

Notes sur les babésioses et l'anaplasmose des bovins à Madagascar

VI. Prémunition artificielle

par G. UILENBERG (*)

RESUME

L'auteur a étudié la prémunition artificielle contre la piroplasmose vraie, la babésiellose et l'anaplasmose des bovins à Madagascar. Il décrit les indications pour la prémunition, l'obtention de souches pures, la conservation des souches, la récolte du sang prémunisant, les méthodes et l'efficacité des prémunitions.

INDICATIONS POUR LA PREMUNITION ARTIFICIELLE

Comme exposé précédemment (UILENBERG, sous presse), les veaux exposés aux tiques vectrices de *Babesia bigemina*, *B. argentina* et *Anaplasma marginale* ne contractent que rarement une maladie clinique et la prémunition acquise est entretenue par les tiques, ce qui explique la rareté de ces maladies sur les bovins exposés régulièrement à la tique *Boophilus microplus*. Par contre, les animaux régulièrement détiqués de façon assez efficace, ne sont pour la plupart pas porteurs (RAYNAUD, 1962, UILENBERG, 1965). De ce fait des pertes par les babésioses et l'anaplasmose sont inévitables parmi les animaux cédés sans précautions par de tels élevages à l'extérieur, où le détiquage est moins efficace ou absent. Par ailleurs, les animaux importés d'autres pays contracteront également les maladies, s'ils ne sont pas prémunis.

Les pertes après cession par les Centres de Recherches Zootechniques et d'autres élevages pratiquant un détiquage efficace sont pour la

plupart imputables aux maladies transmises par les tiques (babésioses, anaplasmose et cowdriose (*Cowdria ruminantium*), et à la streptothricose cutanée (*Dermatophilus congolensis*), maladie tenue en échec dans les Centres par l'application régulière de bains ou douches à base d'arsenic et d'acide crésylique. Ces pertes sont très élevées, bien qu'aucun chiffre précis ne puisse être donné. Citons par exemple des données du Centre de Kianjasoa, rapportées par DUMAS (1963) : De 107 taurillons métis limousin-zébu cédés par le Centre en 1947, il ne restait aucune trace en 1949; lorsque le manque d'ixodicide (à base d'arsenic et d'acide crésylique) pendant la guerre empêchait l'utilisation du bain détiqueur, la streptothricose et les maladies transmises par les tiques ont tué plus de la moitié de l'effectif entre 1943 et 1944.

Il n'est pas possible de savoir quelle proportion de la mortalité après cession revient à chaque infection séparément, les animaux cédés n'étant pas suffisamment encadrés de soins vétérinaires et les prélèvements reçus pour diagnostic ne représentent qu'une proportion très faible des bovins morts ou malades. D'après nos observations sur le terrain et les prélèvements reçus au laboratoire, il semble que la

(*) I.E.M.V.T., 10, rue P. Curie, 94 Maisons-Alfort.

cowdriose, la babésiellose et la streptothricose sont plus importantes que l'anaplasmose et la piroplasmose vraie. Pourtant même la piroplasmose vraie doit causer des pertes non négligeables aux animaux cédés et importés, comme en témoignent les observations suivantes :

Sur 63 animaux âgés de 2 à 5 ans dans des Centres de Recherches Zootechniques, 12 ont présenté une réaction grave après prémunition avec des souches de *B. bigemina* maintenues au laboratoire; un traitement fut nécessaire pour ces 12 sujets, dont un est mort malgré cela. Sur 7 bovins adultes importés, inoculés avec *B. bigemina*, la parasitémie s'est élevée si rapidement sur 4 d'entre eux qu'un traitement a dû être fait tout de suite; les 3 autres ont également été traités, mais ils auraient peut-être guéri spontanément, la parasitémie ne montant pas rapidement.

La piroplasmose vraie, affection pourtant une des moins importantes de celles qui nous concernent ici, causerait donc déjà à elle seule des pertes importantes parmi les animaux cédés ou importés sans prémunition préalable et lâchés dans un milieu insuffisamment pourvu de surveillance vétérinaire. Rappelons que DALY et HALL (1955) constatent une réaction sévère, nécessitant un traitement, sur environ 30 p. 100 de 1.500 animaux importés, prémunis artificiellement avec *B. bigemina*.

Quels sont les moyens d'empêcher les pertes après cession ou importation? Il semble en exister trois :

a) Traiter les animaux dès qu'ils deviennent malades après cession ou importation. Cette méthode n'est en général pas utilisable à Madagascar par insuffisance d'encadrement vétérinaire, particulièrement dans le cas d'animaux cédés, et le traitement peut être trop tard lorsque des symptômes cliniques de maladie apparaissent, surtout en ce qui concerne la babésiellose et l'anaplasmose.

b) Prémunition naturelle, en autorisant une population limitée de la tique *B. microplus* dans les Centres. Nous avons vu (UILENBERG, sous presse) que cette méthode donne d'excellents résultats en ce qui concerne les babésioses et l'anaplasmose, mais que la cowdriose et la streptothricose deviennent alors des problèmes dans les régions favorables à ces maladies, problèmes d'ailleurs non toujours insurmontables. C'est certainement la meilleure

méthode sur les Hauts Plateaux où la cowdriose et la streptothricose sont peu importantes. Elle est par contre inapplicable aux animaux importés.

c) Prémunition artificielle. Il est évidemment superflu de prémunir les animaux nés et élevés dans un milieu infesté par *B. microplus*; les babésioses et l'anaplasmose n'ont guère d'importance pour de tels bovins, qu'ils soient de race autochtone ou importée. La prémunition artificielle ne semble indiquée que pour les bovins importés et ceux destinés à quitter les Centres et élevages protégés, pendant les quelques mois précédant leur cession. Tant qu'il est pratiqué un détiqage efficace, il ne semble pas nécessaire de prémunir les bovins destinés à rester dans les Centres, tout au moins avec les *Babesiae* (*); il paraît plus économique de traiter les quelques cas de babésioses qui se produisent, que de prémunir tous les animaux chaque année (l'état de prémunition étant souvent perdu en moins d'un an (voir plus loin), la prémunition annuelle serait nécessaire au minimum).

BÜCK (1941) a été le premier à prémunir des bovins à Madagascar; la prémunition artificielle n'a ensuite été reprise qu'en 1960, quand RAYNAUD (non publié) a importé *Anaplasma centrale*.

ISOLEMENT DE SOUCHES

Les souches prémunisantes doivent être non contaminées par d'autres parasites sanguins pathogènes et par *Cowdria ruminantium*. Plusieurs autres parasites sanguins à Madagascar sont peu ou pas pathogènes, et il n'est pas indispensable que les souches en soient indemnes; il s'agit des parasites suivants : *Theileria mutans*, *Haematoxenus veliferus*, *Haemobartonella bovis*, *Eperythrozoon tejanodes*, *E. tuomii*, *E. wenyonii*, *Trypanosoma theileri* et *Borrelia theileri*. Les *Eperythrozoon* spp. peuvent bien provoquer de la fièvre et de l'anémie, mais non une maladie mortelle; ils peuvent compliquer la surveillance de la réaction thermique après prémunition, mais il est pratiquement impossible d'être certain que le donneur

(*) Une exception peut être faite pour la prémunition contre *A. centrale*, parasite facile à conserver et à manipuler (voir plus loin) et qui n'est inoculé qu'une fois pendant la vie de l'animal.

est indemne de ces parasites et qu'il le reste. On peut essayer de les éliminer dans le sang prémunisant en traitant le donneur le jour précédant la prise du sang avec un produit actif (néoarsphénamine par exemple).

