 149-60, 135-47.
7. Barre N., Happold J., Delathiere J.-M., *et al.* (2010) A campaign to eradicate bovine babesiosis from New Caledonia. *Ticks and Tick-borne Diseases* Volume **2**, Issue 1, March 2011, 55-61.
8. Bennett J.A. (2004) *Pests and Disease in the Pacific War: Crossing the Line*, In: Tucker, R.P.E.R. (Ed.) *Natural Enemy, Natural Ally: Toward an Environmental History of Warfare*. Oregon State University Press, Corvallis, 217-251.
9. Beugnet F., Chardonnet L. (1995) Tick resistance to pyrethroids in New-Caledonia. *Vet Parasitol* **56**, 325-338.
10. Bianchi M.W., Barré N. (2003) Factors affecting the detachment rhythm of engorged *Boophilus microplus* female ticks (Acari: *Ixodidae*) from Charolais steers in New Caledonia. *Vet Parasitol* **112**, 325-336.
11. Blandino T., Alvarez M., Larramendi R., Gomez E., Alonso M. (1991) Elaboracion y evaluacion de un antígeno de *Babesia bovis* para la prueba de aglutination en latex. *Rev. Salud Animal*, **13**, 177-179.
12. Bock R.E., De Vos A.J., Lew A., Kingston T.G., Fraser IR.(1995) Studies on failure of T strain live *Babesia bovis* vaccine, *Aust Vet J.* Aug. **72**(8), 296-300.

13. Bock R.E., De Vos A.J., Kingston T.G., McLellan D.J. (1997) Effect of breed of cattle on innate resistance to infection with *Babesia bovis*, *B. bigemina* and *Anaplasma marginale*. *Aust Vet J.* May. **75**(5), 337-40.
14. Bock R.E., Lew A.E., Minchin C.M., Jeston P.J., Jorgensen W.K. (2000) Application of PCR assays to determine the genotype of *Babesia bovis* parasites isolated from cattle with clinical babesiosis soon after vaccination against tick fever. *Aust Vet J* **78**, 179-181.
15. Bock R.E., Jackson L.A., de Vos A.J., Jorgensen W.K. (2004) Babesiosis of cattle. *Parasitology* **129**, S247-S269.
16. Bock R.E., Jackson L.A., de Vos A.J., Jorgensen W.K. (2008) *Babesiosis of cattle*, In: Bowman, A.S., Nuttall, P.A. (Eds.) *Ticks: Biology, Disease and Control*. Cambridge University Press, Cambridge, 281-307.
17. Boonchit S., Xuan X., Yokoyama N., Goff W.L., Waghela S.D., Wagner G., Igarashi I. (2004) Improved enzyme-linked immunosorbent assay using C-terminal truncated recombinant antigens of *Babesia bovis* rhoptry-associated protein-1 for detection of specific antibodies. *J. Clin. Microbiol.*, **42**, 1601-1604.
18. Bourdeau P. (1993) Les tiques d'importance vétérinaire et médicale. *Le point vétérinaire*, **25** (151), 13-33.
19. Brown W.C. (2001) Molecular approaches to elucidating innate and acquired immune responses to *Babesia bovis*, a protozoan parasite that causes persistent infection. *Vet Parasitol.* Nov 22. **101**(3-4), 233-48.
20. Buling A., Criado-Fornelio A., Asenzo G., Benitez D., Barba-Carretero J.C., Florin-Christensen M. (2007) A quantitative PCR assay for the detection and quantification of *Babesia bovis* and *B. bigemina*. *Vet. Parasitol.* **147**, 16-25.
21. BUSSIERAS J., CHERMETTE R. (1992) *Parasitologie Vétérinaire. Protozoologie*. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Parasitologie et Maladies Parasitaires, 186 p.
22. Calder J.A.M., Reddy G.R., Chieves L., Courtney C.H., Littell R., Livengood J.R., et al. (1996) Monitoring *Babesia bovis* infections in cattle by using PCR-based tests. *J. Clin. Microbiol.* **34**, 2748-2755.
23. Callow L.L., McGregor W. (1970) The effect of imidocarb against *Babesia argentina* and *Babesia bigemina* infections of cattle. *Aust Vet J* **46**, 195-200.
24. Callow L.L., McGregor W., Parker R.J., Dalgliesh R.J. (1974) The immunity of cattle to *Babesia argentina* after drug sterilisation of infections of varying duration. *Aust Vet J* **50**, 6-11.
25. Callow L.L. (1984). Piroplasms. In: *Animal Health in Australia, Protozoal and Rickettsial Diseases*, vol. **5**. Animal Health in Australia, Canberra, Australian Bureau of Animal Health, AGPS, 121-160.

