

Université de Montréal

**Écologie de la besnoitiose chez les populations de
caribous (*Rangifer tarandus*) des régions subarctiques**

par

Julie Ducrocq

Département de sciences cliniques

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire

en vue de l'obtention du grade de

maître ès science (M.Sc.)

en sciences vétérinaires

option épidémiologie

Novembre 2010

© Julie Ducrocq 2010

Université de Montréal
Faculté de médecine vétérinaire

Ce mémoire intitulé
Écologie de la besnoitiose chez les populations de caribous
(*Rangifer tarandus*) des régions subarctiques

présenté par
Julie Ducrocq

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Alain Villeneuve, président-rapporteur
Stéphane Lair, directeur de recherche
Susan Kutz, codirectrice
Denise Bélanger, membre du jury

Résumé

Bien que les infections à *Besnoitia tarandi* sont documentées chez l'espèce *Rangifer* sp. depuis 1922, les données récoltées sur l'écologie et la distribution de cette parasitose demeurent rares. Les objectifs de cette étude ont donc été (i) d'identifier le meilleur tissu à échantillonner pour détecter les infections à *Besnoitia tarandi* dans les populations de caribous, (ii) de calculer la sensibilité et la spécificité de l'examen visuel comparativement à l'examen microscopique et (iii) d'identifier les facteurs de risques intrinsèques et extrinsèques associés à cette parasitose afin (iv) de comparer la prévalence et la densité des kystes parasites entre certains troupeaux. Nos résultats suggèrent que l'examen microscopique du derme superficiel d'une section de peau provenant du tiers moyen antérieur du métatarse devrait être privilégié pour dépister les infections par *B. tarandi* et en évaluer l'intensité. L'examen microscopique est également un outil très sensible comparativement à l'examen visuel des kystes parasites. *Besnoitia tarandi*, qui semble être absent du Groenland, a été observé dans environ un tiers des caribous nord-américains. Une variation saisonnière de prévalence et d'intensité de *B. tarandi* a été détectée; le parasite étant plus abondant chez cet hôte intermédiaire durant la période de l'automne/hiver comparativement à celle du printemps/été. Cet effet saisonnier pourrait être associé à une augmentation de l'abondance du parasite suite à la saison des insectes (i.e. été), supportant ainsi le rôle présumé des arthropodes piqueurs comme vecteurs de la maladie. Cette différence saisonnière pourrait aussi être expliquée par la diminution de la charge parasitaire par le système immunitaire et/ou par un taux de survie inférieur des animaux les plus parasités durant la saison froide. Les niveaux d'infection étaient légèrement plus élevés chez les mâles que chez les femelles, ce qui suggère soit une diminution du taux de mortalité, soit une exposition accrue ou une plus grande susceptibilité au parasite des mâles en comparaison aux femelles. La densité d'infection supérieure dans le troupeau Rivière-aux-Feuilles (Nunavik) suggère des niveaux d'exposition au parasite plus élevés et/ou une diminution des niveaux de résistance de ces caribous à ce protozoaire. Les résultats de cette étude démontrent que *B. tarandi* peut réduire les chances de survie des caribous infectés. Il sera donc important de continuer à surveiller les infections à *B. tarandi* surtout en cette période de changements climatiques.

Mots-clés : *Besnoitia tarandi*, caribou, cervidés, maladie, parasite, protozoaire, *Rangifer tarandus*.

Abstract

Although *Besnoitia tarandi* has been described in *Rangifer* sp. for over 80 years, understanding of its ecology and distribution is still relatively limited. The objectives of this study were (i) to determine the anatomical sampling site that enhances detection of *Besnoitia tarandi* infections in caribou populations; (ii) to evaluate the relative sensitivity and specificity of the *in situ* macroscopic assessment for diagnosis of besnoitiosis compared to the microscopic evaluation; and (iii) to identify potential risks factors associated with the prevalence and intensity of *B. tarandi* cysts and compare these across different populations. Our results suggest that calculating the number of cysts present in the superficial dermis of a skin section of the anterior mid-third of the metatarsus region by microscopic examination should be favored in order to monitor the presence and intensity of *B. tarandi* infections. Macroscopic assessment of *B. tarandi* cysts was not a sensitive method compared to that of a microscopic analysis. *Besnoitia tarandi* seems to be absent from Greenland but has been encountered in approximately one third of North-American caribou. A seasonal effect was noticed in the prevalence and intensity of *B. tarandi* infections; the parasite being more abundant in caribou sampled during the fall/winter period compared to the spring/summer period. This effect could reflect the increase abundance of *B. tarandi* following the end of the insect season (i.e. summer), supporting the role of arthropods as vectors of transmission. Reduction of the parasite burden by the immune system and/or a lower winter survival rate of severely infected caribou could explain the seasonal difference. The slightly higher prevalence in males suggests lower mortality rate, higher exposure and/or higher susceptibility to the parasite in infected males when compared to infected females. The apparent higher density of infection by *B. tarandi* in the Rivière-aux-Feuilles herd (Nunavik, Québec) suggests either higher exposure to the parasite or reduced resistance of caribou from this herd. The findings of this study suggest that infection by *B. tarandi* might reduce survival of individual animals; hence, the dynamic between this parasite and its hosts is worth further investigation, especially in these days of changing Arctic environment.

Keywords : *Besnoitia tarandi*, caribou, cervids, disease, parasite, protozoon, *Rangifer tarandus*

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	iv
Liste des figures.....	vii
Liste des tableaux	viii
Liste des abréviations	ix
Remerciements	xi
Introduction	1
Chapitre 1 – Recension de la littérature.....	3
1.1 L’espèce <i>Rangifer tarandus</i>	3
1.2 Le protozoaire <i>Besnoitia tarandi</i>	6
1.2.1 Taxonomie.....	6
1.2.2 Cycle de transmission.....	7
1.2.3 Développement des infections.....	11
1.2.4 Diagnostic chez l’espèce <i>R. tarandus</i>	14
1.2.5 Traitement et prévention	16
1.2.6 Impacts potentiels des infections à <i>B. tarandi</i> chez les individus.....	17
1.2.7 Parasites et dynamiques des populations animales	22
1.3 Conclusion.....	23
1.4 Objectifs du projet.....	23
Chapitre 2 – Premier article scientifique	25
2.1 ABSTRACT	26
2.2 INTRODUCTION.....	26
2.3 MATERIALS AND METHODS	28
2.3.1 Tissue sampling.....	28
2.3.2 <i>Besnoitia tarandi</i> assessment	29
2.3.3 Statistical analysis	30

2.4	RESULTS.....	31
2.5	DISCUSSION	32
2.6	ACKNOWLEDGMENTS.....	34
2.7	LITERATURE CITED.....	35
	Chapitre 3 – Deuxième article scientifique	52
3.1	ABSTRACT	53
3.2	INTRODUCTION.....	54
3.3	MATERIALS AND METHODS	55
3.3.1	Populations sampled.....	55
3.3.2	<i>Besnoitia tarandi</i> assessment	56
3.3.3	Statistical analysis	57
3.4	RESULTS.....	58
3.5	DISCUSSION	59
3.6	ACKNOWLEDGMENTS.....	64
3.7	LITERATURE CITED.....	65
	Chapitre 4 – Discussion générale des résultats	75
	Chapitre 5 – Conclusion.....	83
	Bibliographie.....	xiii

Liste des figures

Figure 1 : Identification des troupeaux de <i>R. tarandus</i> des régions subarctiques.	4
Figure 2 : Cycle de vie hypothétique pour <i>B. tarandi</i>	9
Figure 3 : Kystes de <i>B. tarandi</i> sur (A) la conjonctive et (B) le périoste.	13
Figure 4 : Images microscopiques d'infections à <i>B. tarandi</i>	14
Figure 5 : Couches distinctes d'un kyste de <i>B. tarandi</i> (Alzieu et al, 2007).	15

Liste des tableaux

Tableau 1: Estimation de la taille des populations de caribous échantillonnées dans le cadre de la présente étude.....	6
--	---

Liste des abréviations

CARMA : Circum-Arctic Rangifer Monitoring and Assessment Network

CCCSF : Centre canadien coopératif sur la santé de la faune

CQSAS : Centre québécois sur la santé des animaux sauvages

*En mémoire de mon grand-père, Alain.
À ma famille soit Martine, Francine et Hervé.
Et pour le courage de Maëlle.*

Remerciements

Je chérissais depuis longtemps la possibilité d'effectuer une maîtrise en épidémiologie des maladies de la faune. C'est grâce à une entente entre Stéphane Lair et Susan Kutz que ce projet a vu le jour. J'aimerais donc les remercier de m'avoir offert cette occasion unique de me perfectionner dans ce domaine. Je dois également remercier mon directeur, Stéphane Lair de m'avoir offert une bourse pour subvenir à mes besoins durant mes études. Il m'a également accordé une grande liberté mais a su m'encadrer adéquatement dans les moments opportuns. J'aimerais aussi grandement remercier Guy Beauchamp pour son savoir faire en statistique.

Ce projet de maîtrise a été financé par le réseau CARMA à travers les subventions accordées par l'*Année Internationale Polaire* et est le résultat d'une collaboration étroite entre les membres de ce réseau. J'aimerais donc remercier les personnes suivantes qui ont fourni du temps, des échantillons, de l'information ou du personnel dans le cadre de ce projet : Joëlle Taillon et Steeve Côté de l'Université Laval; Denis Vandal, Vincent Brodeur, Stéphane Rivard et Lina Lambert du Ministère des Ressources naturelles et de la Faune; Brett Elkin, Bruno Croft et l'équipe du Gouvernement des Territoires du Nord-Ouest; Mitch Campbell et son équipe du Gouvernement du Nunavut; Susan Kutz et son équipe de l'Université de Calgary; et Christine Cuyler et son équipe provenant du Groenland.

Puis, j'aimerais grandement remercier ma famille et mes amis pour leur appui et leurs encouragements durant cet agréable retour sur les bancs d'école.

Introduction

Le caribou représente une composante alimentaire et culturelle importante pour les communautés du Nord-du-Québec. Outre l'aspect de la chasse de subsistance, les caribous peuvent être utilisés à des fins commerciales ou dans le cadre de la chasse sportive (Jean et Lamontagne, 2004). Basés sur leurs connaissances traditionnelles, certains chasseurs Inuits rapportent depuis quelques années une détérioration de la condition physique de certains caribous (Vincent Brodeur, communication personnelle). Leurs observations semblent corroborer celles des chasseurs sportifs et des différents pourvoyeurs utilisant cette ressource. Les différents utilisateurs de caribous rapportent une augmentation du nombre d'animaux ayant un pelage terne et sec avec des zones alopéciques surtout sur les membres inférieurs et le scrotum (Vincent Brodeur, communication personnelle).

À la demande du Ministère des Ressources naturelles et de la Faune, le Centre québécois sur la santé des animaux sauvages (CQSAS) s'est rendu à deux reprises au Nunavik afin d'échantillonner des caribous provenant du troupeau Rivière-aux-Feuilles. L'objectif des collectes effectuées en 2006 et 2007 était d'évaluer l'état de santé des caribous rapportés comme étant *malades* par les chasseurs et les pourvoyeurs. En 2006, six caribous adultes mâles et en 2007, dix caribous adultes dont huit mâles et deux femelles ont été abattus suite à l'observation de signes potentiels de maladies, incluant amaigrissement, difficulté à se lever, boiterie, épaissement de la peau et perte de poils. Une nécropsie complète a été faite sur chacun des animaux. Globalement, ces analyses ont mis en évidence la présence d'infections, souvent marquées, par le parasite *Besnoitia tarandi* et ce, chez 88% des caribous examinés (Banque de données du CCCSF). Bien que le parasite *B. tarandi* puisse expliquer la perte de condition physique observée chez certains individus, l'impact réel de ce parasite sur la santé de ces populations demeure indéterminé (Wobeser, 1976). La présence de *Besnoitia tarandi* au sein d'un caribou provenant du territoire québécois a été confirmée en 1960 et selon les observations des chasseurs Inuits, le parasite auraient été observé chez les caribous des troupeaux Rivière-aux-Feuilles et Rivière-George depuis (Banque de données du CCCSF; Vincent Brodeur, communication personnelle).

Suite aux résultats des analyses effectuées par le CQSAS, les différents acteurs impliqués dans la gestion du caribou au Québec ont manifesté un intérêt pour la mise sur pied d'une étude sur le parasite *B. tarandi*. La participation du CQSAS au sein du réseau *Circum-Arctic Rangifer Monitoring and Assessment* (CARMA) a également permis d'étendre la portée du projet à plusieurs autres troupeaux de caribous. Le présent projet de maîtrise a pour titre « Écologie de la besnoitiose chez les populations de caribous (*Rangifer tarandus*) des régions subarctiques » et a pour but d'approfondir nos connaissances sur les infections à *B. tarandi* qui affectent les caribous.

Il n'y a présentement aucune évidence que les espèces de *Besnoitia* entraînent des problèmes de santé chez l'être humain qui consomme de la viande ou toute autre partie provenant d'animaux infectés ou qui manipulent ces carcasses (Leighton and Gajadhar, 2001). La besnoitiose est donc considérée comme une maladie strictement animale et à caractère non-zoonotique.

Le présent mémoire de maîtrise est divisé en cinq chapitres soit (1) une recension de la littérature sur l'espèce *Rangifer tarandus* et le parasite *Besnoitia tarandi*; (2) un premier article scientifique portant le titre «Anatomic distribution of *Besnoitia tarandi* cysts in barren-ground caribou (*Rangifer tarandus*): Implications for diagnosis and monitoring »; (3) un deuxième article scientifique portant le titre «Epidemiology of *Besnoitia tarandi* cysts in barren-ground caribou (*Rangifer tarandus*) »; (4) une discussion des résultats et (5) une conclusion. Les deux articles scientifiques seront soumis à la revue *Journal of Wildlife Disease*.