Isolement d'une souche pure de *B. bigemina*

Il a été possible de trouver quelques veaux ne présentant que *B. bigemina* (et parfois des parasites non pathogènes) après splénectomie. Dans 5 cas nous avons essayé de prouver que la souche était effectivement non contaminée de *B. argentina* (souvent non révélée par splénectomie) et de *C. ruminantium*, par inoculation de leur sang à des veaux nés et élevés au laboratoire à l'abri de tiques et dont le sang n'avait présenté aucun parasite pathogène après splénectomie. Dans 3 cas uniquement, *B. bigemina* a été transmise aux veaux neufs et ces souches ont été considérées comme pures. Le sang d'un autre veau a également transmis *B. argentina*, tandis que celui d'un cinquième a transmis *C. ruminantium*.

Le nombre limité de veaux indemnes disponibles ne nous a pas permis d'employer la méthode de CALLOW et HOYTE (1961), qui séparent *B. bigemina* de *B. argentina* par passages rapides.

La cowdriose est facile à éliminer (mais si le veau neuf inoculé n'en meurt pas, difficile à détecter); il suffit d'attendre un mois ou plus avant de contrôler l'animal infecté à nouveau, le sang ayant alors normalement perdu son infectiosité.

Le cas échéant, il est également possible de libérer une souche de *B. bigemina* d'*A. marginale*, soit par passages rapides (par exemple ROSENBUSCH et GONZALEZ, 1925. SERGENT et al., 1924), soit en éliminant les anaplasmes par un traitement prolongé aux tétracyclines (SPLITTER et MILLER, 1953. et d'autres auteurs plus tard), soit en empêchant la transmission des anaplasmes aux animaux neufs par des tétracyclines (Brock et al., 1957, et d'autres auteurs plus tard). Nous avons réussi à éliminer *A. centrale* par des tétracyclines sur deux porteurs de *B. bigemina* et d'*A. centrale* (UILENBERG, 1970). Par ailleurs une tentative d'empêcher la transmission d'*A. marginale* par une dose unique d'oxytétracycline a été un échec :

Un veau splénectomisé, porteur chronique d'*A. marginale*, a reçu 8 mg d'oxytétracycline par kg, par voie intramusculaire; 24 h plus tard 5 ml de son sang sont inoculés à un veau splénectomisé indemne, qui est traité en même temps avec 14 mg d'oxytétracycline par kg (voie intramusculaire); ce dernier animal contracte néanmoins l'anaplasmose.

En conclusion : Seule *B. argentina* constitue un problème lorsqu'on veut isoler une souche pure de *B. bigemina* et on ne dispose que d'un nombre limité d'animaux d'expérience.

Isolement d'une souche pure de *B. argentina*

Parfois on peut détecter par hasard un porteur qui ne se révèle pas contaminé de *B. bigemina* et d'anaplasmes après splénectomie. Le cas échéant il est possible de libérer l'animal des anaplasmes comme indiqué ci-dessus (par des tétracyclines). *B. bigemina* peut facilement être éliminée par un traitement stérilisant l'animal de cette infection, sans influencer *B. argentina*, par des doses élevées de Berenil ou d'Amicarbalide (UILENBERG, 1970). Nous avons employé cette méthode sur deux bovins splénectomisés, porteurs chroniques des deux *Babesiae* : 5 mg de Berenil par kg ont éliminé *B. bigemina*, ce qui a été prouvé par l'examen régulier du sang pendant les 3 années suivantes, par la biopsie négative du cortex cérébral et du fait que leur sang, éprouvé à plusieurs reprises, n'a pas transmis *B. bigemina*, tandis que les inoculations ont révélé qu'ils étaient restés porteurs de *B. argentina*.

En conclusion : L'obtention d'une souche pure de *B. argentina* n'est pas un problème.

Isolement d'une souche pure d'*A. marginale*

Ici encore on peut détecter par splénectomie, par hasard, un veau porteur, non contaminé de *Babesiae*. (Il est nécessaire de le prouver en ce qui concerne *B. argentina* par inoculation de sang à un animal splénectomisé indemne).

L'élimination de *B. bigemina* peut facilement être obtenue par un traitement stérilisant comme indiqué ci-dessus.

Dans un cas nous avons également réussi à éliminer *B. argentina* par le Berenil : Un animal splénectomisé, porteur chronique de *B. bigemina*, *B. argentina* et *A. marginale*, a

reçu une dose de 10,6 mg de Berenil par kg. Le lendemain on injecte 1 ml de son sang à un bovin splénectomisé indemne, traité en même temps avec 10 mg de Berenil par kg. Seul *A. marginale* a été transmis. (A noter que le premier animal n'a pas été stérilisé de *B. argentina*, les parasites étant retrouvés dans les capillaires du cortex cérébral quand le sujet a été abattu en fin d'expérience, un mois et demi après le traitement).

Par ailleurs, la méthode indiquée par LIGNIERES (1919), SERGENT et al. (1945) et d'autres auteurs, consistant à inoculer du sang d'un bovin porteur d'*A. marginale* et de *Babesiae* et autres parasites à un mouton et plus tard le sang du mouton à un bovin indemne, permettant à ces auteurs d'obtenir une souche pure d'*A. marginale*, a échoué (2 essais) :

a) Deux moutons reçoivent chacun 100 ml (50 par voie intraveineuse, 50 par voie sous-cutanée) d'un bovin porteur de *B. bigemina*, *B. argentina*, *A. marginale* et *Th. mutans*; les anaplasmes sont nombreux dans ce sang. 2 mois plus tard 50 ml d'un mélange de sang des 2 moutons sont inoculés (25 ml par voie intraveineuse, 25 par voie sous-cutanée) à un bovin splénectomisé indemne de tout parasite. *Th. mutans* apparaît dans le sang de ce bovin 43 jours plus tard; ni les *Babesiae* ni *A. marginale* ne sont transmis.

b) Un mouton reçoit par voie intraveineuse 5 ml de sang d'un bovin non splénectomisé (qui ne présente aucun parasite sur frottis de sang). 8 jours plus tard, 10 ml de sang du mouton sont inoculés par voie intraveineuse à un bovin splénectomisé indemne de parasites sanguins; *B. bigemina* apparaît dans le sang du bovin et provoque une piroplasmose grave 7 jours après l'inoculation. Aucun autre parasite n'est transmis.