26. Chartier C., Itard J., Morel P-C., Troney P-M (2000) *Précis de parasitologie vétérinaire tropicale*, Paris :TEC & DOC / EMINTER.
27. Chauvet S. (2004) *Etude dynamique des populations de tiques dans des élevages bovins en Corrèze*, Thèse de doctorat vétérinaire, Nantes.
28. Chevillon C., Koffi B.B., De Garine-Wichatitsky M., Barré N., De Meeus T. (2007) In : Eds. Philippe Clergeau, Philippe Vernon, Jacques Haury, *Rencontres francophones sur les invasions biologiques et traits d'histoire de vie*. **2**, 2007-11-14/2007-11-16, Rennes, France, INRA, p20.
29. Coetzee J.F., Apley M.D., Kocan K.M. (2006) Comparison of the efficacy of enrofloxacin, imidocarb, and oxytetracycline for clearance of persistent *Anaplasma marginale* infections in cattle. *Veterinary Therapeutics* **7**, 347-360.
30. Coldham N.G., Moore A.S., Dave M., Graham P.J., Sivapathasundaram S., Lake B.G., *et al.* (1995) Imidocarb residues in edible bovine tissues and in-vitro assessment of imidocarb metabolism and cytotoxicity. *Drug Metab Dispos* **23**, 501-505.
31. Criado-Fornelio A., Martinez-Marcos A., Buling-Saraña A., Barba-Carretero JC. (2003) Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in southern Europe. Part II. Phylogenetic analysis and evolutionary history. *Vet Parasitol.* Jun **11**, 114(3), 173-94.
32. DAF (1992) *Rapport de synthèse sur la babésiose bovine en Nouvelle-Calédonie*. Direction de l'Agriculture et de la Forêt, Service Vétérinaire et de la Protection des végétaux. Rapport Août 1992, 28 p.
33. Dalgliesh R.J. (1993) *Babesiosis*. In: Immunology and molecular biology of parasite infections, Warren S.K., Ed. Blackwell, Oxford, UK, 352-383.
34. DAVAR (2010) *L'agriculture calédonienne de 2002 à 2010*, Gouvernement de Nouvelle-Calédonie, 97p.
35. De Castro J.J., Newson R.M. (1993) Host resistance in cattle tick control. *Parasitol Today*. Jan. **9**(1), 13-7.
36. De Echaide S.T., Echaide I.E., Gaido A.B., Mangold A.J., Lugaresi C.I., Vanzini V.R., *et al.* (1995) Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay kit to detect *Babesia bovis* antibodies in cattle. *Prev. Vet. Med.* **24**, 277-283.
37. De la Vega R., Moreno A., Diaz G. (1984) Sampling method for the cattle tick (*Boophilus microplus*) in dairy cows. *Revista Salud Anim.* **6**, 397-406.
38. De la Fuente J., Rodriguez M., Redondo M., *et al.* (1998) Field studies and cost-effectiveness analysis of vaccination with GavacTM against the cattle tick *Boophilus microplus*, *Vaccine*, Vol. **16**, 366-373.
39. De la Fuente J., Rodriguez M., Montero M. *et al.* (1999) Vaccination against ticks (*Boophilus spp.*): the experience with the Bm86-based vaccine GavacTM, Genetic Analysis: *Biomolecular Engineering*, **15** 143-148