Chapitre 1 – Recension de la littérature

1.1 L'espèce *Rangifer tarandus*

L'espèce *Rangifer tarandus* fait partie de la famille des cervidés, une famille dont les animaux se caractérisent par la présence de structures osseuses sur le crâne communément appelés bois ou panache (Bergerud, 2000). *Rangifer tarandus* est la seule espèce de cervidés dont la majorité des femelles arborent un panache (Blake et al., 1998). Elle regroupe plusieurs sous-espèces de caribous et de rennes, deux termes du langage commun utilisés pour décrire cette espèce. Le terme « caribou » décrit les sous-espèces ayant évolué en Amérique du Nord et au Groenland tandis que le terme « renne » décrit celles de l'Europe et d'Asie (Geist, 1998). Les rennes ont été la seule sous-espèce de *R. tarandus* à être domestiquée, rendant l'exportation de ces animaux et l'implantation d'élevages possible comme ce fut le cas en Alaska au tournant du 19^e siècle (Geist, 1998).

Les régions du cercle polaire arctique (cercle déterminé par le parallèle situé à la latitude 66° 32'N) et subarctique abritent les différentes populations de caribous et de rennes, l'espèce d'ongulés la plus largement répandue au monde (Geist, 1998). Il n'existe présentement aucun consensus quant à la classification taxonomique des diverses sous-espèces de caribous et de rennes, initialement proposée par Bamfield en 1961 (Bamfield, 1961). Cependant, un nouveau mode de classification basé sur les critères du pelage des grands mâles à l'automne a été proposé en 1998 (Geist, 1998). Selon ces critères, il existe six sous-espèces de caribous en Amérique du Nord et au Groenland, et sept sous-espèces de rennes en Eurasie.

Les différentes populations de *R. tarandus* peuvent être différenciées davantage selon leur comportement migrateur ou sédentaire et, selon les types d'écosystèmes qu'elles fréquentent soit la toundra, les montagnes ou le couvert forestier. On emploie le terme « troupeau » lorsque l'on fait référence aux populations de caribous et de rennes migrateurs et le terme « harde » s'utilise en lien avec des populations forestières qui adoptent généralement un mode sédentaire (Jean and Lamontagne, 2004).

La Figure 1 présente la distribution des troupeaux de *R. tarandus* des régions subarctiques (CARMA, 2009). Les populations de caribous échantillonnés dans le cadre de ce projet proviennent du Groenland (Akia-Maniitsoq et Kangerlussuaq-Sisimiut) et de l'Amérique du Nord (Porcupine, Bluenose West, Bathurst, Southampton Island, Rivière-aux-Feuilles et Rivière-George). Ces populations se composent de caribous du type migrateur toundrique puisqu'ils effectuent des déplacements, deux fois l'an, entre leurs aires de mise-bas estivales situées plus au nord et les aires d'habitat hivernal situées plus au sud. Certains animaux peuvent migrer sur des très longues distances (1000 km pour les troupeaux du Nord-Québécois) (Jean and Lamontagne, 2004) tandis que d'autres se déplacent de façon plus limitée (170 km pour les troupeaux du Groenland) (Cuyler, communication personnelle).

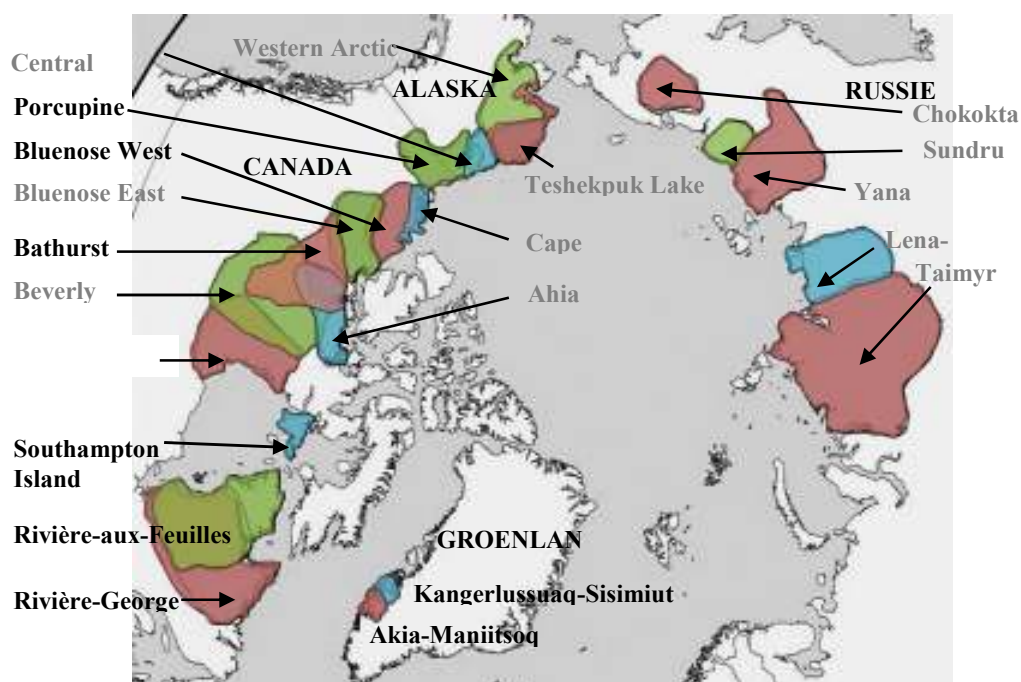


Figure 1 : Identification des troupeaux de *R. tarandus* des régions subarctiques.

Les populations de caribous sont reconnues pour fluctuer entre rareté et abondance (Couturier et al., 2009). La taille des populations de caribous étudiées dans le cadre de ce projet est présentée au Tableau 1 (CARMA, 2009). Les données de ce tableau doivent être interprétées avec prudence; elles reflètent une estimation du nombre d'animaux à un moment précis dans le temps basée sur des techniques d'inventaire différentes d'une région à l'autre. Quand au suivi des populations de caribous, un élément important à déterminer est la tendance démographique, soit l'augmentation ou la diminution du nombre d'individus. Ces tendances sont évaluées par différents types de suivi des populations de caribous (i.e. mesures morphologiques) par les biologistes (Couturier et al., 2009).

Présentement, à l'exception du troupeau Rivière-George, le nombre d'individus dans les populations de caribous échantillonnées est en déclin. Depuis plusieurs années, les chercheurs tentent d'identifier et de comprendre les interactions entre les facteurs biotiques et abiotiques qui contribuent à ces fluctuations et ceci, dans le but d'assurer la pérennité de cette ressource pour les générations à venir. À ce jour, plusieurs variables ont été identifiées comme contribuant aux cycles dont le nombre de prédateurs, la température, les changements et oscillations climatiques, la végétation, les migrations et le niveau de dérangement par les insectes et les activités humaines (Couturier et al., 2004).

Tableau 1: Estimation de la taille des populations de caribous échantillonnées dans le cadre de la présente étude.

Troupeau	Population estimée	Année de l'inventaire	Tendances démographiques
Akia-Maniitsoq	36 000	2005	Déclin
Bathurst	128 047	2006	Déclin
Bluenose West	18 050	2006	Déclin
Kangerlussuaq-S.	90 000	2005	Inconnue
Porcupine	123 000	2001	Déclin
Rivière-George	385 000	2001	Croissance
R.-aux-Feuilles	628 000	2001	Déclin
Southampton I.	15 452	2007	Déclin

1.2 Le protozoaire *Besnoitia tarandi*

1.2.1 Taxonomie

Les espèces du genre *Besnoitia* se classent sous le règne des protozoaires, l'embranchement des Apicomplexae, l'ordre des Coccidies et la famille des Sarcocystidés. Les parasites de cet embranchement pénètrent les cellules de l'hôte et les détruisent (Bowman, 1999).

La reconnaissance d'un isolat de *Besnoitia* spp. comme espèce distincte repose majoritairement sur l'identification de l'hôte définitif (Dubey et al., 2004). À ce jour, les cycles complets de transmission sont connus seulement pour *B. wallacei*, *B. darlingi* et *B. oryctofelisis* où le chat domestique (*Felis silvestris*) tient le rôle d'hôte définitif (Wallace and Frenkel, 1975; Smith and Frenkel, 1977; Dubey et al., 2003). On reconnaît néanmoins six autres espèces de *Besnoitia* suite à la caractérisation de leurs attributs morphologiques, biologiques et/ou génétiques, soit *B. akadoni*, *B. bennetti*, *B. besnoiti*, *B. caprae*, *B. jellisoni* et *B. tarandi* (Dubey et al., 2004).

La première description de la besnoitiose rangiférine remonte à 1922. À cette époque, le protozoaire porte le nom de *Fibrocystis tarandi*. Des kystes sont observés dans les tissus conjonctifs fibreux notamment sur le périoste et la surface des tendons des rennes d'Alaska (Hawden and Palmer, 1922). Levine reclassera *Fibrocystis tarandi* sous l'espèce *Besnoitia tarandi* en 1961, selon les critères de nomenclature de l'époque (Dubey et al., 2004).

Les caribous et les rennes sont considérés les hôtes intermédiaires principaux de *B. tarandi* même si le protozoaire a également été observé chez des cerfs mulot (*Odocoileus hemionus*), des chevreuils (*Capreolus capreolus*) et des bœufs musqués (*Ovibos moschatus*) (Glover et al., 1990; De Luco et al., 2000; Leighton and Gajadhar, 2001). Rosenthal (2003) a démontré un important degré de similarité d'une portion du code génétique entre plusieurs isolats de *B. tarandi* retrouvés chez les caribous et les rennes de l'Arctique. L'absence de variation génétique du genre *B. tarandi* permet de conclure que le parasite retrouvé en Amérique du Nord est similaire à celui des rennes eurasiens (Rosenthal, 2003; Dubey et al., 2004). L'avènement de nouvelles techniques moléculaires a également permis de démontrer d'étroites relations entre *B. tarandi*, *B. besnoiti* et *B. bennetti*, suggérant la possibilité que *B. tarandi* puisse avoir évolué génétiquement à partir de l'une ou de ces deux espèces (Dubey et al., 2004).

1.2.2 Cycle de transmission

Les connaissances du cycle de vie complet, de l'épidémiologie et de l'écologie de *B. tarandi* demeurent encore très limitées (Leighton and Gajadhar, 2001). Dans le but d'identifier l'hôte définitif de *B. tarandi*, des infections expérimentales furent tentées chez certaines espèces animales, dont plusieurs souris, lapins, gerbilles, chats domestiques, rats laveurs, chiens et un seul renard arctique. Aucune de ces infections expérimentales ne s'est révélée concluante car aucun ookyste ne fut détecté par la technique de flottation des selles dans une solution sucrée et aucun stage parasitaire ne

fut observé par microscopie dans leur tractus intestinal (Glover et al., 1990; Ayroud et al., 1995; Dubey et al., 2004).

Puisqu'une transmission selon un système prédateur-proie a été démontrée chez trois espèces de *Besnoitia*, on suppose que les six autres espèces (dont *B. tarandi*) possèdent aussi ce type de transmission. La Figure 2 présente le cycle de transmission hypothétique de *B. tarandi* (Source du graphique : Bussièrès et Chermette, 1992).

Chez les espèces de *Besnoitia* dont le cycle de vie est connu, l'hôte définitif infecté relâche des ookystes non-sporulés dans ses fèces (A). Ces ookystes contiennent une cellule unique porteuse de la totalité du code génétique du protozoaire (A1). En présence de conditions environnementales adéquates (humidité, température et oxygène), les ookystes se divisent en deux sporokystes (A2) contenant chacun quatre sporozoïtes (Bowman, 1999). Un sporozoïte contient la moitié du code génétique du protozoaire et le nombre de sporokystes et de sporozoïtes formés par ookyste varie selon l'espèce de coccidies. Pour différencier les ookystes de *B. tarandi* sporulés des autres espèces de coccidies, il faut procéder à des infections expérimentales. L'infection des souris *Knock-out* serait à privilégier, car ces souris sont hautement susceptibles aux infections parasitaires dû à leur incapacité à synthétiser la cytokine interféron-gamma nécessaire à l'immunité cellulaire (Bowman, 1999; Dubey et al., 2004; Lappin, 2005).

Lorsque les ookystes sporulés sont ingérés par des hôtes intermédiaires susceptibles (B), la paroi des ookystes se rupture et libère les sporozoïtes infectieux (B1). On suspecte que l'espèce *R. tarandus* s'infecte par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés par les déjections de l'hôte définitif inconnu (Dubey et al., 2004). Les sporozoïtes pénètrent à l'intérieur des cellules retrouvées le long du tractus gastro-intestinal pour se multiplier une première fois. Le résultat de cette première vague de multiplication est un schizonte de première génération (B2). Ce schizonte est entouré d'une membrane épaisse et contient de multiples mérozoïtes. La première génération de mérozoïtes de *B. tarandi* se développerait dans les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins (Leighton and Gajadhar, 2001). Ces mérozoïtes de première génération seront

ensuite relâchés et envahiront d'autres cellules pour former des schizonts de deuxième génération (B3).