Ces échecs à Madagascar et les expériences réussies ailleurs sont peut-être explicables par les travaux de KREIER et RISTIC (1963) : Ils séparent l'espèce *A. marginale* en 3 espèces distinctes; une de ces espèces, *Paranaplasma caudata*, identique à *A. marginale* sur frottis colorés au Giemsa, ne passe pas par le mouton, à l'opposé de *P. discoïdes* et d'*A. marginale*. Il est donc possible que nous ayons à Madagascar affaire à *P. caudata* ou à un organisme similaire au lieu de l'*A. marginale* sensu KREIER et RISTIC. (Voir également

les différences immunologiques qui existeraient peut-être entre souches malgaches et souches américaines, UILENBERG, sous presse). Un terrain de recherches intéressantes s'ouvre ici.

Notons que de toute façon *B. bigemina* passe facilement par le mouton (CALLOW, 1965); cette méthode de purification d'*A. marginale* est donc, de toute façon, aléatoire.

En conclusion : il semble qu'il soit possible d'éliminer *B. argentina* en utilisant 2 bovins et un traitement au Bérénil. *B. bigemina* n'est pas un problème. La méthode de Lignières n'a pas pu être utilisée, des parasites devant être éliminés par passage sur moutons ayant été transmis.

En ce qui concerne *A. centrale*, la souche a été reçue à l'état pur. Le cas échéant, elle pourrait être isolée comme indiqué pour *A. marginale*.

CONSERVATION DES SOUCHES

Il est connu que les porteurs de *Babesiae* se débarrassent de l'infection après un temps plus ou moins long, en l'absence de réinfections (voir par exemple une revue de la question par RIEK, 1968); par contre on pense que les porteurs d'anaplasmes les conservent dans l'organisme le plus souvent pendant toute leur vie, bien qu'une autostérilisation soit parfois possible (Neitz in HENNING, 1956). Il est d'ailleurs pratiquement impossible d'être tout à fait certain de la disparition de l'infection à *Babesiae* (UILENBERG, sous presse).

Nos 3 porteurs actuels d'*A. centrale* le sont depuis des périodes allant jusqu'à 3 ans, 6 ans et même plus, et les parasites apparaissent encore souvent dans leur sang, en faible nombre, bien que les animaux n'aient jamais été re-inoculés par la suite.

Il n'y a donc pas de problème en ce qui concerne les anaplasmes. Par contre il ressort de la bibliographie et de nos propres observations (UILENBERG, 1964 et d'autres observations non publiées) que l'état de prémunition envers les *Babesiae* est souvent perdu en moins d'un an; en particulier *B. bigemina* s'est montrée difficile à conserver, et il est certainement inexact qu'un bovin infecté reste indéfiniment porteur comme le dit LEVINE (1961). Il faut donc régulièrement passer les souches de

B. bigemina et *B. argentina* à d'autres bovins indemnes, nés et élevés à l'abri de tiques, et splénectomisés pour contrôle, ou bien conserver les souches *in vitro* pour économiser les animaux.

La conservation *in vitro* est possible en congelant le sang infecté, tout en observant quelques précautions. Les publications à ce sujet sont quelque peu contradictoires; WADDELL (1963) par exemple réussit lorsqu'il congèle rapidement du sang contenant *B. bigemina*, additionné de glycérol, mais non en congelant lentement; par contre BARNETT (1964) réussit en congelant lentement. Nous avons pu réussir la conservation de *B. bigemina*, *B. argentina* et *A. centrale* avec du sang contenant du glycérol à 10 p. 100, parfois en congelant rapidement en coquille, parfois lentement par étapes à + 2°, — 5°, — 15°, — 20°, aboutissant à — 70° C le lendemain; le sang contenait soit du citrate de soude, soit de l'héparine comme anticoagulant. Les résultats n'ont toutefois pas été réguliers, d'autres essais ayant donné des échecs. Il est de toute façon en principe possible de conserver les souches congelées, bien que de nombreux détails restent à étudier de plus près. La neige carbonique ou l'azote liquide sont préférables au congélateur électrique, dans lequel nous avons perdu à deux reprises toutes les souches à la suite d'une panne de secteur ou du congélateur.

RECOLTE DU SANG PREMUNISANT

B. BIGEMINA

Puisque de faibles et même de hautes doses de sang de porteurs latents ne transmettent pas toujours l'infection (UILENBERG, sous presse), il est important que le parasite soit trouvé sur frottis du porteur le jour de la récolte du sang prémunisant. KEMRON et al. (1964) signalent par ailleurs que même quand le sang de porteurs latents transmet l'infection, la période d'incubation peut être très prolongée, rendant l'observation de la réaction difficile. Il faut donc attendre une rechute parasitaire; les rechutes deviennent de plus en plus rares et fugaces pendant le stade d'infection chronique. Si la commande de sang est importante, et qu'aucun porteur ne soit positif, l'inoculation d'un veau indemne avec une grande

quantité de sang des porteurs latents est à envisager dans l'espoir que l'infection réussisse; le sang est alors récolté sur ce veau au moment de sa crise parasitaire.

Le sang prémunisant, citraté, est expédié du laboratoire sous glace, avec recommandation de l'utiliser dans les 3 à 4 jours (dépendant du degré de parasitémie) et de le garder sous glace ou au réfrigérateur au-dessus de 0° C (la congélation pouvant détruire les parasites). La longévité des *Babesiae* dans le sang *in vitro* n'est pas connue avec précision, et varie avec la température et sans doute avec le degré de parasitémie. Voici à ce sujet quelques données dans la bibliographie :

SCHMIDT (1937) rapporte une survie de 10 jours, mais non de 12, dans le sang conservé sous glace; CURASSON (1943) cite quelques auteurs dont les résultats sont très variables; SERGENT et al. (1924) peuvent conserver le parasite à + 10° C pendant 16 jours; *B. bigemina* supporte 6 jours au réfrigérateur en Australie (Queensland, Annual Report 1960). A la température ambiante, SCHMIDT (1937) conserve le parasite pendant 4 jours, mais non pendant 7.

Les résultats de nos quelques expériences (avec du sang citraté à 0,5 p. 100) sont les suivants :

a) Sang conservé au réfrigérateur à environ + 2° C, contenant d'assez nombreux parasites : des doses de 5 ml, inoculées par voie sous-cutanée, transmettent l'infection après des durées de 2, 4 et 7 jours.

b) Sang conservé au réfrigérateur à environ + 5° C, contenant de très nombreux parasites : des doses de 1 ml, inoculées par voie sous-cutanée, ne transmettent pas l'infection après des durées de 10 et 12 jours.

En attendant des résultats plus précis, nous pensons un délai de 3 à 4 jours être suffisamment sûr.

La dose recommandée aux utilisateurs dépend de la richesse du sang en parasites, et varie de 1 à 10 ml, à inoculer par voie sous-cutanée ou intramusculaire (ce qui est souvent plus facile qu'en sous-cutanée dans un couloir, sur des animaux peu habitués à être manipulés, en pratiquant l'inoculation dans les muscles fessiers).