40. De Vos A.J., Dalgliesh R.J., McGregor W. (1986) Effect of imidocarb dipropionate prophylaxis on the infectivity and immunogenicity of a *Babesia bovis* vaccine in cattle. *Aust Vet J* **63**, 174-178.
41. Dominguez M., Zabal O., Wilkowsky S *et al.* (2004) Use of a monoclonal antibody against *Babesia bovis* merozoite surface antigen-2c for the development of a competitive ELISA test. *Ann. NY Acad. Sci.*, **1026**, 165-170.
42. Ducornez S., Barre N., Miller R.J., de Garine-Wichatitsky M., 2005, Diagnosis of amitraz resistance in *Boophilus microplus* in New Caledonia with the modified Larval Packet Test. *Vet Parasitol* **130**, 285-292.
43. Euzeby J. (1984) *Les parasitoses humaines d'origine animale. Caractères épidémiologiques.* Paris : Flammarion médecine sciences : 324 p.
44. Euzeby J., Bourdoiseau G., Chauve C.M. (2005) *Dictionnaire de parasitologie médicale et vétérinaire*, Paris : Lavoisier: 492 p.
45. Euzeby J., (1988) *Protozoologie médicale comparée*, volume III : Apicomplexa, hémospodioses, fascicules 1 et 2, Collection Fondation Marcel Mérieux.
46. Fahrimal Y., Goff W.L., Jasmer D.P. (1992) Detection of *Babesia bovis* carrier cattle by using polymerase chain reaction amplification of parasite DNA. *J Clin Microbiol* **30**, 1374-1379.
47. Ferlat C. (2004) *Utilisation d'une formulation longue action d'ivermectine contre Boophilus microplus et les principaux strongles digestifs du bétail en Nouvelle-Calédonie.* Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,
48. Figueroa J.V., Chieves L.P., Johnson G.S., Buening G.M. (1992) Detection of *Babesia bigemina*-infected carriers by polymerase chain reaction amplification. *J. Clin. Microbiol.*, **30**, 2576-2582.
49. Fragoso H, Rad PH, Ortiz M, Rodríguez M, Redondo M, Herrera L, de la Fuente J. (1998) Protection against *Boophilus annulatus* infestations in cattle vaccinated with the *B. microplus* Bm86-containing vaccine Gavac. **Vaccine** Dec. **16**(20),1990-2.
50. Friedhoff K.T. (1988) *Transmission of Babesia.*, 23-52.
51. Frisch JE. (1999) Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. *Int J Parasitol.* Jan. **29**(1), 57-71.
52. Goff WL, Johnson WC, Tuo W, Valdez RA, Parish SM, Barrington GM, Davis W. (2002) Age-related innate immune response in calves to *Babesia bovis* involves IL-12 induction and IL-10 modulation. *Ann N Y Acad Sci.* Oct. **969**,164-8.
53. Goff W.L., Mcelwain T.F., Suarez C.E., Johnson W.C., Brown W.C., Norimine J., *et al.* (2003) Competitive enzyme-linked immunosorbent assay based on a rhoptry-associated protein 1 epitope specifically identifies *Babesia bovis*-infected cattle. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, **10**, 38-43.