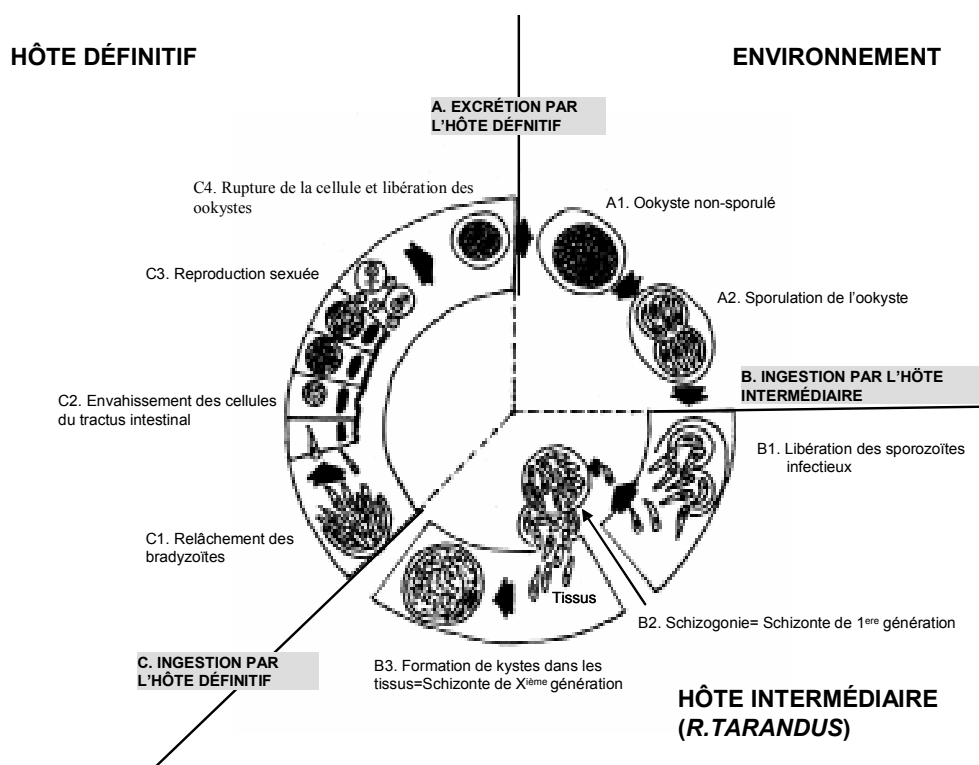


Figure 2 : Cycle de vie hypothétique pour *B. tarandi*.

Le nombre de générations asexuées générées, le type et la localisation des cellules envahies, et le nombre de mérozoïtes formés seraient fixes, mais dépendraient de l'espèce en cause (Leighton and Gajadhar, 2001). On ignore présentement le nombre de générations asexuées que les mérozoïtes de *B. tarandi* peuvent entamer. Chez les caribous et les rennes, les mérozoïtes semblent avoir une affinité particulière pour les fibroblastes. Les schizonts de dernière génération se retrouvent donc surtout dans les tissus riches en fibroblastes tels les tissus conjonctifs et la peau (Glover et al., 1990; Leighton and Gajadhar, 2001).

Dans le but de compléter un cycle, le parasite devra être consommé par l'hôte définitif (C), soupçonné d'être un prédateur ou un charognard (Dubey et al., 2004). Dans

le tractus gastro-intestinal du prédateur, les parasites seront relâchés (C1) et envahiront les cellules intestinales ou endothéliales (C2), afin d'y entamer une seule multiplication. Des gamètes mâles ou femelles du parasite issus de cette multiplication se rencontreront pour former un œuf (C3). Les ookystes sont le résultat de la rencontre de ces gamètes ensuite libérées par la rupture d'une cellule hôte provenant du tractus intestinal de l'hôte définitif (C4) (Bowman, 1999).

Depuis plusieurs années, la transmission stricte des espèces de *Besnoitia* dans un système prédateur-proie est remise en question, en particulier en ce qui a trait au rôle de l'hôte définitif. Ainsi, la transmission des infections à *B. besnoiti* et à *B. jellisoni* entre hôtes intermédiaires a été rendue possible suite à des transfusions sanguines, à des injections sous-cutanées, à du cannibalisme ou par des vecteurs tels les moustiques et les mouches (Pols, 1960; Bigalke, 1967; Ng'ang'a and Kasigazi, 1994; Njenga et al., 1999a). On suspecte que les arthropodes piqueurs jouent un rôle prédominant dans la transmission et le maintien des infections à *B. tarandi* dans les populations de caribous et de rennes (Glover et al., 1990; Ayroud et al., 1995). La transmission vectorielle pourrait être très efficace chez les caribous car le harcèlement par les arthropodes durant la saison chaude est une composante majeure de leur écosystème (Toupin et al., 1996).

Certaines espèces d'arthropodes sous l'ordre des diptères (i.e. moustiques, mouches noires et taons) répertoriées dans ces habitats et les diptères sont capables de véhiculer et de transmettre *B. besnoiti* chez les bovins en Afrique (Bigalke, 1968; Toupin et al., 1996). La transmission du parasite s'effectuerait soit par le sang ou les tissus contaminés. L'hypothèse que des vecteurs soient impliqués dans le cycle de transmission de *B. tarandi* est soutenue par les résultats d'une enquête épidémiologique réalisée lors d'un épisode de besnoitiose chez des cervidés du Zoo d'Assiniboine au Manitoba (Glover et al., 1990). En effet, la plupart des nouveaux cas ont été observés à la fin de la période active des insectes piqueurs soit vers la fin de l'été et le début de l'automne. De plus, aucun signe clinique n'a été observé chez des jeunes cervidés isolés

dans un bâtiment à l'abri des insectes piqueurs, au cours de cette épidémie (Glover et al., 1990).

1.2.3 Développement des infections

À ce jour, aucune infection par *B. tarandi* chez les caribous et les rennes n'a été reproduite expérimentalement. Par conséquent, l'ensemble des mécanismes reliés au développement de ces infections demeure inconnu. Afin de palier au manque d'information sur la pathogénèse des infections à *B. tarandi*, l'on se référera à la pathogénèse des infections expérimentales avec *B. besnoiti* chez les bovins où trois phases cliniques distinctes sont reconnues soit : la phase fébrile, la phase des œdèmes et la phase de dépilation et de sclérodermie (Alzieu, 1991; Franc and CadieRivière-Georgeues, 1999).

1.2.3.1 Phase fébrile

De tous les articles recensés, celui de Nikolaevskii (1961) est le seul à mentionner la présence d'une phase aigue d'inflammation suite aux infections à *B. tarandi* chez des rennes (Nikolaevskii, 1961). Cet article scientifique ne décrit pas les lésions ou les signes cliniques associés à cette phase.

Du côté de la besnoitiose bovine, la phase fébrile se caractérise par la présence de fièvre durant les trois à six premiers jours et d'inflammation des muqueuses oculaires et nasales. D'autres signes non-spécifiques tels de l'abattement, la photophobie, l'anorexie, la tachypnée, l'hypertrophie des ganglions lymphatiques sous-cutanés et le ralentissement des contractions du rumen peuvent être observés (Basson et al., 1970; Alzieu et al., 2007).

Chez la vache, la période d'incubation de *B. besnoiti* est estimée entre 6 et 10 jours après l'inoculation intraveineuse du protozoaire. Le parasite se multiplie à l'intérieur des cellules endothéliales et de certaines cellules que l'on pense être des histiocytes. À cette étape, les vacuoles parasitaires mesurent de 30 à 100 μm . L'examen histologique des tissus montre la présence d'une légère hyperplasie de l'endothélium et

de l'œdème diffus accompagnés de pétéchies et d'ecchymoses disséminées, de thromboses sous-cutanées, de dégénérescence et de nécrose des tissus affectés. On remarque également une inflammation marquée composée d'éosinophiles et de mononucléaires au pourtour des vaisseaux (périvasculite et vasculite) dont l'intensité augmente avec le temps (Basson et al., 1970).

1.2.3.2 Phase des œdèmes

La présence d'œdème sur le corps et les membres a été observée chez un renne avec une infection à *B. tarandi* marquée mais le lien de cause à effet n'a pu être établi (Rehbinder et al., 1981). Des cas d'enflure à la tête, au tronc, au scrotum et aux parties distales des membres ont également été rapportés (Nikolaevskii, 1961; Choquette et al., 1967; Wobeser, 1976; Rehbinder et al., 1981).

Chez les bovins, l'atteinte du système vasculaire mène à la phase des œdèmes, une phase qui dure généralement entre 1 et 4 semaines. L'œdème est visible sur la tête, les membres et les régions déclives (scrotum, glande mammaire et fanon). Les kystes se développent et mesurent maintenant entre 100 et 300 μm . Avec le temps, la peau de ces régions devient plus épaisse et perd de son élasticité. Durant cette phase, on rapporte que les vaches atteintes peuvent avoir de la difficulté à se déplacer, produisent moins de lait et peuvent avorter (Basson et al., 1970; Alzieu, 1991). Certains bovins meurent durant les premières phases de la besnoitiose surtout lorsque le système vasculaire est sévèrement atteint et que l'œdème est généralisé. Cette phase se termine avec la disparition de l'œdème (Basson et al., 1970).

1.2.3.3 Phase chronique (ou phase de dépilation et de sclérodermie)

Les lésions associées aux infections à *B. tarandi* rapportées dans la littérature correspondent à la phase chronique de la besnoitiose bovine. Les lésions décrites chez les caribous et les rennes infectés incluent l'alopécie, l'épaississement de la peau, des croûtes et des ulcères cutanés affectant la tête, le tronc, le scrotum et les parties distales des membres (Nikolaevskii, 1961; Choquette et al., 1967; Wobeser, 1976; Rehbinder et

al., 1981). On rapporte également la présence de plaies de décubitus, de crevasses ainsi que d'infections secondaires cutanées et pulmonaires comme conséquences possibles de cette parasitose (Wobeser, 1976; Rehbinder et al., 1981).

L'examen macroscopique des tissus révèle la présence de nombreux kystes parasitaires (structures rondes transparentes à blanchâtres). Ces structures sont surélevées et possèdent un diamètre variant de 0,5 à 1,5 mm donc visibles à l'œil nu (Wobeser, 1976; Venturini et al., 2002). On les retrouve sur la conjonctive (Figure 3A), les muqueuses nasales, le périoste (Figure 3B) et les fascias sous-cutanés des membres, de l'abdomen et des flancs. De petites dépressions créées par la présence des kystes parasitaires deviennent visibles lorsque le périoste et la muqueuse nasale sont détachés des os ou des cartilages sous-jacents (Wobeser, 1976; Hawden and Palmer, 1922).



Figure 3 : Kystes de *B. tarandi* sur (A) la conjonctive et (B) le périoste.

(Source des photos : CQSAS).

L'examen microscopique des tissus révèle que les kystes matures de *B. tarandi* mesurent entre 200 et 400 μm . Les kystes se retrouvent surtout dans les sections les plus vascularisées du derme (Figure 4A) et dans les tissus conjonctifs sous-jacents mais aussi dans les structures testiculaires et les poumons. Certains kystes se développent dans la

paroi des vaisseaux sanguins notamment l'*intima* et vont même jusqu'à obstruer la lumière de ces derniers. Chez les mâles, les kystes de *B. tarandi* se développent aussi autour des vaisseaux sanguins du plexus pampiniforme où ils sont souvent associés à de l'inflammation (Choquette et al., 1967; Wobeser, 1976; Ayroud et al., 1995).

Un infiltrat de cellules inflammatoires (macrophages, lymphoplasmocytes et cellules géantes multinucléées) accompagne parfois les kystes (Figure 4B). L'intensité de cette inflammation granulomateuse varie mais atteint son maximum lorsque les kystes dégénèrent (Choquette et al., 1967; Wobeser, 1976; Rehbinder et al., 1981; Ayroud et al., 1995). En présence de plusieurs kystes dans le derme, on peut également noter des degrés variables d'hyperkératose, d'acanthose et d'hyperplasie pseudoépithéliomateuse (Choquette et al., 1967; Wobeser, 1976; Ayroud et al., 1995).

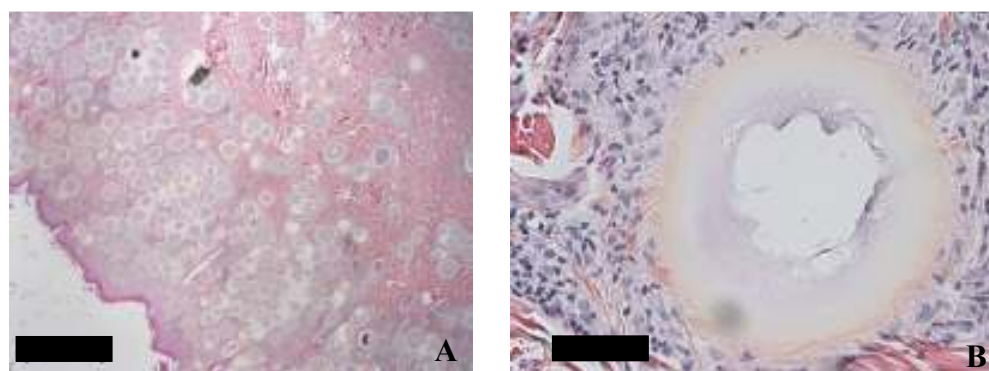


Figure 4 : Images microscopiques d'infections à *B. tarandi*; (A) Section de peau du métatarse avec de multiples kystes de *B. tarandi*; la barre noire représente 1mm. (B) Kyste de *B. tarandi* dégénéré entouré d'un infiltrat granulomateux; la barre noire est égale à 50 μ m. (Source des photos : CQSAS)

1.2.4 Diagnostic chez l'espèce *R. tarandus*

L'outil le plus fréquemment utilisé pour confirmer les infections à *B. tarandi* chez les caribous et les rennes demeure l'examen microscopique (Leighton and Gajadhar, 2001). Le délai entre le moment d'acquisition de l'infection et la détection de

kystes dans les tissus de caribous demeure inconnu, mais il est estimé à environ six semaines chez les bovins infectés expérimentalement (Pols, 1960). Les kystes tissulaires possèdent une morphologie particulière (Figure 5) et se distinguent ainsi des autres espèces de coccidies par la présence de trois couches distinctes visibles au microscope (Dubey et al., 2004) :

- (1) une épaisse paroi ou capsule dans laquelle la cellule entière de l'hôte infecté est incluse. Elle est composée de tissu conjonctif et peut mesurer jusqu'à $30\ \mu\text{m}$ d'épaisseur;
- (2) une membrane intermédiaire contenant plusieurs noyaux de la cellule hôte hypertrophiés, hyperplasiques et compressés, mesurant entre 5 et $20\ \mu\text{m}$;
- (3) une membrane interne très mince ($< 1\ \mu\text{m}$) entourant une myriade de bradyzoïtes (fusiformes). Cette structure interne porte le nom de vacuole parasitaire.