B. ARGENTINA

Pour les mêmes raisons que celles données pour *B. bigemina*, il est important que le parasite soit trouvé sur frottis de sang du donneur le jour de la récolte. Malheureusement l'examen de sang des porteurs chroniques est le plus souvent négatif, et si l'on veut être certain de la transmission il faut inoculer un veau neuf avec du sang des porteurs latents, et attendre l'accès parasitaire de l'animal inoculé.

Le sang est expédié comme celui contenant *B. bigemina*. La longévité *in vitro* n'est également pas connue avec précision. REES (1934) peut conserver *B. argentina in vitro* pendant 4 jours (*in* : CURASSON, 1943, sans précision de la température); SERGENT et al. (1945) peuvent parfois conserver la virulence du sang à 24° C pendant 3 à 4 jours, parfois pendant 10 jours.

Les résultats de nos quelques expériences avec du sang citraté à 0,5 p. 100 sont les suivants :

a) Sang conservé au réfrigérateur à + 1 à 2° C, d'un animal ayant une parasitémie relativement faible : Des doses de 5 ml, inoculées par voie sous-cutanée, transmettent l'infection après des durées de 4 et 7 jours.

b) Sang d'un autre donneur, contenant d'assez nombreux parasites, conservés au réfrigérateur à + 1 à 2° C : Des doses de 10 et 20 ml, inoculées par voie sous-cutanée, transmettent l'infection après des durées de 1 et 5 jours.

Il semble qu'un délai de 3 à 4 jours, comme pour *B. bigemina*, soit suffisamment sûr.

La dose recommandée aux utilisateurs varie de 5 à 10 ml; ce parasite étant toujours relativement rare dans le sang, il semble prudent de se maintenir à des doses assez fortes.

A. MARGINALE et A. CENTRALE

Il est rare que les porteurs chroniques splénectomisés d'anaplasmes n'en montrent pas sur frottis de sang. D'ailleurs, le sang des porteurs chroniques, même s'il est négatif à l'examen microscopique, a toujours transmis l'infection (à une exception près, le bovin B 73, voir UILENBERG, sous presse). Nous préférons néanmoins n'expédier que du sang positif sur frottis; avec un minimum de 3 porteurs

splénectomisés, on est assuré d'avoir au moins un animal positif chaque jour, et il n'a jamais été nécessaire d'inoculer un veau neuf.

Le sang est expédié sous glace, avec la recommandation de l'utiliser dans les 4 jours qui suivent (conservé comme indiqué pour *B. bigemina*).

La longévité *in vitro* est d'après SCHMIDT (1937) de 11 jours, mais non jusqu'à 12, sous glace; à la température ambiante, il peut conserver *A. marginale* jusqu'à 9 jours, mais non 10 jours. SERGENT et al. (1945) conservent ce parasite une fois pendant au moins 14 jours à 12° C, tandis que dans deux autres cas le sang avait perdu sa virulence après 12 jours; ils ont vu du sang défibriné, contenant *A. centrale*, conserver sa virulence pendant 21 jours, tandis que du sang citraté l'avait perdue après ce laps de temps.

Nous n'avons pas fait d'expérience.

METHODES DE PREMUNITION ARTIFICIELLE

B. BIGEMINA

Il n'a pas été possible de trouver une souche qui soit constamment peu virulente (comme la souche utilisée par BARNETT, 1965); l'atténuation décrite par SERGENT et al. (1945) n'a pas été réussie non plus. Aucune souche isolée ne s'est montrée particulièrement virulente non plus, et il nous a semblé que la réaction à l'inoculation dépend plutôt de l'individu inoculé que de la souche employée. Les jeunes veaux supportent le plus souvent l'inoculation sans maladie apparente, surtout si les mères sont prémunies. Par contre, il est indispensable de traiter un certain nombre d'adultes inoculés, s'il s'agit de la primo-infection.

L'observation clinique, sans prise de température, ne suffit pas. Les animaux réagissants conservent l'appétit au début, bien qu'ayant de la fièvre, et rien ne permet de les distinguer des animaux normaux; lorsque des symptômes cliniques se développent, le traitement peut être trop tardif. Un exemple :

30 génisses du Centre de Recherches Zootechniques de Kianjasoa, destinées à la cession, ont été inoculées avec du sang contenant *B. bigemina*; la recommandation de surveiller quotidiennement la température n'a pu être

suivie. 6 réactions violentes (hémoglobinurie etc.) ont été observées 8 et 9 jours après l'injection; 5 de ces animaux ont pu être sauvés par un traitement immédiat, le 6^e est mort malgré cela; des frottis de sang reçus au laboratoire des 5 malades révélaient de nombreuses *B. bigemina* sur chaque animal.

Une expérience a ensuite été entreprise au Centre de Recherches Zootechniques de Miadana, dans le but de connaître l'effet d'un traitement appliqué d'office 5 jours après l'inoculation (la réaction fébrile ne se déclenchait que rarement avant le 6^e jour au cours d'observations faites au laboratoire). Le sang citraté, reçu d'un animal porteur au laboratoire sous glace, contenait à l'examen microscopique de rares *B. bigemina*, et un bovin splénectomisé indemne, inoculé sur place avec 5 ml de sang par voie sous-cutanée présentait une parasitémie après 4 jours et a dû être traité le 6^e jour.

100 animaux du Centre, âgés de 2 à 5 ans, ont été inoculés avec 10 ml de ce sang (voie sous-cutanée, le même jour que l'animal splénectomisé), le lendemain de la récolte du sang au laboratoire. Les animaux ont été divisés en 4 groupes (pris au hasard): 33 bovins n'ont été traités que lorsqu'une réaction se manifestait par une température d'au moins 40° C (limite adoptée arbitrairement); les autres ont été traités le 5^e jour avec un piroplasmicide: 32 avec le Berenil, 1 mg/kg par voie intramusculaire, 19 avec le Pirodial, 2 mg/kg par voie sous-cutanée, parfois intramusculaire, et 16 avec la Lomidine, 2 mg/kg par voie intramusculaire. Ces faibles doses ne les stérilisent pas de l'infection, et suffisent à les guérir tout au moins si l'on intervient au début de la réaction (UILENBERG, 1970).

Les poids des animaux étaient exactement connus.

Résultats

25 des 33 témoins ont présenté *B. bigemina* dans leur sang au cours de la période de surveillance (du 5^e au 11^e jour après l'inoculation); 6 de ces 25 sujets ont eu une fièvre de 40° C ou plus et ont été traités avec succès (Lomidine à 3 mg/kg). 8 des 33 animaux n'ont réagi ni par parasitémie, ni par réaction thermique; ils étaient donc vraisemblablement déjà porteurs de *B. bigemina* (rappelons que 4 de 16 bovins comparables du même Centre ont

révélé le parasite après splénectomie, UILENBERG, 1965). Les autres sujets (19), bien qu'ayant présenté le parasite après l'inoculation, n'ont pas eu de l'hyperthermie ou celle-ci n'a pas atteint 40°, et l'accès a disparu sans traitement.