54. Gonçalves Ruiz P.M., Lima J.D., Passos L.M.E. (1999) Serological profile of *Babesia bovis* in animals submitted to premonition. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, **8**, 45-48.
55. Goncalves, P.M., Passos, L.M.F., Ribeiro, M.F.B. (1999) Detection of IgM antibodies against *Babesia bovis* in cattle. *Vet Parasitol* **82**, 11-17.
56. Guerrero F., Bendele K.G., Davey R.B., George J.E. (2007) Detection of *Babesia bigemina* infection in strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* collected from outbreaks in South Texas. *Vet Parasitol* **145**,156-163.
57. Halos L., Jamal T., Vial L., Maillard R., Suau A., Le Menach A., *et al.* (2004) Determination of an efficient and reliable method for DNA extraction from ticks. *Vet. Res.* **35**, 709-713.
58. Howell J.M., Ueti M.W., Palmer G.H., Scoles G.A., Knowles D.P. (2006) Transovarial Transmission Efficiency of *Babesia bovis* Tick Stages Acquired by *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* during Acute Infection, *J Clin. Microbiol*, Feb., 426-431.
59. Inokuma H, Kerlin RL, Kemp DH, Willadsen P. (1993) Effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on the bovine immune system. *Vet Parasitol.* 1993 Mar. **47**(12), 107-18.
60. Jonsson NN, Bock RE, Jorgensen WK. (2008) Productivity and health effects of anaplasmosis and babesiosis on *Bos indicus* cattle and their crosses, and the effects of differing intensity of tick control in Australia. *Vet Parasitol.* Aug **1**,155(1-2), 1-9.
61. Kim C., Iseki H., Herbas M.S. *et al.* (2007) Development of TaqMan-based real-time PCR assays for diagnostic detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **77**, 837-841.
62. Koffi B.B., Risterucci A.M., Joulia D., Durand, *et al.* (2006) Characterization of polymorphic microsatellite loci within a young *Boophilus microplus* metapopulation. *Molecular Ecology Notes* **6**, 502-504.
63. Kung'u MW, Goodger BV. (1990) A slide enzyme-linked immunosorbent assay (SELISA) for the diagnosis of *Babesia bovis* infections and for the screening of *Babesia*-specific monoclonal antibodies. *Int J Parasitol.* May. **20**(3), 341-5.
64. Levine N.D., Corliss J.O., Cox F.E.G., *et al.* (1980) A newly revised classification of the protozoa. *J. Protozool.* **27**, 37-58.
65. Macleod J., Colbo M.H., Madbouly M.H., Mwanaumo B. (1977) Ecological studies of ixodid ticks (*Acari: Ixodidae*) in Zambia. III. Seasonal activity and attachment sites on cattle, with notes on other hosts. *Bull. Entomol. Res.* **67**, 161-173.
66. Madruga C.R., Kessler R.H., Schenk M.A.M., Honer M.R., Miquita M. (1995) Analise de testes de congulinacao rapida para deteccao de anticorpos contra *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, **47**, 649-657.