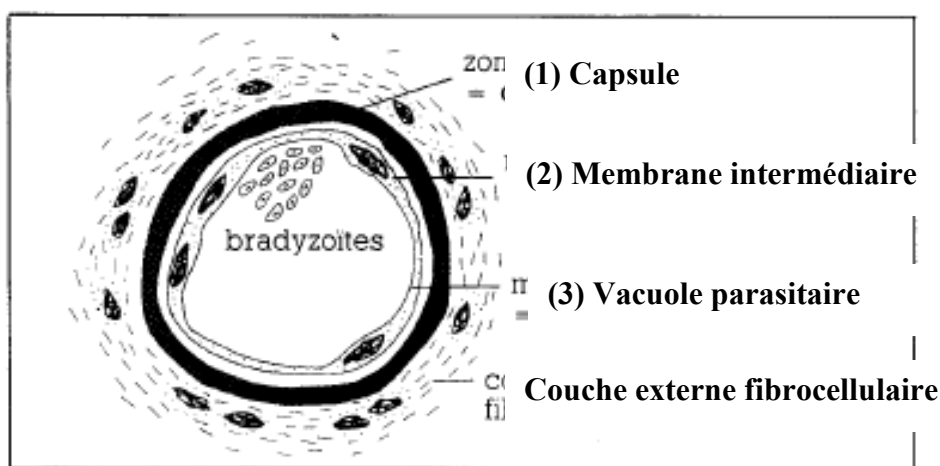


Figure 5 : Couches distinctes d'un kyste de *B. tarandi* (Alzieu et al, 2007).

Pour diagnostiquer les infections à *B. besnoiti* par l'examen microscopique, il est suggéré d'analyser des sections de peau (incluant les tissus sous-cutanés) idéalement avec des lésions, de la conjonctive et de la muqueuse du tractus respiratoire supérieur. Ces tissus peuvent provenir d'animaux morts ou vivants (i.e. biopsies ou lambeau de la

conjonctive) (Pols, 1960; Nobel et al., 1977). Ils doivent être fixés dans le formol 10% tamponné pour au moins 48 heures, puis paraffinés, coupés en section au microtome, colorés et examinés en microscope photonique. Les valeurs de sensibilité ou de spécificité de l'examen microscopique restent inconnues.

Outre cette technique, d'autres outils diagnostics ont été développés dans le cadre de la recherche sur la besnoitiose bovine dont le frottis sanguin, l'examen visuel macroscopique, les tests sérologiques et les techniques moléculaires (Bigalke, 1967; Shkap et al., 2002; Njagi et al., 2004; Cortes et al., 2006b). À l'exception de l'examen visuel macroscopique des kystes parasitaires, aucun de ces outils n'a été utilisé chez les caribous et les rennes (Lewis, 1989). La sensibilité et la spécificité de l'examen macroscopique n'ont jamais été évaluées, ni chez les bovins, ni chez l'espèce *R. tarandus*. Cependant, la possibilité d'avoir des caribous classés comme « faux-positifs » nous informe que la valeur prédictive et la spécificité de l'examen macroscopique ne sont pas toujours égales à 100%. Ainsi des structures, notamment des nodules lymphoïdes sur la conjonctive ont la même apparence que les kystes de *B. tarandi* (Pols, 1960; Ayroud et al., 1995). Chez les bovins, il est suggéré d'optimiser l'observation directe des kystes parasitaires par le raclage de la conjonctive et la démonstration des stades parasitaires au microscope (Sannusi, 1991).

1.2.5 Traitement et prévention

Selon la recension de la littérature, il existe des traitements contre la besnoitiose bovine, mais aucun d'entre eux n'a été effectué sur des caribous ou des rennes infectés par *B. tarandi*. De plus, il serait irréaliste de traiter autant d'animaux sauvages.

Chez les bovins infectés, le traitement consiste en l'utilisation d'antibiotiques (les sulfamidés sont à privilégier) couplés à des anti-inflammatoires (Franc et Cadiergues, 1999; Alzieu et al., 2007). Seuls les traitements initiés durant la phase fébrile peuvent entraîner la disparition des signes cliniques. Cependant, la disparition des signes cliniques ne signifie pas que le parasite soit complètement disparu. Il semble qu'une fois

les kystes apparus, les bovins demeurent porteurs du parasite au moins pendant neuf ans, voire toute la vie de l'animal (Franc et Cadiergues, 1999). Même la vaccination est associée à un haut risque de transmission de l'infection. Les bovins vaccinés reçoivent une dose d'endozoïtes atténués et développent l'infection mais sous une forme moins sévère que chez les animaux non vaccinés (Shkap et al., 1984).

Pour l'ensemble de ces raisons, il est préférable de mettre en place des mesures préventives telles que l'élimination des bovins infectés, le contrôle des insectes piqueurs (applications d'insecticides ou régie en bâtiment) et la non-importation des animaux à risque (Alzieu et al., 2007).

Pour l'instant, avec les informations disponibles à ce jour sur la maladie, il est difficile de croire que des mesures de prévention ou des traitements seraient réalisables chez les populations de caribous et de rennes sauvages. Cependant, les mesures de prévention et des avenues de traitement pourraient être réalistes chez l'espèce *R. tarandus* élevés dans des élevages ou conservés en institution zoologique. Par exemple, la régie en bâtiment a été une option pour éviter une épidémie de *B. tarandi* chez des rennes et des caribous dans un zoo canadien (Glover et al., 1990).

1.2.6 Impacts potentiels des infections à *B. tarandi* chez les individus

À ce jour, aucune étude n'a évalué la charge parasitaire individuelle de kystes de *B. tarandi* chez *R. tarandus* et la sévérité des infections rapportée dans la littérature varie d'infections sous-cliniques à des infections très marquées et débilitantes (Hawden and Palmer, 1922; Wobeser, 1976; Rehbinder, 1981; Lewis, 1992). Nous allons donc évaluer les impacts potentiels des infections à *B. tarandi* sous deux angles, soit l'effet de la charge parasitaire individuelle et les tissus ciblés par ce parasite.

Puisque les informations sur les densités parasitaires retrouvées chez les caribous ou les rennes infectés manquent, nous allons nous baser sur la théorie de la distribution des charges parasitaires retrouvées au sein de la majorité des populations animales. Cette théorie avance que la majorité des animaux d'une population abritent un faible nombre

de parasites tandis que quelques individus hébergent une charge parasitaire beaucoup plus élevée (Wobeser, 1976; Wilson et al., 2007). Les variations observées dans les charges parasitaires peuvent être reliées soit au niveau d'exposition et/ou à la susceptibilité des individus au parasite (Wilson et al., 2007). Par exemple, l'exposition accrue des caribous aux insectes piqueurs en été, soupçonnés de transmettre le parasite, pourrait expliquer l'augmentation de l'incidence des cas de besnoitiose rangiférine à la fin de l'été et au début de l'automne (Glover et al., 1990). L'exposition plus courte des veaux au parasite durant cette période pourraient également expliquer la plus faible prévalence retrouvée dans cette tranche d'âge (Hawden and Palmer, 1922; Glover et al., 1990). L'on pourrait supposer que si le parasite persiste dans les tissus des animaux infectés pendant des années, la densité des kystes augmenterait avec l'âge. Cependant, il n'existe aucune donnée sur ces valeurs ainsi que sur le taux de mortalité associé à l'âge des animaux infectés pour valider ou infirmer cette hypothèse.

D'autres facteurs peuvent également expliquer les variations dans les niveaux d'exposition à *B. tarandi* soit l'acquisition ou le développement de comportements (ex : d'évitement des arthropodes), la sélection d'habitat et le type de régie pour les animaux en captivité (Wilson et al., 2007; Glover et al., 1990).

Du côté de la susceptibilité des individus aux maladies, les animaux d'une population peuvent se défendre différemment pour contrer une infection ou un parasite. L'une des premières hypothèses pouvant expliquer ces variations est reliée à la pathogénécité de la souche en cause (Basson et al., 1970; Wilson et al., 2007). Cette hypothèse est peu probable pour *B. tarandi* car aucune variation génétique n'a été notée entre plusieurs isolats de *B. tarandi* provenant des régions subarctiques (Rosenthal, 2003). La susceptibilité des caribous à *B. tarandi* reflète donc plutôt leur habileté individuelle à reconnaître et à se défendre contre l'agresseur. La présence d'un infiltrat granulomateux autour de certains kystes est une indication que *B. tarandi* active l'immunité innée, et l'augmentation des niveaux d'anticorps en fonction de la sévérité des infections supporte l'activation de l'immunité acquise (Banque de données du

CCCSF; McGavin and Zachary, 2007). Bien que le système immunitaire cible ce parasite, on ignore à quel point il peut réduire la charge parasitaire.

La fonction du système immunitaire peut elle aussi être influencée par différents facteurs tels que l'immunocompétence, la génétique (ex : complexe majeur d'histocompatibilité), les hormones, le sexe de l'animal et la condition corporelle de l'animal (Wilson et al., 2007). Dans les articles scientifiques, le seul de ces facteurs mentionné en association avec les infections à *B. tarandi* chez les caribous et les rennes est la condition corporelle. Cependant, la condition corporelle des animaux infectés est variable et plutôt anecdotique car on rapporte des caribous émaciés et cachectiques tout autant que des caribous en excellent état de chair (Hawden and Palmer, 1922; Wobeser, 1976; Rehbindler, 1981; Lewis, 1992). On soupçonne que les infections à *B. tarandi* marquées puissent hausser les coûts énergétiques chez les caribous infectés et influencer leur condition corporelle puisque les bovins sévèrement atteints par *B. besnoiti* montrent souvent un faible indice de masse corporelle et de pauvres performances zootechniques (i.e. une baisse de la production laitière et de la fertilité) (Alzieu et al., 2007). À l'opposé, tout animal affaibli pourrait être plus à risque de s'infecter et de mal contrôler l'infection. Ainsi, toute variable pouvant influencer la condition corporelle d'un animal pourrait aussi modifier ses aptitudes à compenser les dommages causés par les parasites tels que de faciliter la réparation des tissus ou de remplacer des nutriments essentiels (Kumi-Diaka et al., 1981).

Nous venons de voir comment la charge parasitaire peut affecter la sévérité des infections à *B. tarandi* et ainsi moduler l'impact du parasite sur le caribou. L'affinité du parasite *B. tarandi* pour certains tissus nous permet aussi de croire qu'à partir d'une certaine charge parasitaire, le protozoaire peut influencer les systèmes locomoteur, cardio-respiratoire et reproducteur ainsi que la croissance des panaches des caribous les plus gravement infectés.

Chez les caribous parasités, *B. tarandi* se retrouve en très grande quantité dans les tissus cutanés et sous-cutanés ainsi que dans les tendons et les fascias des membres

(Choquette et al., 1967; Wobeser, 1976; Ayroud et al., 1995). Si on se réfère aux autres espèces, l'implication de *B. besnoiti* et de *B. bennetti* dans les infections du système locomoteur est bien documentée. Le développement d'œdème sur les membres et la présence de douleur associée à l'inflammation peuvent engendrer des difficultés locomotrices et de l'intolérance à l'exercice (Heerden et al., 1993; Renaud, 2004). L'intolérance à l'exercice pourrait également s'expliquer par l'atteinte des systèmes cardio-vasculaires et pulmonaires, un impact répertorié chez d'autres espèces animales atteintes de besnoitiose (Njenga et al., 1999a; Juan-Sallés et al., 2004). Chez les caribous, une association entre des enzymes sériques reflétant l'intégrité des cellules musculaires et la sévérité des infections à *B. tarandi* a été rapportée chez neuf animaux du troupeau Rivière-aux-Feuilles. Certains de ces caribous avaient également des problèmes à se déplacer (Banque de données du CCCSF). Ces résultats suggèrent que l'infection par *B. tarandi* a le potentiel d'affecter la mobilité et la résistance à l'exercice des caribous.

La présence de *B. tarandi* dans les testicules suscite beaucoup de questionnement quant à son impact sur la spermatogénèse des caribous. À ce jour, il n'existe aucune donnée scientifique qui supporte que *B. tarandi* agit sur leur fertilité (Leighton and Gajadhar, 2001). Un arrêt de la production de sperme a été noté chez des rennes mâles infectés à *B. tarandi* en présence de kystes et d'inflammation aux testicules, mais des précisions sur la saison de reproduction sont absentes et aucune conclusion ne peut en être tirée (Nikolaevskii, 1961). On ignore si la fièvre, soupçonnée d'être présente durant la phase aigüe de la maladie, pourrait avoir un impact sur la spermatogénèse. On soupçonne fortement que la présence de kystes de *B. tarandi* au testicule associée à une réaction inflammatoire marquée et l'obstruction des vaisseaux sanguins par des kystes pourraient diminuer l'apport sanguin dans les tissus responsables de la spermatogénèse (Ayroud et al., 1995). Cette association a été démontrée pour *Besnoitia besnoiti* et son impact sur la fertilité est l'une des conséquences les plus communes et les plus néfastes (Cortes et al., 2006a). Une diminution de la concentration, de la motilité et du

pourcentage de viabilité des spermatozoïdes a été notée dans le sperme de taureaux atteints de besnoitiose chronique modérée (Pols, 1960; Njenga, 1999b). Une modification de la température des testicules suite à des lésions au scrotum et au plexus pampiniforme a été soulevée comme facteur pouvant contribuer à la dégénérescence testiculaire observée (Kumi-Diaka et al., 1981).

Du côté des caribous femelles, la présence du parasite *B. tarandi* n'a jamais été rapportée dans leur système reproducteur et on ignore si cette infection parasitaire peut avoir un impact sur leur fertilité. Par contre, chez les bovins femelles, des kystes de *B. besnoiti* ont été notés dans l'endothélium des vaisseaux sanguins de l'endomètre et dans le myomètre du corps utérin et les cornes utérines. Bien qu'une réaction granulomateuse fût présente dans certains cas, les auteurs concluent que la présence des kystes et de l'inflammation de façon circonscrite ne devaient pas interférer avec le fonctionnement normal du système reproducteur d'une femelle infectée (Nobel et al., 1977). Des cas d'avortement ont été notés chez des chèvres infectées au moment de la phase aiguë mais cette conséquence semble plus reliée à la sévérité des signes cliniques (fièvre) et au risque d'avortement qu'à leur infertilité (Njenga et al., 1999b).