Soulignons que les animaux ayant une forte réaction thermique avaient encore un appétit normal et ne traînaient pas derrière le troupeau; l'observation clinique seule ne les aurait donc pas décelés avant que des symptômes dangereux ne se soient déclarés. La surveillance sans prise de température n'est pas suffisante.

En ce qui concerne les autres groupes: Aucun parasite n'a été trouvé dans le sang des 67 animaux traités le 5^e jour au Pirodial, au Berenil ou à la Lomidine, et aucune réaction thermique ne s'est déclarée.

Aucun des 100 animaux n'est mort à la suite de la prémunition.

Une étude statistique de la courbe de croissance pendant les 2 mois suivant la prémunition, portant sur des génisses de 22 à 26 mois, vivant dans un seul troupeau, n'a révélé aucune différence statistiquement significative entre des témoins non prémunis, des animaux prémunis et traités uniquement en cas d'hyperthermie de 40° ou plus, des animaux prémunis et traités d'office au Berenil et d'autres traités d'office à la Lomidine.

Il est donc possible de prémunir sans danger et sans surveillance de la réaction lorsque tous les sujets sont traités avec une dose convenable d'un piroplasmicide 5 jours après l'infection. Le délai de 5 jours avait été adopté plus ou moins arbitrairement, en nous basant sur des résultats obtenus au laboratoire. Il est souhaitable d'attendre le plus longtemps possible avant de traiter, pour laisser à l'organisme la possibilité d'organiser ses défenses avant que l'accès ne soit arrêté par le traitement, pour qu'il n'y ait pas de rechute importante; d'autre part, le traitement doit être assez précoce pour éviter des symptômes dangereux. Les résultats de l'expérience à Miadana ont montré que le 6^e jour peut être adopté sans grand danger (tout au moins en ce qui concerne la souche et la dose de parasites employées): La parasitémie sur le groupe des témoins atteignait son maximum sur la plupart des animaux entre le 7^e et le 9^e jour; un des 6 animaux ayant une fièvre de 40° ou plus a été dépisté le 5^e jour,

4 le 7^e et 1 le 8^e. Rappelons aussi que les 6 réactions violentes observées à Kianjasoa (plus haut) ne se sont révélées cliniquement qu'après 8 et 9 jours. Les résultats obtenus par KEMRON *et al.* (1963) indiquent également que la résistance à une deuxième infection est plus grande lorsque le traitement est fait le 5^e ou 6^e jour, que quand il est administré le 3^e ou 4^e jour après la primo-infection.

En adoptant le traitement systématique le 6^e jour, nous avons ensuite prémuni tous les bovins du Centre de Recherches de Zootechnie de Kianjasoa, au nombre de 960 environ, dans le cadre d'un changement du rythme de détiquage (voir UILENBERG, sous presse). Le sang utilisé contenait plus de 2 p. 100 d'érythrocytes infestés. Aucune surveillance n'a été exercée et tous les animaux ont été traités 6 jours après l'inoculation : plus de la moitié de l'effectif l'a été au Zothélon à 0,5 mg/kg, les autres au Pirodia à 3 mg/kg ou au Berenil à 1 mg/kg. Aucun des animaux ainsi prémunis n'a montré de réaction clinique et il n'y a pas eu de mortalité au Centre pendant les 4 semaines suivantes.

Environ 580 bovins destinés à la cession ou dans le cadre d'un changement du rythme de détiquage ont ensuite été prémunis et traités (la plupart au Pirodia à 3 mg/kg) dans des Centres, dans des circonstances pratiques, le laboratoire n'intervenant que pour l'expédition du sang prémunisant. Aucun symptôme de piropalmeose, ni mortalité, n'a été signalé à la suite de la prémunition.

Par ailleurs, il est également possible de prémunir sans danger, en ne traitant que les animaux présentant des réactions thermiques; la température doit dans ce cas être prise quotidiennement à partir du 5^e jour et au moins jusqu'au 11^e, l'incubation thermique pouvant être de durée variable. Le nombre d'animaux ne doit alors pas être trop élevé en climat chaud, pour pouvoir prendre les températures de bonne heure, avant que la température ambiante n'ait d'influence sur celle des animaux (un opérateur travaillant au couloir peut examiner une trentaine d'animaux à l'heure). La méthode utilisant le traitement d'office, sans surveillance de la température, est donc préférable lorsqu'il s'agit de grands nombres d'animaux.

B. ARGENTINA

La méthode employée pour *B. bigemina*, à savoir un traitement systématique un certain nombre de jours après l'infection, ne semble pas prometteuse à priori, aussi bien à cause de l'incubation très variable (au moins de 5 à 16 jours), qu'à cause du peu de sensibilité du parasite aux piropalmeocides. La surveillance de la réaction thermique est également difficile par ces deux facteurs.

Nous avons pu constater au cours d'expériences au laboratoire que *B. argentina* n'est pas un parasite très pathogène, même pour les animaux splénectomisés, lorsqu'il est injecté par la seringue (UILENBERG, 1969), à l'opposé de l'infection conférée par les tiques. Aussi nous avons essayé de vérifier si dans les circonstances pratiques la prémunition artificielle sans surveillance et sans traitement n'est pas possible.

Une expérience préliminaire a été faite au Centre de Recherches Zootechniques de Kianjasoa sur 40 adultes, 11 taureaux de race renitelo et 29 vaches métisses de brahman et de zébu local, tous nés au Centre et régulièrement passés au bain détiqueur; la prémunition naturelle à *B. argentina* n'était pas fréquente à Kianjasoa à l'époque où l'expérience fut exécutée (UILENBERG, 1965). Les animaux ont reçu par voie sous-cutanée 10 ml de sang citraté d'un porteur au laboratoire, ayant une parasitémie apparente au microscope. La température des animaux a été prise tous les matins, jusqu'à 19 jours après l'inoculation, et des frottis de sang ont été faits sur les sujets présentant une hyperthermie.

Seulement 7 des 40 bovins ont eu une légère hyperthermie (de 39° 1 à 39° 6) pendant 1 à 5 jours, de 12 à 18 jours après l'inoculation; 3 de ces sujets ont présenté des parasites sur frottis; par ailleurs, 3 autres sujets, parmi plusieurs examinés au hasard et n'ayant pas présenté de l'hyperthermie, ont également montré une parasitémie. Aucun traitement n'a été nécessaire.

Il semble donc que cette méthode ne présente pas de danger pour les zébus (le Renitelo, bien que métissé, est plus proche du zébu que du taurin).

Cette méthode a ensuite été appliquée à plus de 1000 bovins à Kianjasoa, dans le cadre du

changement du rythme de détiqage. Le donneur a été amené sur place et saigné au fur et à mesure des inoculations; il présentait une parasitémie importante. Aucune surveillance n'a été faite et aucun animal n'a été traité. Dans le mois suivant, un bovin du Centre est mort, de cause inconnue; la mortalité normale au Centre étant à cette époque d'environ 2 à 3 par mois en moyenne, il n'existe aucune preuve de la relation de cause à effet entre la prémunition et l'unique mortalité. La mortalité causée par la prémunition a donc été nulle ou au plus 1 p. 1000. Soulignons que la grande majorité des animaux du Centre ont une prédominance de sang zébu.