67. Mangold A.J., Vanzini V.R., Echaide I.E., *et al.* (1996) Viability after thawing and dilution of simultaneously cryopreserved vaccinal *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* strains cultured in vitro. *Vet. Parasitol.*, **61**, 345-348.
68. Maslin J., Beugnet F., Davoust B. and Klotz F. (2004) *Babésioses*, EMC - Maladies Infectieuses, Volume **1**, Issue 4, November, 281-292.
69. Miller R.J., Davey R.B., George J.E. (2002) Modification of the food and agriculture organization larval packet test to measure amitraz-susceptibility against *Ixodidae*. *J Med Entomol* **39**, 645-651.
70. Molloy J.B., Bowles P.M., Bock R.E., *et al.* (1998) Evaluation of an ELISA for detection of antibodies to *Babesia bovis* in cattle in Australia and Zimbabwe. *Preventive Veterinary Medicine* **33**, 59-67.
71. Montenegro-James S., Guillen T. & Toro M. (1992) Dot-ELISA para diagnostico serologico de la anaplasmosis y babesiosis bovina. *Rev. Cientifica [FCV de Luz.]*, **2**, 23.
72. Morel P.C. (2000) *Maladies à tiques du bétail en Afrique.*, In: Chartier C., Itard J., Morel P.C., Troncy P.M. (Ed.) Précis de parasitologie vétérinaire tropical. Editions TEC & DOC and Editions Médicales Internationales, Londres, Paris, New York.
73. Norman D, Levine (1973) *Protozoan Parasites of domestic animals and of man*. Second edition: 406 p.
74. Jonsson N.N., Bock R.E., Jorgensen W.K. (2008) Productivity and health effects of anaplasmosis and babesiosis on *Bos indicus* cattle and their crosses, and the effects of differing intensity of tick control in Australia. *Veterinary Parasitology* **155**,1-9
75. Oliveira-Sequeira T.C.G., Oliveira M.C.S., Araujo Jr J.P., Amarante A.F.T. (2005) PCR-based detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in their natural host *Boophilus microplus* and cattle. *Int. J. Parasitol.* **35**, 105-111.
76. Perez C. (2007) *Les tiques. Identification, biologie, importance médicale et vétérinaire*, Paris : Lavoisier : 2007 : 314 p.
77. Pipano E. (1997). Vaccines against hemoparasitic diseases in Israel with special reference to quality assurance. *Trop. Anim. Health Prod.*, **29** (Suppl.), S86-S90.
78. Rageau J., Vervent G. (1959) The ticks (*Acarina: Ixodoidea*) of the French islands of the Pacific. *Bull Soc Pathol Exot* **52**, 819-835.
79. Riek R.F. (1966) The life cycle of *Babesia argentina* (Lignières, 1903) (*Sporozoa: piroplasmidea*) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Aust. J. Agric. Res.* **17**, 247-54.
80. Rodriguez R.I., Trees A.J. (1996) In vitro responsiveness of *Babesia boris* to imidocarb dipropionate and the selection of a drug-adapted line, *Vet. Parasitol.* **62**, 35 - 41.

81. Salem G.H., Liu X.-J., Johnsrude J.D., Dame J.B. & Roman Reddy G. (1999) Development and evaluation of an extra chromosomal DNA-based PCR test for diagnosing bovine babesiosis. *Mol. Cell. Probes*, **13**, 107-113.
82. Schwint O.N., Ueti M.W., Palmer G.H., *et al.* (2009) Imidocarb Dipropionate clears persistent *Babesia caballi* infection with elimination of transmission potential. *Antimicrob Agents Chemother* **53**, 4327-4332.
83. Thammasirirak S., Siriteptawee J., Sattayasai N., Indrakamhang P., Araki T. (2003) Detection of *Babesia bovis* in cattle by PCR-ELISA. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, **34**, 751-757.
84. Timms P., Stewart N.P., De Vos A.J. (1990) Study of virulence and vector transmission of *Babesia bovis* by use of cloned parasite lines. *Infection and Immunity* **58**, 2171-2176.
85. Toma B., Dufour B., Sanaa M., Bénet JJ., Ellis P., Moutou F., Louza A. (1996) *Epidémiologie appliquée à la lutte collective contre les maladies animales transmissibles majeures*, AEEMA, 551p.
86. Uilenberg G. (1992) *Veterinary significance of ticks and tick-borne diseases*, In: Fivaz B., P., T., Horak, I. (Ed.) *Tick vector biology: medical and veterinary aspects*. Springer Verlag, Berlin, pp. 23-33.
87. Uilenberg G. (2006) *Babesia*—A historical overview. *Vet. Parasitol.* **138** 3–10.
88. Utech K.B.W., Sutherst R.W., Dallwitz M.J. (1983) A model of the survival of larvae of the cattle tick, *Boophilus microplus*, on pasture. *Aust J Agric Res* **34**, 63-72.
89. Waltisbuhl D.J., Goodger B.V, Wright I.G., Commins M.A., Mahoney D.F. (1987) An enzyme linked immunosorbent assay to diagnose *Babesia bovis* infection in cattle. *Parasitol. Res.*, **73**, 126-131.
90. WHO (1998) WHO Food Additive Series 41. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. Imidocarb, 1-21.
91. Wikel S.K. (1999) Tick modulation of host immunity: an important factor in pathogen transmission. *Int J Parasitol.* Jun. **29** (6), 851-9.
92. Willadsen P. (1997) Vaccines, genetics and chemicals in tick control: the Australian experience, *Trop Anim Health Prod.* Nov. **29**, 91-94
93. Zimmerman R.H., Garris G.I. (1985) Sampling efficiency of 3 dragging techniques for the collection of nonparasitic *Boophilus microplus* (*Acari, Ixodidae*) larvae in Puerto-Rico. *J Econ Entomol* **78**, 627-631.