Chez les rennes, il est reconnu que les hormones stéroïdiennes (testostérone chez les mâles et œstradiol chez les femelles) régularisent le cycle de croissance et de développement des bois (Blake et al., 1998). Bien que le système hormonal impliqué dans le cycle de croissance des bois chez les cervidés ne soit pas entièrement élucidé, il a été noté que certaines affections testiculaires (ex : cryptorchidie, hypogonadisme, atrophie ou hypoplasie testiculaire) pouvant influencer la production d'hormones sexuelles, peuvent modifier le cycle de croissance et de développement des bois. Les différentes anomalies observées sont la rétention des velours, la présence de bois avec une structure inhabituelle ou atypique (ex : élargie, convexe) ou la présence de pédicules osseux (Veeramachaneni et al., 2006; Latch et al., 2008; Carrasco et al., 2009).

De tous les articles décrivant la présence de *B. tarandi* chez l'espèce *R. tarandus*, un seul cas de rétention des velours chez un renne mâle infecté est rapporté (Rehbinder et

al., 1981). Cependant, ce rapport n'indique pas si le parasite ou de l'inflammation ont été notés dans les structures testiculaires de cet animal. Lors d'un échantillonnage ciblé, presque la moitié des caribous du troupeau Rivière-aux-Feuilles échantillonnés (4/9) arboraient un panache anormal (rétention des velours ou des pointes de bois cassées). Tous ces caribous étaient des mâles et avaient simultanément des lésions testiculaires associées à la présence de kystes de *B. tarandi* (Banque de données du CCCSF).

1.2.7 Parasites et dynamiques des populations animales

Les informations provenant de cette recension de la littérature suggèrent que le parasite *B. tarandi* peut avoir un impact sur la santé des individus les plus affectés. Toutefois, il devient difficile d'évaluer l'impact de ce parasite sur la dynamique de population puisque l'on ignore le taux de mortalité relié à cette maladie et son impact sur la reproduction et donc, sur le taux de renouvellement. De plus, il semble que la proportion des caribous atteints et la sévérité des infections à *B. tarandi* varient en fonction des troupeaux échantillonnés (Annexe 1). Il est difficile de comparer ces pourcentages en raison du manque d'homogénéité des plans d'échantillonnage et des caractéristiques des animaux échantillonnés mais cela suggère la présence de variations géographiques relatives à la pression d'infection ou à la susceptibilité des individus.

Depuis quelques années, la communauté scientifique tente d'identifier les facteurs qui régulent la dynamique des populations animales (Wilson et al., 2007). Le terme « régulation » se réfère à la tendance d'une population à diminuer en nombre lorsqu'au-dessus d'un certain seuil limite et d'augmenter en nombre lorsque la population est sous ce seuil. Ainsi, tout processus qui peut influencer le nombre d'animaux qui entrent et qui sortent d'une population, a le potentiel de la réguler (Begon et al., 1996). Divers facteurs tels que la nourriture (qualité, abondance et disponibilité), leurs migrations, les conditions environnementales et climatiques, les insectes et la présence de prédateurs ont tous été documentés comme influençant la dynamique des

populations du caribou migrateur (Couturier et al., 2009). L'étude du rôle de chaque facteur régulateur ainsi que de leurs interactions demeurent très complexes.

Certains chercheurs ont développé un modèle théorique suggérant que certains pathogènes, dont les parasites, pourraient réguler les dynamiques des populations animales lorsqu'ils diminuent le taux de survie et/ou le taux de reproduction de la population hôte (Anderson and May, 1978). Présentement, nos connaissances sur les taux de mortalité de *B. tarandi* et de son impact sur le succès reproducteur des animaux sont limitées et ne nous permettent pas d'établir avec certitude que ce parasite joue un rôle dans la régulation des populations de *R. tarandus*.

1.3 Conclusion

Les inconnus entourant le cycle de transmission de *B. tarandi* et de ces impacts potentiels soulèvent donc plusieurs questions : Quel est le cycle de transmission du parasite? Est-ce que les caribous infectés demeurent porteurs à vie et servent ainsi de réservoir d'infection pour les autres animaux du troupeau? Dans quelle mesure l'implication des lésions cutanées affectent-elle la résistance des caribous au froid dans les régions subarctiques? Dans quelle mesure l'infection affecte-elle la mobilité et la résistance à l'exercice chez ces animaux migrants? L'atteinte des tissus testiculaires et les conséquences potentielles sur le panache et les fonctions reproductrices mâles influencent-ils le choix des partenaires, le taux de reproduction ou la qualité génétique des troupeaux?

1.4 Objectifs du projet

Ce projet de maîtrise a comme but d'approfondir les connaissances sur les infections à *B. tarandi* chez les caribous des régions subarctiques. Le présent mémoire est sous forme d'articles scientifiques qui seront soumis au Journal of Wildlife Disease.

La première étude discute de la détection optimale des infections à *B. tarandi* chez les caribous et comporte les deux objectifs suivants soit : (i) d'étudier la

distribution du protozoaire *B. tarandi* dans certains tissus afin de déterminer le meilleur tissu à échantillonner pour un diagnostic par l'examen microscopique et (ii) de calculer la sensibilité et la spécificité relatives de l'examen macroscopique des kystes tissulaires en fonction des résultats de l'examen microscopique.

Le deuxième article porte sur l'épidémiologie de la maladie et comporte deux autres objectifs distincts soit : (iii) d'identifier les facteurs de risque associés aux infections à *B. tarandi* chez le caribou afin (iv) de comparer la prévalence et l'intensité de ces infections entre les troupeaux échantillonnés.

Chapitre 2 – Premier article scientifique

ANATOMIC DISTRIBUTION OF *BESNOITIA TARANDI* CYSTS IN BARREN-GROUND CARIBOU (*RANGIFER TARANDUS*): IMPLICATIONS FOR DIAGNOSIS AND MONITORING

Julie Ducrocq,¹ Guy Beauchamp,² Susan Kutz,³ Manon Simard,⁴ Brett Elkin,⁵ Bruno Croft,⁵ Joëlle Taillon,⁶ Steeve D. Côté,⁶ Vincent Brodeur,⁷ Mitch Campbell,⁸ Dorothy Cooley,⁹ Christine Cuyler¹⁰ and Stéphane Lair^{1,11}

¹ Canadian Cooperative Wildlife Health Centre / Centre québécois sur la santé des animaux sauvages, Université de Montréal, Faculté de médecine vétérinaire, 3200 rue Sicotte, St-Hyacinthe, Québec, Canada, J2S 2M2

² Université de Montréal, Faculté de médecine vétérinaire, 3200 rue Sicotte, St-Hyacinthe, Québec, Canada, J2S 2M2

³ University of Calgary, Faculty of Veterinary Medicine, 3330 University Drive NW, Calgary, Alberta, Canada, T2N 4N1

⁴ Makivik Corporation, Nunavik Research Center, P.O. Box 179, Kuujjuaq, Québec, Canada, J0M 1C0

⁵ Government of the Northwest Territories, Environment and Natural Resources, Wildlife and Fisheries, 5th Floor, Scotia Building, 5102-50th Ave, Yellowknife, Northwest Territories, Canada, X1A 3S8

⁶ Université Laval, Département de biologie and Centre for Northern Studies, Pavillon Alexandre-Vachon, 1045 avenue de la Médecine, Québec, Québec, Canada, G1V 0A6

⁷ Ministère des Ressources naturelles et de la Faune, Direction de l'expertise Énergie-Faune-Forêts-Mines-Territoire du Nord-du-Québec, 951 boul. Hamel, Chibougamau, Québec, Canada, G8P 2Z3

⁸ Government of Nunavut, Department of Environment, Kivalliq Region. P.O. Box 120, Arviat, Nunavut, Canada, X0C 0E0

⁹ Yukon Department of Renewable Resources, Box 600, Dawson City, Yukon, Canada, Y0B 1G0

¹⁰ Greenland Institute of Natural Resources, Postboks 570, Nuuk, Greenland 3900

¹¹ Corresponding author

2.1 ABSTRACT

Although *Besnoitia tarandi* appears to be a significant parasite in reindeer and caribou populations worldwide, the monitoring method of this parasite has not been standardized. The objectives of this study were to (i) determine which of four anatomical sampling sites had the highest probability of detecting parasitic cysts in caribou and (ii) to evaluate the relative sensitivity and specificity of *in situ* macroscopic assessment of these areas compared to their microscopic evaluation. The conjunctiva and skin sections from the rostrum, metatarsus and thigh were sampled from 312 harvested caribou. Tissues were fixed in buffered 10% formalin and analyzed microscopically to determine the density of *B. tarandi* cysts in the submucosal or dermal region. *In situ* macroscopic evaluation of all four sites was performed on 244 of these caribou. The likelihoods of detecting *B. tarandi* infection by microscopic examination of the skin from the metatarsus and rostrum were statistically similar but higher than for the conjunctiva and thigh. However, *B. tarandi* cyst density was higher in the metatarsus skin section than of all three other tissues. These results suggest that the microscopic evaluation of skin sampled from the metatarsal region could be used as a standardized comparative indicator of the density of *B. tarandi* infection in *Rangifer*.

Key words: *Besnoitia tarandi*, barren-ground, caribou, disease, parasite, protozoa, *Rangifer tarandus*

2.2 INTRODUCTION

Some host-parasite interactions are likely to be affected by global and regional climate changes, especially in the Arctic and Subarctic regions where models are predicting significant increases in average temperature (IPCC, 2007). Monitoring of the dynamic between the different hosts and their parasites in these regions has been

advocated to better understand and evaluate the impact that these environmental changes will have on the Arctic and Subarctic biodiversity (Kutz et al., 2009). The protozoa *Besnoitia tarandi*, which is found in caribou, a key species of this Arctic and Subarctic ecosystem, is one of the species of parasite that could potentially be monitored. Caribou and reindeer (*Rangifer tarandus*) are the primary intermediate host of this parasite which has been reported throughout most of the range of these subspecies in North America and Eurasia (Hawden and Palmer, 1922; Choquette et al., 1967; Nikolaevskii, 1961; Reh binder et al., 1981; Dubey et al., 2004). Even if the transmission cycle of *Besnoitia tarandi* is not fully understood, it is believed that this protozoon parasite cycles through a predator-prey system with a carnivore as the definitive host (Dubey et al., 2004). In addition to that, epidemiological observations, such as the transmission of *B. tarandi* between spatially segregated captive intermediate hosts and the occurrence of clinical manifestations at the end of the insect season, support the hypothesis that biting arthropods may be important vectors of *B. tarandi* for caribou (Glover et al., 1990). Consequently, if it is assumed that climate change will have an impact on biting insect abundances, the occurrence and intensity of *B. tarandi* infections might change accordingly.

Alopecia, thickening, ulceration and secondary infections of the skin are the most frequent changes observed in caribou infected by this parasite. Lesions are mainly found on the head, the lower limbs and the scrotum. Microscopically, *B. tarandi* cysts measure between 200 and 400 μm and are often adjacent to blood vessels and in tissues with high densities of fibroblasts. Affected tissues include the dermis, subcutaneous fascias, tendons and associated sheaths, periosteum, muscle fascias, lungs and testes (Ayroud et al., 1995).

Even if mild infections by *B. tarandi* appear to be asymptomatic and are assumed to have a low health impact on the animal, this parasite can also cause serious disease in heavily infected individuals (Wobeser, 1976). Anecdotal reports by subsistence and recreational hunters suggest that the prevalence and density of *B. tarandi* infection has increased in some North American barren-ground caribou populations (Kutz et al., 2009). Post mortem examination of caribou with reduced mobility or in poor body condition from the Rivière-aux-Feuilles herd (Québec, Canada) suggested that the

clinical signs observed were likely a consequence of intense infections by *B. tarandi* (Canadian Cooperative Wildlife Health Center Database). Although *B. tarandi* appears to be a parasite that could potentially be detrimental to reindeer and caribou populations worldwide (Leighton and Gajadhar, 2001), the way to monitor this parasite has not been standardized, limiting the ability to compare infection patterns across temporal and spatial scales. The presence of parasitic cysts, characterized by white to translucent spherical nodules of 0.5 to 1.0 mm, visible on the bulbar conjunctiva and other affected tissues have been used to monitor this condition (Ayroud et al., 1995). However the sensitivity and the specificity of this method have not been determined (Ayroud et al., 1995; Dubey et al., 2004)

The general objective of this study was to suggest a standard and sensitive method to evaluate the level of *B. tarandi* infection in caribou. The specific objectives were (i) to determine which of four different anatomical sampling sites was the most sensitive for detecting *B. tarandi* cysts by microscopy; (ii) to evaluate the representativeness of each sampled tissue compared to the average density in the four sampling sites and (iii) to evaluate the relative sensitivity and specificity of the macroscopic assessment of the bulbar conjunctiva, the skin/subcutaneous tissues compared to a microscopic evaluation of these same sites.

2.3 MATERIALS AND METHODS

2.3.1 Tissue sampling

Between June 2007 and November 2008, tissue samples were collected from harvested barren-ground caribou by members of the Circum-Arctic Rangifer Monitoring and Assessment network (CARMA). Most of these collections occurred during ongoing caribou herd health assessment and monitoring activities and were sampled either during community subsistence harvesting or scientific collection. Three skin sections, as well as the conjunctiva were sampled from each carcass. The conjunctiva sample was collected on the bulbar and palpebral aspects of the left eye. Full thickness skin sections at least 2 cm² in surface were taken from the dorsal aspect of the rostrum (approximately 5 cm from the caudal margin of the rhinarium), the anterior aspect of the left mid-third portion

of the metatarsus and the internal aspect of the left thigh (about 10 cm ventrally from the groin).