Environ 340 animaux d'un autre Centre ont ensuite été prémunis de la même façon, dans le cadre d'un changement du rythme de détiqage. Aucun cas de maladie ou mortalité n'a été causé par cette intervention. (Un seul animal est mort après 22 jours, mais l'examen du cortex cérébral a révélé la cowdriose.) Beaucoup de ces animaux étaient plus proches du taurin que du zébu.

La souche du laboratoire semble donc pouvoir être utilisée sans danger, tout au moins pour les zébus et les métis. Les taurins purs semblent bien plus sensibles, comme l'ont également constaté DALY et HALL (1955) lors de la prémunition artificielle de taurins et de zébus importés en Australie. 7 frisons adultes et 4 veaux, importés de France, ont été inoculés avec la même souche que celle utilisée à Kianjasoa; la température et la parasitémie ont été contrôlées quotidiennement. Ils ont tous contracté l'infection et un traitement a semblé nécessaire pour 4 adultes et 2 veaux; tous ont guéri. (Nous avons évidemment dû intervenir sur ces animaux d'une grande valeur aussitôt que le moindre risque se présentait.)

Il semble donc à conseiller d'utiliser la méthode classique pour les taurins, c'est-à-dire surveiller la température quotidiennement (au moins du 6^e au 16^e jour) et traiter dès qu'elle devient élevée. Un traitement précoce est important, *B. argentina* étant relativement peu sensible aux piroplasmicides.

A. MARGINALE

a) Prémunition par *A. centrale*

De nombreux auteurs ont confirmé la faible

virulence de cette espèce. La prémunition de tous les veaux du Centre de Kianjasoa a été commencée par RAYNAUD (non publiée) en 1960; la campagne annuelle de prémunition a été continuée jusqu'en 1966, quand elle a été arrêtée lors du changement du rythme de détiqage. Depuis 1964 tous les bovins du Centre de Recherches Zootechniques de Miadana sont également prémunis, et, sur demande, du sang prémunisant est parfois expédié à d'autres élevages. En tout environ 4000 animaux de tous âges et de différentes races de zébus et de taurins ont été prémunis; aucune surveillance de la réaction n'a été exercée; aucun cas de maladie ou mortalité par *A. centrale* n'a été observé ni signalé. Ajoutons que les vaches pleines de 5 mois ou plus et les vaches laitières en pleine lactation ne sont pas prémunies, ceci étant déconseillé par plusieurs auteurs. Des adultes au laboratoire ont parfois présenté, après inoculation d'*A. centrale*, une parasitémie élevée, suivie de lésions sanguines d'anémie, quelquefois accompagnée d'hyperthermie modérée, sans mortalité, sans symptômes cliniques apparents.

b) Prémunition par *A. marginale*

23 jeunes veaux de moins de 2 mois ont été inoculés; aucun n'a montré de maladie clinique et aucun traitement n'a été nécessaire. La parasitémie restait faible sur la plupart; quelques veaux ont présenté des lésions sanguines d'anémie plus ou moins importantes. Il semble donc possible d'inoculer les jeunes veaux avec *A. marginale*, sans surveillance ni traitement postopératoire. Nous n'avons pas expérimenté cette méthode sur des bovins plus âgés.

EFFICACITE DE LA PREMUNITION ARTIFICIELLE

B. BIGEMINA

Comme exposé auparavant (UILENBERG, sous presse), après le ralentissement du rythme de détiqage au Centre de Kianjasoa, précédé par la prémunition artificielle d'un millier d'animaux, il n'y a pas eu de pertes par la piroplasmose et aucun cas de la maladie n'a été diagnostiqué (sauf des primo-infections, guéries sans traitement) pendant les 3 ans suivants, malgré le fait qu'une population de la tique *B. microplus* existe depuis, et que la grande

majorité des animaux soient infectés par *B. bigemina*; ceci à l'opposé de la situation existant auparavant.

La prémunition artificielle a donc été très efficace, malgré l'existence à Madagascar de souches antigéniquement différentes, décelées au laboratoire; comme rapporté auparavant (UILENBERG, sous presse), les souches différentes peuvent donner une protection partielle l'une contre l'autre, apparemment suffisante dans la pratique.

B. ARGENTINA

Depuis le ralentissement du rythme de détiquage après prémunition artificielle d'un millier d'animaux à Kianjasoa il n'y a pas eu de cas de babésiellose diagnostiqués au Centre (à part des primo-infections, guéries sans traitement).

Les mêmes conclusions que celles tirées pour la prémunition par *B. bigemina* s'imposent.

A. MARGINALE

Les 23 veaux prémunis par *A. marginale* n'ont pas tous pu être suivis de près. Nous n'avons reçu aucun rapport d'anaplasmose parmi eux, ce qui n'est d'ailleurs pas étonnant étant donné que la protection conférée par *A. marginale* est d'ordre spécifique (bien que cette conception classique semble devoir être modifiée après les découvertes de KREIER et RISTIC, 1963 a et 1963 b, sur l'existence de souches ou même d'espèces différentes à l'intérieur de ce qui était jusqu'alors considéré comme une seule espèce, *A. marginale*).

A. CENTRALE

Malgré quelques opinions différentes, la plupart des auteurs concluent que la protection conférée par *A. centrale* est suffisante pour empêcher dans la pratique des mortalités par *A. marginale*, mais non pour donner une immunité absolue contre l'infection par cette dernière espèce; la protection serait partielle.

Nous avons inoculé *A. marginale* à des bovins splénectomisés, porteurs d'*A. centrale*. Les résultats, donnés dans le Rapport Annuel pour 1965 du Laboratoire Central de l'Élevage à Tananarive, peuvent être résumés ainsi :

Aucun des 7 porteurs d'*A. centrale* (âgés de 2 ans) n'a subi une anaplasmose clinique après

inoculation avec une souche locale d'*A. marginale*. Tous ont présenté des accès parasitaires importants, mais qui n'ont toutefois été suivis que par des lésions sanguines d'anémie de courte durée et parfois presque inexistantes. Quelques animaux ont présenté une hyperthermie modérée (qui n'a en aucun cas duré plus de 2 jours). Tous ont guéri sans traitement, tout en subissant des rechutes parasitaires au début. Deux témoins indemnes de tout *Anaplasma*, inoculés avec *A. marginale*, ont subi des accès parasitaires d'intensité comparable, n'ont pas présenté d'anaplasmose clinique non plus, et ont également guéri sans traitement. Les souches d'*A. marginale* utilisées ne sont donc pas assez virulentes pour permettre des conclusions définitives quant à la protection conférée par *A. centrale*. Depuis, nous avons d'ailleurs pu constater que les souches malgaches d'*A. marginale* isolées au hasard et expérimentées sur 20 animaux splénectomisés, se sont révélées être relativement peu virulentes (UILENBERG, 1969). La protection par *A. centrale* n'est de toute façon pas d'ordre spécifique; les deux parasites se comportent comme deux espèces différentes, *A. marginale* ayant causé des accès parasitaires sur les porteurs d'*A. centrale*, et l'évolution de l'infection ayant été semblable sur les porteurs et sur les témoins indemnes. Ajoutons qu'*A. marginale* ne confère pas non plus une protection d'ordre spécifique contre *A. centrale*: Des porteurs splénectomisés d'*A. marginale* accusent l'inoculation d'*A. centrale* par un accès parasitaire à *A. centrale*.