Ressources Internet

94. Anon. (2008a) Australian Parliament-House of Representatives Hansard 11 March 2008 pp1328-1329. In:

http://parlinfo.aph.gov.au/parlInfo/genpdf/chamber/hansardr/2008-03-11/0061/hansard_frag.pdf.

95. Anon (2008b) ICTTD Newsletter on Ticks and Tick-borne Diseases of Livestock in the Tropics No. 36, June 2008, pp15-16, New Caledonia, again! In: http://www.icttd.nl/fileadmin/user_upload/Newsletters/ICTTD_Newsletter_36.pdf
96. APVMA (2009) The MRL Standard - Maximum residue limits in food and animal feedstuff Table 1: Maximum residue limits of agricultural and veterinary chemicals and associated substances in food commodities.
In: http://www.apvma.gov.au/residues/downloads/table01_october09.pdf.
97. Bock, R.E., de Vos, A.J., Molloy, J.B. (2006) Tick-borne diseases of cattle, In: Faragher, J.T. (Ed.) Australian New Zealand Standard Diagnostic Procedures. Subcommittee on Animal Health Laboratory Standards, <http://www.scahls.org.au/>.
98. EMEA (2003) The Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for Veterinary Medicinal Products - Imidocarb - Summary Report No. 3. In: <http://www.emea.europa.eu/pdfs/vet/mrls/088103en.pdf>.
99. FAO (2003) FAO Food and Nutrition Paper 41/15: Residues of Some Veterinary Drugs in Animals and Foods. In: <ftp://ftp.fao.org/esn/jecfa/jecfa60.pdf>.
100. OIE (2008) Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.04.02_BOVINE_BABESIOSIS.pdf.
101. ProMED-Mail (2008) PRO/AH> Tick fever, bovine - New Caledonia ex Australia. Archive Number 20080313.1006. 13 March 2008, http://www.promedmail.org/pls/apex/f?p=2400:1202:2098723732701267::NO::F2400P1202_CHECK_DISPLAY,F2400_P1202_PUB_MAIL_ID:X,71811.

Sites Internet

102. Association des maires de Nouvelle-Calédonie, www.amnc.asso.nc (05.01.2011)
103. DAVAR, Direction des Affaires Vétérinaires, Alimentaires et Rurales, www.davar.gouv.nc (05.01.2011)
104. FAO-STAT, Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, <http://faostat.fao.org/> (15.05.2011)
105. Gouvernement de Nouvelle-Calédonie, www.gouv.nc (13.01.2011)
106. ISEE, Institut de la Statistique et des Etudes Economiques de Nouvelle-Calédonie, www.isee.nc (05.01.2011)
107. JURIDOC, Documentation Juridique de la Nouvelle-Calédonie, www.juridoc.nc (11.12.2010)
108. Maison de la Nouvelle-Calédonie, www.maisonnouvellecaledonieparis.nc (06.01.2011)

109. Ministère de l'Outre-Mer, www.outre-mer.gouv.fr (06.01.2011)
110. Province Sud, www.province-sud.nc (13.01.2011)
111. Tick Research Laboratory, Texas, <http://ticsys.tamu.edu/> (12.03.2011)
112. UCS, UPRA Calédonie Sélection, www.ucs.nc (05.03.2011)
113. Wikipédia, www.wikipedia.org/wiki/Nouvelle-Calédonie