A total of 312 caribou were sampled from the following North American herds: during community subsistence harvesting for Bluenose West (~67°N, 122°W; n=13) and during scientific collection for Bathurst (~63°N, 110°W; n=87), Porcupine (~67° N, 140° W; n=10) and Southampton Island (~64°N, 85°W; n=47), Rivière-George (~57°N, 65°W; n=71) and Rivière-aux-Feuilles (~60°N, 73°W; n=84).

2.3.2 *Besnoitia tarandi* assessment

The sampled tissues were fixed in 10% neutral buffered formalin and later embedded in paraffin wax, sectioned 4 μ m thick and stained with hematoxylin, phloxine and saffron (Luna, 1968). The sections were examined by light microscopy by the primary author (JD). Diagnosis of infection with *B. tarandi* was made upon the observation of at least one cyst with the characteristic morphology of this species of protozoan.

Prevalence (%) was based on the percentage of caribou in which *B. tarandi* was detected (Dubey et al., 2004). For each section with at least one cyst, the field of superficial dermis or submucosa presenting the highest density of cysts was photographed with a 2X magnification lens using a Nikon DS-Fi1 camera and the *NIS-Element F.3.0 Imaging Software* (Annexe 2). Each photographed field measured 6.3 x 4.7 mm, and was oriented parallel to the epidermis. The density of cysts (number of *B. tarandi* cysts/mm²) was calculated for each photographed field using an image tool software (UTHSCSA *ImageTool* for windows version 3.0) (Rozsa et al., 2000). The measured area consisted of the dermis extending from the epidermis of the skin to the base of the hair follicles and neighboring glands. For the conjunctiva, the entire submucosa on the photograph was evaluated. Even if cysts were visible in the deeper layers of the skin sections (i.e. dermis), only those in the measured area were considered for the calculation of cyst density. However, caribou were still considered positive or infected if cysts were only observed outside of the measured area. The average *B. tarandi* cyst density was calculated for each caribou and was defined by the summation of densities found in each of the sampled tissues divided by four. However, because the distribution of the average *B. tarandi* cyst density demonstrated an aggregated (right-

skewed) distribution, the median value of these averages was used to represent this value in the sampled population (Table 1).

Macroscopic assessment of the presence of *B. tarandi* cysts on the conjunctiva and the hypodermis originating from the rostrum, metatarsus and thigh was done by local investigators on 244 of the 312 harvested caribou. Local investigators were presented a training video on CARMA protocols for *B. tarandi in situ* evaluation.

B. tarandi cysts, defined as translucent to white, round and elevated structures \leq 1 mm in diameter (refer to Chapter 1, Figure 3), were noted by the observers and quantified on a representative section using predetermined density categories: "None"; "Few cysts" = \leq 4 cysts/cm²; "Medium cysts" = 5-10 cysts/cm² and "Many cysts" = $>$ 10 cysts/cm².

2.3.3 Statistical analysis

Multivariate regression models were used (SAS Institute Inc., version 9.1.2., Cary, North Carolina, USA) to examine how *B. tarandi* prevalence and cyst density varied among different anatomical sampling sites. In these models, sampled tissues were considered as a within-subject factor and *B. tarandi* status (i.e. infected versus non-infected) was logit transformed. A caribou was considered negative when no cysts were observed in any of the histological sections and a multivariate logistic regression model was used to examine *B. tarandi* status (positive or negative). Since cyst densities had an aggregated (right-skewed) distribution, they were analyzed using a negative binomial regression model. In this model, only infected animals were included and the natural logarithm of the area examined (mm²) was used as an offset. For all pairwise comparisons, α level was adjusted downward using the sequential Bonferroni procedure to maintain the overall probability of a type I error at 0.05 (Rice, 1989). Confidence intervals were calculated using the Delta method (Agresti, 2002).

Gender (male or female), age classes (calves = $<$ 12 months; sub-adult = 12-36 months; adults = $>$ 36 months) and harvest period (winter/fall or spring/summer) were included in both models in order to control for their effect (CARMA, 2008). These variables have been reported to be important risk factors influencing *B. tarandi* prevalence and/or cyst density (Ducrocq et al. 2010).

Prevalence estimated during *in situ* macroscopic assessment of all four anatomical sampling sites was compared to the results of the microscopic evaluation by calculating relative sensitivity and specificity for a given prevalence. These values are not true values, but instead relative to the microscopic evaluation, since the sensitivity of the histological examination is unknown and likely not 100%. However, because of the highly characteristic morphology of *Besnoitia* spp. cysts, it is reasonable to assume that the specificity of the microscopic examination is 100%. Because most of the *in situ* macroscopic "Few cysts", "Medium cysts" and "Many cysts" categories included less than ten individuals, these categories were all merge into one category ("presence of cysts"). Comparisons between *B. tarandi* densities (# cysts/mm²) measured by microscopic examination according to the presence or absence of *in situ* macroscopic cysts for each anatomical sampling site were performed using a two-sample t-test for unequal variances and the probability of a type I error was set at 0.05.

2.4 RESULTS

Besnoitia tarandi cysts were detected by microscopy in 83 of the 312 animals (26.6% [21.8 – 31.9; 95% CI]) (Table 1). Of the 83 infected caribou, the median of the average cyst density was 0.17 cysts of *B. tarandi* per mm². Median density of *B. tarandi* cysts per anatomical sampling site was 0.20 cysts per mm² in the metatarsus, 0.13 cysts per mm² in the rostrum, 0.05 cysts per mm² in the conjunctiva and 0.07 cysts per mm² in the thigh (Table 1).

Within an animal, the odds of detecting *B. tarandi* cysts were similar in the rostrum and the metatarsus (Table 2). The odds of detecting parasitic cysts in the rostrum or the metatarsus were approximately 1.5 times higher than for the conjunctiva and were approximately 1.7 times higher than for thigh (Table 2).

The density of cysts was at least 1.5 times higher in the skin sections originating from the metatarsus compared to those from the rostrum and the thigh (Table 2). The density of cysts in the rostrum and the metatarsus were, respectively, two and three times higher than in the conjunctiva. The density of *B. tarandi* cysts was approximately 40% lower in males than in females (IR= 0.6 [0.4 – 1.0; 95% CI] $P= 0.03$). *B. tarandi* cyst density did not differ according to age class ($P= 0.3$) or season of harvest ($P= 0.9$).

The relative sensitivities of the *in situ* macroscopic assessments were generally low, ranging from 0.13 for the thigh to 0.29 for the conjunctiva, in contrast to the relative specificities that ranged from 0.98 to 1.00.

Median *B. tarandi* cyst densities as determined by microscopy were statistically higher in caribou where cysts were detected at the macroscopic level (Table 3). This finding was highly significant for all four anatomical sampling sites (All *P* values < 0.03).

2.5 DISCUSSION

This study revealed that the odds of detecting infections caused by *B. tarandi* in caribou vary depending on the anatomical sampling site. The metatarsus and rostrum skin sections had the highest but equal probabilities of cyst detection of all four anatomical sampling sites. However, the metatarsus harbored significantly higher densities of *B. tarandi* cysts than the rostrum, thigh or conjunctiva and could therefore increase the odds of detecting a positive caribou. Consequently, these results show that skin from the metatarsus should be the preferred sample to use for animal and herd comparison. Interestingly, the metatarsus is already collected in most caribou health monitoring programs (CARMA, 2008).

Prevalence estimated from data acquired by microscopic examination of skin sections likely underestimates true prevalence. Failures to detect *B. tarandi* infection with this method most likely occur in animals with low cyst densities, the threshold limit for microscopic detection still being undetermined. False negative results may also occur in animals sampled between the acquisition of infection and the development of cysts in the dermis or subcutaneous tissue (up to six weeks for bovine besnoitiosis) (Pols, 1960). Variations in genetic resistance to disease, acquired immunity and level of exposure may account for some of the variability in the establishment time within or across herds (Wilson et al., 2007). Therefore, estimated prevalence using microscopic examination represents a minimum estimate of the actual prevalence in a group of sampled animals. Since the chance of detecting a cyst on a histological section is likely linked to the density of *B. tarandi* cysts, it can be assumed that underestimation of the prevalence of

B. tarandi decreases as the average cysts density of a herd increases, and this independently of the age of the caribou and the sampled site.

The quantitative microscopic estimation method that was used to measure *B. tarandi* cysts density was relatively easy to perform. However, because few caribous harbor parasites outside of the field used for calculating cyst density, average cyst densities in a herd could be slightly underestimated with this technique.

In situ macroscopic assessment of the conjunctiva, skin and subcutaneous tissues for the presence of cysts has been used to monitor the occurrence of *B. tarandi* in caribou (Glover et al., 1990; Lewis, 1992). This study showed that the macroscopic evaluation markedly underestimates prevalence in caribou. Interestingly, in some cases, tentative gross diagnoses of infection by *B. tarandi* were not confirmed upon microscopic examination. It is possible that *B. tarandi* cyst were truly present in the tissues of some of these caribou but that cyst density was below the microscopic detection. However, lymphoid nodules, which are often present in the conjunctiva, could also be potentially mistaken for *Besnoitia* sp. cysts. The density threshold for visual diagnosis is also unknown and might vary between the multiple observers in this study.

Tissues macroscopically classified as positive for *B. tarandi* harbor significantly higher densities of cysts than tissues in which no cyst was detected grossly. Here, a low number of observations in several of the established macroscopic density categories prevented us from evaluating the validity of the scoring system used in the macroscopic determination of the intensity of *B. tarandi* infection. Despite the aforementioned limitations, *in situ* macroscopic assessment could still provide a rough index of the occurrence of *B. tarandi* at the individual or population scale and might be used to monitor gross regional and temporal variations. However, results show that the chance of detecting parasitic cyst by macroscopic examination is directly linked to cyst density which varies at the mentioned scales. Hence, odds of detecting an infected caribou by macroscopic examination will be higher in individuals harboring higher densities of cysts compared to individuals with lower loads. The same principle applies to herds; prevalence of *B. tarandi* infection will be less underestimated in populations with caribou harboring overall superior cyst densities compared to herds in which caribou have lower concentrations of cysts in their tissues.

In conclusion, microscopic evaluation of a skin section from the anterior aspect of the mid-third portion of the metatarsal region could be used as a standardized comparative indicator of density of *B. tarandi* infection in *Rangifer*. Despite a low sensitivity, macroscopic assessment in-the-field may provide a rough index of the occurrence of this parasite.

2.6 ACKNOWLEDGMENTS

We wish to thank the Government of Canada's International Polar Year Program for the financial support awarded to the CARMA network and to the following collaborators for their in-kind support throughout the project: Université Laval, University of Calgary, Government of Nunavut, Government of Yukon, University of Saskatchewan, Nunavik Research Center, Government of the Northwest Territories, Greenland Institute of Natural Resources and Ministère des Ressources naturelles et de la Faune du Québec. We also would like to acknowledge the participation of hunters from the Greenland, Yukon, Northwest Territories, Nunavut and Nunavik. We also thank Dean Brown at the University of Calgary and the staff of the *Centre québécois sur la santé des animaux sauvages FauneEnNord* for their help.

2.7 LITERATURE CITED

- AGRESTI, A. 2002. Categorical data analysis. 2nd Edition. John Wiley and Sons (eds). Hoboken, New Jersey, USA, pp. 1-710.
- AYROUD, M., F. A. LEIGHTON AND S. V. TESSARO. 1995. The morphology and pathology of *Besnoitia* sp. in reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*). Journal of Wildlife Disease 31: 319–326.
- CARMA. 2008. *Rangifer* health and body condition monitoring manual. Gunn, A. and Nixon, W. (eds). CircumArctic Rangifer Monitoring and Assessment Network. 25 pp.
- CHOQUETTE, L. P., E. BROUGHTON, F. L. MILLER, H. C. GIBBS AND J. G. COUSINEAU. 1967. Besnoitiosis in barren-ground Caribou in Northern Canada. Canadian Veterinary Journal 8: 282–287.
- DOHOO, I., W. MARTIN AND H. STRYHN. 2007. Veterinary epidemiologic research. 2nd Edition. M. S. McPike (ed). AVC Inc., Charlottetown, Canada, 706 pp.
- DUBEY, J. P., C. SREEKUMAR, B. M. ROSENTHAL, M. C. VIANNA, M. NYLUND, S. NIKANDER AND A. OKSANEN. 2004. Redescription of *Besnoitia tarandi* (Protozoa: Apicomplexa) from the reindeer (*Rangifer tarandus*). International Journal for Parasitology 34: 1273–1287.
- GLOVER, G. J., M. SWENDROWSKI AND R. J. CAWTHORN. 1990. An epizootic of besnoitiosis in captive caribou (*Rangifer tarandus caribou*), reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) and mule deer (*Odocoileus hemionus hemionus*). Journal of Wildlife Disease 26: 186–195.

- HAWDEN, S. AND L.J PALMER. 1922. Reindeer in Alaska. Bulletin No.1089, Washington. U.S.Department of Agriculture (ed). 69 pp.
- IPCC. 2007. Climate Change 2007: The physical science basis. Contribution of working Group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Salomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K. B., Tignor, M., and Miller, H. L. (eds). Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. 996 pp.
- KUTZ, S. J., E. J. JENKINS, A. M. VEITCH, J. DUCROCQ, L. POLLEY, B. ELKIN AND S. LAIR. 2009. The Arctic as a model for anticipating, preventing, and mitigating climate change impacts on host–parasite interactions. *Veterinary Parasitology* 163: 217–228.
- LEIGHTON, F. A. AND A. A. GAJADHAR. 2001. *Besnoitia* spp. and besnoitiosis. *In: Parasitic Disease of Wild mammals*. 2nd Edition. W. M. Samuel, M. J. Pybus, and A. A. Kocan (eds). Iowa State University Press, Iowa, pp. 468–478.
- LEWIS, R. J. 1992. *Besnoitia* infection in game-farmed reindeer: A trial to determine susceptibility of domestic cattle and mule deer. *Canadian Veterinary Journal* 33: 76–77.
- LUNA, L. G. 1968. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rd Edition. McGraw-Hill Book Company, New York, New York, 258 pp.
- NIKOLAEVSKII, L. D. 1961. Disease of Reindeer. 2nd Edition. Zhigunov P.S. (ed). Israel program for scientific translation, Moskow, pp. 266–268.
- POLS, J. W. 1960. Studies on bovine besnoitiosis with special reference to its aetiology. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 28: 265–356.