Quelques cas d'anaplasmose clinique à *A. marginale*, qui auraient vraisemblablement été mortels sans traitement, ont été observés sur des animaux adultes, prémunis quelques années auparavant avec *A. centrale*, dans des conditions de la pratique, à Tananarive au Centre d'Anosimasina; il y avait à la même époque des cas comparables sur des animaux non prémunis.

Néanmoins, le fait qu'il n'y a pas eu de cas d'anaplasmose (hormis des primo-infections chez des veaux) à Kianjasoa après le ralentissement du rythme de détiquage sur le millier d'animaux prémunis au préalable avec *A. centrale*, nous semble amplement prouver que la protection partielle conférée par *A. centrale* suffit dans la grande majorité des cas à empêcher des cas mortels d'anaplasmose. (Rappelons que l'infection à *A. marginale* était rare aupa-

ravant, à l'opposé de la situation actuelle) (UILENBERG, sous presse).

Les réactions sérologiques indiquent d'ailleurs qu'*A. centrale* et *A. marginale* ont des antigènes en commun, et nous avons pu le démontrer également à Madagascar, avec la réaction d'agglutination en capillaire de Ristic, 1962 (UILENBERG, sous presse).

DISCUSSION SUR L'ORDRE DES PRÉMUNITIONS À RESPECTER

Il semble prudent d'éviter que deux réactions se chevauchent ou se suivent de près. Ainsi, la prémunition avec *B. bigemina* peut être faite en même temps que celle avec *A. centrale* ou *A. marginale* (le plus simplement lorsque le donneur porte en même temps *B. bigemina* et un des *Anaplasma*); la réaction à *B. bigemina* sera terminée bien avant le début de celle à *Anaplasma*. Par contre, l'inoculation des deux *Babesiae* à la fois nous semble à déconseiller, les réactions se suivant de trop près; de même en ce qui concerne la combinaison *B. argentina* et *Anaplasma*.

Lorsqu'on prémunit avec *B. argentina* sans traitement postopératoire (zébus), l'ordre dans lequel les deux *Babesiae* sont inoculées n'a aucune importance, un traitement éventuel de *B. bigemina* n'ayant pas d'influence sur l'état de prémunition à *B. argentina*. Mais lorsqu'il faut surveiller et éventuellement traiter la réaction à *B. argentina* (taurins purs), il est indispensable de prémunir d'abord avec ce parasite, *B. bigemina* n'étant inoculée qu'après la fin de la réaction et du traitement de *B. argentina*; l'ordre inverse risquerait de blanchir l'animal de *B. bigemina*, un traitement efficace contre *B. argentina* exigeant souvent des piroplasmicides à doses si élevées qu'il peut stériliser l'organisme de *B. bigemina*.

CONCLUSIONS ET RESUME

1. La prémunition artificielle contre la piroplasmose vraie, la babésiellose et l'anaplasmosse des bovins est importante pour les animaux cédés par les élevages pratiquant un détiqage efficace et pour les animaux importés.
2. *B. argentina* constitue un problème pour l'obtention de souches pures de *B. bigemina*, lorsque le nombre d'animaux d'expérience est limité; l'obtention de souches pures de *B. argentina* est facile; *A. marginale* semble également pouvoir être obtenu facilement à l'état pur. Il est indispensable de travailler avec des animaux splénectomisés.
3. La conservation des souches de *A. marginale* et *A. centrale* sur bovins est facile, celle des *Babesiae* pose des problèmes, en particulier de *B. bigemina*. La conservation de tous les parasites par le froid est en principe possible.
4. La récolte de sang prémunisant peut être faite sur les porteurs des anaplasmes quand on en a besoin; pour les *Babesiae* il faut attendre une parasitémie apparente au microscope, ou bien inoculer un veau neuf avec une grande quantité de sang des porteurs latents et attendre l'accès parasitaire du veau inoculé. Le sang citraté est expédié et conservé sous glace et doit être utilisé dans les 3 ou 4 jours.
5. La prémunition avec *B. bigemina* est possible sans surveillance postopératoire en traitant tous les animaux 5 ou 6 jours après l'inoculation; des doses faibles de piroplasmicides suffisent. Si le nombre d'animaux est peu élevé, il est également possible de surveiller la réaction thermique et de traiter au besoin l'observation clinique, sans prise de température, n'est pas suffisante.
6. *B. argentina* inoculée par la seringue est peu pathogène pour les zébus, et il ne semble pas nécessaire de surveiller et traiter la réaction. Par contre, il faut surveiller la température et éventuellement traiter la réaction chez les taurins purs.
7. L'inoculation d'*A. centrale* est sans danger pour les bovins de tous âges, celle d'*A. marginale* semble l'être pour les jeunes veaux, âgés de moins d'un à deux mois.
8. La prémunition artificielle s'est montrée très efficace contre la piroplasmose vraie et la babésiellose; celle contre l'anaplasmosse, avec *A. centrale*, donne des résultats satisfaisants dans les conditions pratiques, bien que la protection ne soit pas d'ordre spécifique.

9. L'ordre dans lequel les prémunitions avec les différents parasites sont exécutées, a son importance.

Remerciements

Nous tenons à remercier Mr. H. SERRES, Directeur de la Région de Recherches de l'I.E.M.V.T. à Madagascar, d'avoir favorisé

nos travaux, ainsi que MM. J. GILIBERT et P. DUBOIS, respectivement Directeur du Centre de Recherches Zootechniques de Kianjaoa et de celui de Miadana, de leur amicale coopération lors des expériences effectuées dans leurs Centres respectifs. Nous sommes également reconnaissants à MM. G. RASANA et G. ANDRIANJAFY, nos assistants, de leur collaboration technique.

SUMMARY

Notes on bovine babesiosis and anaplasmosis in Madagascar.

VI. Artificial premunization

The author has studied artificial premunization against true piroplasmosis, babesiellosis and anaplasmosis of cattle in Madagascar. He describes the indications for premunization, the obtaining of pure strains, their conservation, the collecting of premunizing blood, the methods and effectiveness of premunization.

RESUMEN

Notas sobre las babesiosis y la anaplasmosis de los bovinos en Madagascar.

VI. Premunición artificial

El autor estudió la premunición artificial contra la piroplasmosis verdadera, la babesiosis y la anaplasmosis de los bovinos en Madagascar. Describe las indicaciones para la premunición, el logro de cepas puras, la conservación de las cepas, la recolección de la sangre precavienda, los métodos y la eficacia de las premuniciones.