- REHBINDER, C., M. ELVANDER AND M. NORDKVIST. 1981. Cutaneous besnoitiosis in a Swedish reindeer (*Rangifer tarandus L.*). *Nordisk Veterinaermedicin* 33: 270–272.
- RICE, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223–225.
- ROZSA, L., J. REICZIGEL AND G. MAJOROS. 2000. Quantifying parasites in samples of hosts. *The Journal of Parasitology* 86: 228–232.
- WILSON, K., O. N. BJORNSTAD, A. P. DOBSON, S. MERLER, G. POGLAYEN, S. E. RANDOLPH, A. F. READ, AND A. SKORPING. 2007. Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes. *In: The ecology of wildlife disease*. P. J. Hudson, A. Rizzoli, B. T. Grenfell, H. Heesterbeek, and A. P. Dobson (eds). Oxford University Press, New York, pp. 6–44.
- WOBESER, G. 1976. Besnoitiosis in a woodland caribou. *Journal of Wildlife Disease* 12: 566–571.

TABLE 1. Prevalence and density of *Besnoitia tarandi* cysts by anatomical sampling site as determined by microscopic examination. Density of *B. tarandi* cysts relates to positive animals only.

Anatomical sampling site (s)	Caribou evaluated (n=312)			Density of <i>B. tarandi</i> cysts (n=83) (cysts/mm ²)	
	N	Prevalence (%)	Exact binomial (95% CI)	Median	Range (min-max)
Conjunctiva	44	14.1	10.5 – 18.5	0.05	0 – 1.23
Rostrum	65	20.8	16.5 – 25.8	0.13	0 – 3.81
Metatarsus	69	22.1	17.6 – 27.1	0.20	0 – 5.01
Thigh	38	12.2	8.8 – 16.3	0.07	0 – 3.58
All four sites	83	26.6	21.8 – 31.9	0.17 ^a	0 – 2.24

^a This value represent the median value of the individual averages of *B. tarandi* cyst density. The latter term is defined by the summation of cyst densities in each sampled tissue divided by four.

TABLE 2. Regression models for *Besnoitia tarandi* prevalence and density of *B. tarandi* cysts as determined by microscopic examination. Gender, season and age class were included in the model in order to control for their effect.

Anatomical sampling sites	<i>B. tarandi</i> prevalence (n=312)				Density ^a of <i>B. tarandi</i> cysts (n=83)		
	Odds ratio	95% CI	P value		Incidence ratio	95% CI	P value
Conjunctiva	1	-	-		1	-	-
Rostrum	1.5	1.2–1.8	0.0003 ^b		1.9	1.4–2.7	<0.0001 ^b
Metatarsus	1.5	1.2–1.9	0.0002 ^b		3.0	2.3–3.8	<0.0001 ^b
Thigh	0.9	0.7–1.1	0.2		1.4	0.9–2.3	0.1
Rostrum	1	1.0	-		1	-	-
Metatarsus	1.0	0.9–1.2	0.6		1.5	1.2–1.9	0.0005 ^b
Thigh	0.6	0.5–0.7	<0.0001 ^b		0.74	0.5–1.2	0.2
Metatarsus	1	1.0	-		1	-	-
Thigh	0.6	0.4–0.7	<0.0001 ^b		0.5	0.3–0.7	0.001 ^b

^a Density of *B. tarandi* cysts relates to positive animals only; ^b Differences statistically significant after Bonferroni correction.

TABLE 3. *Besnoitia tarandi* densities (number of cysts/mm²) measured by microscopic examination according to the gross visual assessment for each anatomical site evaluated.

Anatomical sites	Gross visual assessment				Two-sample t-test for unequal variances (<i>P</i>)
	No cyst		Presence of cysts		
	N	Median cyst density by histology (range)	N	Median cyst density by histology (range)	
Conjunctiva	218	0 (0 – 1.18)	26	0.29 (0 – 1.23)	< 0.0001
Rostrum	224	0 (0 – 3.81)	20	0.37 (0 – 2.71)	0.004
Metatarsus	222	0 (0 – 4.21)	22	1.27 (0 – 5.01)	0.0001
Thigh	234	0 (0 – 1.02)	10	0.75 (0 – 3.58)	0.03

Chapitre 3 – Deuxième article scientifique

EPIDEMIOLOGY OF *BESNOITIA TARANDI* IN CIRCUM-ARCTIC BARREN-GROUND CARIBOU (*RANGIFER TARANDUS*)

Julie Ducrocq,¹ Guy Beauchamp,² Susan Kutz,³ Manon Simard,⁴ Brett Elkin,⁵ Bruno Croft,⁵ Joëlle Taillon,⁶ Steeve D. Côté,⁶ Vincent Brodeur,⁷ Mitch Campbell,⁸ Dorothy Cooley,⁹ Christine Cuyler¹⁰ and Stéphane Lair^{1,11}

¹ Canadian Cooperative Wildlife Health Centre / Centre québécois sur la santé des animaux sauvages, Université de Montréal, Faculté de médecine vétérinaire, 3200 rue Sicotte, St-Hyacinthe, Québec, Canada, J2S 2M2

² Université de Montréal, Faculté de médecine vétérinaire, 3200 rue Sicotte, St-Hyacinthe, Québec, Canada, J2S 2M2

³ University of Calgary, Faculty of Veterinary Medicine, 3330 University Drive NW, Calgary, Alberta, Canada, T2N 4N1

⁴ Makivik Corporation, Nunavik Research Center, P.O. Box 179, Kuujuaq, Québec, Canada, J0M 1C0

⁵ Government of the Northwest Territories, Environment and Natural Resources, Wildlife and Fisheries, 5th Floor, Scotia Building, 5102-50th Ave, Yellowknife, Northwest Territories, Canada, X1A 3S8

⁶ Université Laval, Département de biologie and Centre for Northern Studies, Pavillon Alexandre-Vachon, 1045 avenue de la Médecine, Québec, Québec, Canada, G1V 0A6

⁷ Ministère des Ressources naturelles et de la Faune, Direction de l'expertise Énergie-Faune-Forêts-Mines-Territoire du Nord-du-Québec, 951 boul. Hamel, Chibougamau, Québec, Canada, G8P 2Z3

⁸ Government of Nunavut, Department of Environment, Kivalliq Region. P.O. Box 120, Arviat, Nunavut, Canada, X0C 0E0

⁹ Yukon Department of Renewable Resources, Box 600, Dawson City, Yukon, Canada, Y0B 1G0

¹⁰ Greenland Institute of Natural Resources, Postboks 570, Nuuk, Greenland 3900

¹¹ Corresponding author

3.1 ABSTRACT

Besnoitia tarandi has been described in *Rangifer* sp. for over 80 years, however its epidemiology remains poorly understood. We evaluated the prevalence and intensity of *Besnoitia tarandi* infection in several barren-ground caribou herds and identified biotic and abiotic risk factors associated with this infection. Densities of *B. tarandi* cysts were determined by microscopic examination of formalin-fixed sections of skin from the anterior aspect of the metatarsus of caribou opportunistically collected from eight herds. *B. tarandi* was not observed in the two Greenland herds (n=96), but were found in approximately a third of the sampled caribou from six North-American herds (n=1004). The median density of cysts observed in the infected skin examined was 1.1 per mm². Caribou sampled in the late summer and autumn exhibited *B. tarandi* infections of greater prevalence and intensity, relative to caribou sampled in late winter and spring. This suggests biting arthropods are the vectors in the transmission cycle of this parasite. Alternately, the observed seasonal variation could also indicate higher winter mortality rates in heavily parasitized caribou or a reduction of the *B. tarandi* cysts burden during the winter months. The slightly higher apparent prevalence in males suggests either an overall weaker resistance or a higher exposure to this parasite, through gender specific use of the habitat or geographic range. Similarly, geographical variations in *B. tarandi* prevalence and intensity across herds may be attributed to either different levels of exposure to the parasite during the transmission months or variations in resistance of caribou to this parasite. The impact this parasitic disease may have on the fluctuations of caribou abundance remains unclear. Nevertheless, the relationship between *B. tarandi* and caribou merits further investigation, specifically in light of a changing Arctic environment.

Key words: *Besnoitia tarandi*, caribou, cervids, disease, epidemiology, parasite, protozoa, *Rangifer tarandus*.

3.2 INTRODUCTION

Infections with *Besnoitia tarandi* have been reported in reindeer and caribou (*Rangifer tarandus* spp.) across most of their Arctic and Subarctic ranges (Leighton and Gajadhar, 2001). Although isolated cases of *B. tarandi* infections have also been reported in mule deer (*Odocoileus hemionus*), roe deer (*Capreolus capreolus*) and sympatric muskoxen (*Ovibos Moschatus*) (Glover et al., 1990; De Luco et al., 2000; Leighton and Gajadhar, 2001), *R. tarandus* is considered the primary intermediate host for this protozoan parasite. The transmission cycle of *B. tarandi* in caribou and reindeer has not been completely elucidated but, based on known cycles of other species of *Besnoitia* spp., it is presumed to involve a two-host life cycle with carnivores as definitive hosts (Dubey et al., 2004). Currently, the identity of these definitive hosts is unknown; experimental infections of mice, rabbits, gerbils, domestic cats, raccoons, dogs and an arctic fox with *B. tarandi* being unsuccessful (Glover et al., 1990; Ayroud et al., 1995; Dubey et al., 2004). In contrast, transmission of *B. tarandi* between caribou and reindeer in captive settings, and occurrences of clinical disease following fly seasons support the suspicion that biting arthropods can directly transmit infectious stages of this protozoa between intermediate hosts (Glover et al., 1990). This mode of transmission has been described in other species of *Besnoitia*, e.g., *B. besnoiti* and *B. jellisoni* (Pols, 1960; Bigalke, 1967; Smith and Frenkel, 1984).

Besnoitia tarandi mature cysts have a particular tropism for rich connective and vascularized tissues such as skin and subcutaneous tissues and to a lesser extent lungs and testicular structures (Wobeser, 1976; Ayroud et al., 1995). Parasitic cysts are primarily found in the skin of the head, limbs and scrotum where they induce skin thickening, hair loss and cutaneous ulceration. Mature *B. tarandi* cysts, which measure between 200 and 400 μm and can be visualized macroscopically in affected tissues, have a highly characteristic microscopic morphology (Ayroud et al., 1995). Some of the cysts, specifically when degenerated or damaged, elicit an inflammatory reaction characterized by pericystic infiltrations of macrophages, lymphocytes and plasmacells (Wobeser, 1976; Dubey et al., 2004).

Mild infections by *B. tarandi* appear to be asymptomatic and are assumed to have a low impact on the health of infected animals; however, serious disease is observed in heavily infected individuals (Wobeser, 1976; Rehbinder et al., 1981). The marked thickening and ulceration of the skin present in affected animals appears to impair normal locomotion and may be potentially fatal in some cases (Canadian Cooperative Wildlife Health Center Database).

Recognizing that caribou populations fluctuate naturally over time, factors that contribute to these demographic fluctuations have been under the scrutiny of caribou stakeholders (Couturier et al., 2009). Factors suspected to modulate individual survival or reproductive fitness include energy expenditure associated with migration, availability and quality of food resources, anthropomorphic modifications of the caribou's habitat, global climate changes and pathogens (Wilson et al., 2007; Couturier et al., 2009). Although some pathogens have contributed to demographic trends of *R. tarandus* populations (Albon et al., 2002), their role of *B. tarandi* in caribou's population dynamics is still unclear and poorly understood.

Although *Besnoitia tarandi* has been described in *Rangifer* sp. for over 80 years (Hawden and Palmer, 1922), understanding its epidemiology is still relatively limited. We evaluated the prevalence and intensity of *Besnoitia tarandi* parasite infections in barren-ground caribou, which were sampled opportunistically from eight herds, and we discuss the biotic and abiotic risk factors associated with different levels of infection.

3.3 MATERIALS AND METHODS

3.3.1 Populations sampled

Between June 2007 and October 2009, collaborators involved in the Circum-Arctic Rangifer Monitoring and Assessment network (CARMA) sampled exactly a total of 1100 barren-ground caribou from six North American and two Greenlandic herds as part of ongoing health assessment and populations monitoring activities (Table 1). Caribou are grouped by herd, location of sampling, method of harvesting (random scientific collection, subsistence harvest or recreational hunting), gender (female or male), harvest period (spring/summer, fall/winter) and sampling years (first, second and

third). Age was determined by the cementum annual ring tooth technique of the incisors corrected as of June of each year for 892 of the caribou (Miller, 1974). Caribou were classified in one of the following age classes: Calf \leq 12 months; sub-adult = 12 – 36 months; adult \geq 36 months). Caribou whose exact age determination could not be determined were assigned to an age class according to their size and the extent of tooth wear (CARMA, 2008).

3.3.2 *Besnoitia tarandi* assessment

A full-thickness section of skin measuring at least 2 cm² in area was taken from the anterior aspect of the mid-third portion of the metatarsus region from each animal. These sections were fixed in 10% neutral-buffered formalin solution immediately, or after one cycle of freezing and thawing. Fixed tissues were later processed using standard histological techniques, i.e., embedded in paraffin wax, 4 μ m thick slices cut and stained with hematoxylin, phloxine and saffron (Luna, 1968). Methods used to determine the presence of infection and the density of *B. tarandi* cysts in skin sections have been described elsewhere and will be summarized here (Ducrocq et al., (2010). Diagnosis of infection with *B. tarandi* was made upon the observation of at least one cyst with the characteristic morphology of this species of protozoan and prevalence (%) is the percentage of caribou in which *B. tarandi* was detected (Dubey et al., 2004). Skin sections of approximately 0.5 by 1.0 cm were examined by photonic microscopy for the presence of *Besnoitia* spp. cysts. For each positive animal, the field of superficial dermis with the highest density of *B. tarandi* cysts was photographed with a 2X magnification lens using a Nikon DS-Fi1 camera and NIS-Element F.3.0 Imaging Software. Each photographed field measured 6.3 x 4.7 mm, and was oriented parallel to the epidermal surface. The measured area consisted of the dermis extending from the epidermis of the skin to the base of the hair follicles and adnexal structures. The density of cysts (total number of *B. tarandi* cysts/mm²) was then calculated for each photograph, and represents the density on the section of superficial dermis examined. For 18 caribou, *B. tarandi* cysts were not observed in the superficial dermis despite being present in the deeper layers of the dermis. Density of *B. tarandi* cysts in these cases was therefore considered to be equal to zero, even though these animals were infected by the parasite.