BIBLIOGRAPHIE

- BARNETT (S.F.), « The preservation of *Babesia bigemina*, *Anaplasma centrale* and *A. marginale* by deep freezing », *Vet. Rec.*, 1964, 76: 4-8.
- BARNETT (S.F.), « The chemotherapy of *Babesia bigemina* infection in cattle », *Res. vet. Sci.*, 1965, 6: 397-415.
- BROCK (W.E.), PEARSON (C.C.), STALEY (E.E.) et KLIEWER (I.O.), « The prevention of anaplasmosis by feeding chlortetracycline. *J. Am. vet. med. Ass.*, 1957, 130: 445-46.
- BUCK (G.) « Prémunition de bovins contre les piroplasmoses. (*Pir. bigeminum*, *Bab. berbera*, *Anaplasma marginale*). *Arch. Inst. Pasteur Tananarive*, 1941 (Extrait du Rapport Annuel pour 1940): 82-84.
- CALLOW (L.L.), « *Babesia bigemina* in ticks grown on non-bovine hosts and its transmission to these hosts », *Parasitology*, 1965, 55: 375-81.
- CALLOW (L.L.) et HOYTE (H.M.D.), « The separation of *Babesia bigemina* from *Babesia argentina* and *Theileria mutans* », *Aust. vet. J.*, 1961, 37: 66-70.
- CURASSON (G.), « Traité de Protozoologie vétérinaire et comparée. Tome III. Sporozoaires ». Paris, Vigot Frères, 1943.
- DALY (G.D.) et HALL (W.T.K.), « A note on the susceptibility of British and some zebu-type cattle to tick fever (babesiosis). *Aust. vet. J.*, 1955, 31: 152.
- DUMAS (R.), « Le Renitelo. Race bovine de Madagascar », Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux, Région de Recherches de Madagascar. Rapport ronéotypé, 1963. 66 p.
- HENNING (M.W.), « Animal diseases in South Africa. Being an account of the infectious diseases of domestic animals », 3^e éd., Johannesburg, Central News Agency, 1956.
- KEMRON (A.), HADANI (A.), EGYED (M.), et collab., « Studies on bovine piroplasmosis caused by *Babesia bigemina*. III. The relationship between the number of parasites in the inoculum and the severity of the response », *Refuah Vet.*, 1964, 21: 112-108.
- KEMRON (A.), NEUMAN (M.), HADANI (A.), et collab., « Studies on bovine piroplasmosis caused by *Babesia bigemina*. II. The effect of treatment with Acaprin following vaccination on immunity of cattle to *Babesia bigemina* », *Refuah Vet.*, 1963, 20: 259-54.
- KREIER (J.P.) et RISTIC (M.), « Anaplasmosis. XI. Immunoserologic characteristics of the parasites present in the blood of calves infected with the Oregon strain of *Anaplasma marginale* », *Am. J. vet. Res.*, 1963, 24: 688-96.
- KREIER (J.P.) et RISTIC (M.), « Anaplasmosis. XII. The growth and survival in deer and sheep of the parasites present in the blood of calves

- infected with the Oregon strain of *Anaplasma marginale* », *Am. J. vet. Res.*, 1963, 24 : 697-702.
15. LEVINE (N.D.), « Protozoan parasites of domestic animals and of man », Minneapolis, Burgess Publ., Co., 1961.
 16. LIGNIERES (J.), « L'isolement et la recherche des *Anaplasma* par l'inoculation du sang suspect au mouton ou à la chèvre », *Bull. Soc. Path. exot.*, 1919, 12 : 774-79.
 17. Queensland. Annual Report of the Department of Agriculture and Stock for the year ended June 30th, 1960. Brisbane; S.G. Reid, Govt. Printer, 1960. (Extrait dans : *Vet. Bull.*, 1961, 31 : 616-18).
 18. Rapport Annuel du Laboratoire Central de l'Élevage, Tananarive pour 1965 : 79-81. (Ronéotypé.)
 19. RAYNAUD (J.-P.), « Prospection des hématozoaires et tiques de bovins à Madagascar. I. Recherches dans la province de Tananarive », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1962, 15 : 137-45.
 20. REES (Ch. W.), « Characteristics of the piroplasms *Babesia argentina* and *B. bigemina* in the United States », *J. agric. Res.*, Wash., 1934, 48 : 427-38.
 21. RIEK (R.F.), « Babesiosis », In : WEINMAN (D.) et RISTIC (M.), « Infectious blood diseases of man and animals. Volume II. The pathogens, the infections, and the consequences », New York, London, Academic Press, 1968. (P. 219-68.)
 22. RISTIC (M.), « A capillary tube-agglutination test for anaplasmosis. A preliminary report », *J. Am. vet. med. Ass.*, 1962, 141 : 588-94.
 23. ROSENBUSCH (F.) et GONZALEZ (R.), « Beitrag zum Studium der Tristeza », *Arch. Protistenk.*, 1925, 50 : 443-85.
 24. SCHMIDT (H.), « Anaplasmosis in cattle », *J. Am. vet. med. Ass.*, 1937, 90 : 723-36.
 25. SERGENT (E.), DONATIEN (A.), PARROT (L.) et LESTOQUARD (F.), « Etudes sur les piroplasmoses bovines », Alger, Institut Pasteur d'Algérie, 1945.
 26. SERGENT (E.), DONATIEN (A.), PARROT (L.), et collab. « Les piroplasmoses bovines d'Algérie », *Arch. Inst. Pasteur Algérie*, 1924, 2 : 1-146.
 27. SPLITTER (E.J.) et MILLER (J.G.), « The apparent eradication of the anaplasmosis carrier state with antibiotics », *Vet. Med.*, 1953, 48 : 486-88. (Extrait dans : *Vet. Bull.*, 1954, 24 : 177-78.)
 28. UILENBERG (G.), « Notes sur les hématozoaires et tiques des animaux domestiques à Madagascar », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1964., 17 : 337-59.
 29. UILENBERG (G.), « Influence du détiage sur la présence de parasites sanguins chez les bovins malgaches observés après splénectomie. Indications pratiques pour la lutte contre les hématozoaires pathogènes », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1965, 18 : 165-73.
 30. UILENBERG (G.), « Notes sur les babesioses et l'anaplasmoses des bovins à Madagascar. II. Influence de la splénectomie », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1969, 22 : 237-48.
 31. UILENBERG (G.), « Notes sur les babesioses et l'anaplasmoses des bovins à Madagascar. III. Essais de traitement », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1970, 23 (1) : 15-41.
 32. UILENBERG (G.) « Notes sur les babesioses et l'anaplasmoses des bovins à Madagascar. IV. Note additionnelle sur la transmission », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1970, 23 (3) : 309-12.
 33. UILENBERG (G.), « Notes sur les babesioses et l'anaplasmoses des bovins à Madagascar. V. Immunité et prémunition. Epizootologie », *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1970, 23 (4).
 34. WADDELL (A.H.), « Deep freeze storage of *Babesia bigemina* », *Aust. vet. J.*, 1963, 39 : 400.