3.3.3 Statistical analysis

Regression models were used to identify potential risk factors associated with the measured *B. tarandi* prevalence and cyst density (SAS Institute Inc., version 9.2., Cary, North Carolina, USA). Prevalence at the population level was defined as the percentage of sampled caribou in which *B. tarandi* cysts were observed by microscopic examination of the entire section of skin. Individual prevalence data were analyzed with a multivariable logistic regression model. Density of *B. tarandi* cysts in tissue sections was used as a measure of intensity of infection and therefore refers only to animals in which *B. tarandi* cysts were detected. Since the number of cysts in the tissues exhibited a right-skewed distribution, this outcome was analyzed using negative binomial regression models. In this model, the natural logarithm of the area sampled (mm^2) was used as an offset.

For statistical analysis, samples were aggregated into two harvest periods, based on presence of biting insects (Toupin et al. 1996). Caribou sampled in the fall (September, October and November) and the winter (December, January and February) were pooled together. The second pooling included caribou sampled during spring (March, April and May) and summer (June, July and August). Centered age (age minus mean age or 2.5) and centered age squared (age minus mean age²) were also included in the models to examine linear and non-linear trends. Confidence intervals (95%) for odds ratios (logistic regression models) and incidence ratios (negative binomial regression models) were calculated using the Delta method (Agresti, 2002).

Following the determination of potential associations between the presence of *B. tarandi* cysts and some of the measured variables, the prevalence and cysts density were compared between subsets of herds with similar biotic and abiotic characteristics using regression models as described above. Each subset of herds was composed of caribou selected beforehand for age class, gender, harvest period and sampling year. This enabled us comparing three data subsets: Sub-adult/adult male caribou sampled in fall/winter during the first sampling year from the Bathurst (n=23), Bluenose West (n=17) and Rivière-aux-Feuilles (n=33) herds; Sub-adult/adult female caribou sampled in fall/winter during the first sampling year from the Bathurst (n=21), Rivière-George (n=14) and Rivière-aux-Feuilles (n=94); and Sub-adult/adult female caribou sampled in

fall/winter during the second sampling year from the Bathurst (n=12), Rivière-George (n=15) and Rivière-aux-Feuilles (n=164).

3.4 RESULTS

Besnoitia tarandi cysts were observed in 383 of the 1100 examined skin sections (34.8% [32.0 – 37.7; 95% CI]). Amongst the 383 positive caribou, the median density of cysts observed in the section examined was 1.11 per mm² (0 – 13; min – max). No *B. tarandi* cysts were detected in the caribou tissues sampled from the two Greenland herds (0% [0 – 3.8%; 95% CI]; n=96 females). The two Greenland herds were excluded from further analyses.

Significant associations were observed between the odds of being infected with *B. tarandi* and period of harvest, age, sampling year and gender (Table 2). The odds of detecting infected caribou were 2.1 times higher during the fall/winter period compared to the spring/summer samplings. Sampled caribou ranged in age from two days old to sixteen years. Changes in prevalence and relative density to caribou age are presented in figures 1A and 1B, respectively. Interestingly, the seasonal variations in odds of infection and in cyst densities are observed in both graphs since caribou were classified by 6 month intervals (Fig. 1A). *Besnoitia tarandi* infection was not detected in calves less than 3 months of age (Fig. 1A). The odds of being infected increase during the first years of life (centered age OR=1.14; $P<0.0001$) and decrease thereafter (centered age squared OR=0.98; $P<0.0001$). Caribou harvested during the second sampling year were also 1.8 times more likely to be infected than caribou sampled during the first sampling year. Male caribou had 1.2 times more likely to have *B. tarandi* cysts in the examined tissues than females while controlled for the other variables (Table 2).

Harvest period was the only variable found to have a significant influence on the intensity of infection by *B. tarandi* (Table 2). The density of cysts per mm² was 2.5 times higher in caribou sampled during the fall/winter period compared to the spring/summer period, and applied to all age classes (Fig. 1B). Average density of cyst was 30% higher in the second year compared to the first year, but this difference was not statistically significant ($P=0.09$). Gender ($P=0.8$), centered age ($P=0.1$) and centered age

squared ($P=0.8$) did not influence the density of *B. tarandi* cysts in the metatarsus skin section in infected animals.

No statistically significant difference was detected between subsets of herds in terms of prevalence of infection (Table 3). Densities of *B. tarandi* cysts were 5 times higher in sub-adult/adult males sampled in the fall/winter of the first sampling year from the Rivière-aux-Feuilles herd than densities found in sub-adult/adult males from the Bluenose West (IR=0.2 [0.1 – 0.5; 95% CI] $P=0.0005$). *Besnoitia tarandi* densities from the Rivière-aux-Feuilles sub-adult/adult males were also 2.5 times higher than densities found in sub-adult/adult males from the Bathurst herd, however, this difference was not statistically significant after the Bonferroni correction (IR=0.4 [0.2 – 1.0; 95% CI] $P=0.06$). Measured densities of *B. tarandi* cysts were significantly higher in sub-adult/adult females sampled in the fall/winter from the Rivière-aux-Feuilles herd than densities found in sub-adult/adult females from the Rivière-George or Bathurst herds during both sampling years (Table 3). Meanwhile, densities for sub-adult/adult females were similar between Rivière-George and Bathurst herds.

3.5 DISCUSSION

This study was made possible through the collaboration of several caribou stakeholders across the circum-arctic. Tissue sampling protocol was standardized but selection of animals varied among populations. Caribou harvested for scientific collection were randomly selected for assessing body condition and health but were often selected on a gender and age basis, according to each specific herd monitoring program. Therefore, these subgroups of animals are not truly representative of the studied population. Caribou harvested by subsistence and recreational hunters are not likely a random sample of the population, because hunters typically avoid sick animals or those in poor body condition. Assuming ill, thin or weak animals are more likely to harbor parasites (CCWHC database), it is probably fair to assume that prevalence and cyst density values are underestimated with this type of sampling. Therefore, interpretation of our study results should be made in light of these limitations.

There was no microscopic evidence of *B. tarandi* cysts in any of the metatarsal skin sections submitted from the Greenlandic herds. In addition, this parasite was not

detected in any of the other skin sections and internal viscera that were submitted from the 96 caribou sampled from these herds (data not shown). These results strongly suggest that *B. tarandi* is not present in Greenlandic caribou. To our knowledge, *B. tarandi* has never been reported in Greenland. Freedom of these herds from this parasite suggest that *B. tarandi* does not cycle in Greenland, either because competent vectors and definitive host for *B. tarandi* are not present, or because this parasite has never been introduced into this region. For the latter, caribou that historically migrated from North America to Greenland (Geist, 1998) would have had to have been free of this protozoon. However, caution is required because both collections consisted only of females sampled in spring, thus these observations may not be representative of the entire herd or other seasons. Finally, it is possible that *B. tarandi* occurs in Greenland but with cyst densities under the detection limit of the diagnostic method used in our study.

In contrast to Greenland, *B. tarandi* was commonly detected in the cutaneous tissues of all six of the North-American barren-ground caribou herds sampled. Infections by *B. tarandi* were diagnosed in approximately a third of the sampled caribou metatarsal skin. Skin from the anterior aspect of the metatarsus was the optimal sampling site for assessing the *B. tarandi* infection status in caribou (Ducrocq, 2010). Since the sensitivity of this method is not 100%, the *B. tarandi* prevalence's we report for the sampled caribou populations are underestimates. Average cyst densities for a specific herd may also be underestimated. Since this was based on metatarsus skin infection and caribou can harbor the parasites elsewhere than the metatarsus.

Prevalence and intensity of infection by *B. tarandi* differed depending on harvest period, sampling year, age, gender and herd. Higher *B. tarandi* apparent prevalence and density of infection in caribou sampled following the summer season leads us to suspect biting arthropods are vectors for their transmission cycle (Glover et al., 1990). Caribou are exposed to biting (mosquitoes and black flies) and parasitic insects (warbles and bots) of the *Diptera* order during the post-calving months (late June-August) (Toupin et al. 1996; Leslie Witter, pers. comm.). Transmission of *B. besnoiti* by bloodsucking and biting arthropods of the *Diptera* order has been demonstrated in cattle, consequently it is thought that these vectors play a dominant role for transmission of *B. tarandi* in caribou (Bigalke, 1968). Nonetheless, this does not rule out the existence of a definitive host in

the transmission cycle of this parasite (Dubey et al., 2004). An answer to the seasonal variation in *B. tarandi* load may perhaps be found in a possible seasonal variation in exposure of caribou to the feces of possible definitive hosts caused by caribou alternating between their summer and winter ranges.

The lower densities of *B. tarandi* cysts in the spring/summer caribou skin sections might be the result of elimination of *B. tarandi* cysts from the dermis during the insect free winter season. Histological tissue sections demonstrated phagocytic inflammatory cells surrounding some degenerate *B. tarandi* cysts. This indicates that an immune response can be raised by the caribou (Wobeser, 1976). However, it is unlikely that the inflammatory reaction induced by the cysts could be sufficient to reduce the density below the threshold for detection by our histopathology and this, in more than half of the sampled population. *B. besnoiti* cysts have been recognized to remain viable in their intermediate host for several years without any human intervention (e.g. treatment) (Franc and Cadiergues, 1999). The observed decreased prevalence and intensity of infection from pre- to post-winter suggests that caribou infected by *B. tarandi* have a lower winter survival rate than caribou with no or lighter infections. This hypothesis is supported by pathological investigations that have linked lesions caused by *B. tarandi* in caribou to poor fitness and therefore lower survival of affected animals (Wobeser, 1976; Reh binder et al., 1981). Mortalities associated with *B. besnoiti* ranging from 1 to 10% have been estimated in cattle infected with *B. besnoiti* (Alzieu, 1991). Hence, the presence of *B. tarandi* could increase commonly found mortality rates in caribou and reindeer populations and this could have considerable impact on caribou abundance. During targeted investigations of the Rivière-aux-Feuilles herd, caribou with heavy *B. tarandi* burdens exhibited decreased mobility and resistance to movement which has been documented in horses and cattle (Canadian Cooperative Wildlife Health Center Database; Heerden et al., 1993; Renaud, 2004). Since barren-ground caribou typically migrate long distances between their summer and winter ranges (Bergerud, 2000), a reduced mobility or resistance to movement could increase their susceptibility to predation and consequently decrease their survival.

B. tarandi prevalence and cyst densities varied between the two sampling years, being greater during the 2008-2009 harvest compared to the 2007-2008 period.

Although pressure of infection might vary between caribou ranges, it might also be dependent on climatic trends (Post and Forchhammer, 2002). To confirm the latter, the influence of weather for the year of sampling on the intensity of *B. tarandi* infection would need to be validated with data recorded over several years.

The age-prevalence relationship shows that the odds of infection increase in the first years of life and then decrease with age. Meanwhile *B. tarandi* cyst density remains similar across all ages. Mechanisms to explain this include, acquired immunity, parasite-host mortality and, age dependant exposure to the parasite and in predisposition to infection (Wilson et al. 2007). Reliable data on age structure and mortality rates of caribou in the sampled populations are not available, which makes it impossible to identify the dominant mechanism(s) behind the results. Similar cyst densities across all ages indicate that *B. tarandi* is possibly a cumulative infection, where increased parasite-induced host mortality truncates the cyst densities distribution (McCallum and Dobson, 1995).

The higher prevalence in males compared to females may be due to the immunosuppressive effects of stress related to their breeding activities (Schuurs and Verheul, 1994). However, the absence of difference in the intensity of infection between infected males and females contradicts this. The higher prevalence in males could also be explained by a greater exposure to infective stages of this parasite. This could be related to gender specific use of the habitat or geographical range. Segregation of the sexes, group size and different habitat preferences by male and female caribou have been documented (Jakimchuk et al., 1987).

The between-herd comparisons using subsets of sampled caribou with similar characteristics, suggest that, overall, caribou from the Rivière-aux-Feuilles had higher intensities of infection, specifically when compared to the Rivière-George, Bathurst and Bluenose West herds. Between-herd comparisons should be approached with caution owing to different selection criteria for caribou collected by hunters versus scientists and the low number of animal used for herd comparison. Since for Rivière-George and Bathurst herds scientific collection protocols were employed for the majority of animals sampled, these results should be representative of the targeted sub-populations. In contrast, most of the caribou from the Rivière-aux-Feuilles and Bluenose West herds

were obtained by recreational and subsistence hunting, respectively (Table 1). Subsistence and recreational hunters are likely selecting healthy animals of similar body size and condition. This would make comparison of the Rivière-aux-Feuilles and Bluenose West herd subsets reasonable. However, because the relative effects of harvest season and method are entangled, it remains unclear if higher intensities of *B. tarandi* infections in Rivière-aux-Feuilles really reflect ecological factors specific to this herd.

Interestingly, surveys of population abundance suggest that the Rivière-aux-Feuilles herd peaked in size around 2001 (Couturier et al., 2004). Perhaps the high Rivière-aux-Feuilles caribou density resulted in degradation of the habitat and home range. A decrease in the quality and quantity of food resources would reduce caribou body condition (Taillon, comm. pers.). Since an individual caribou's resistance to pathogens is likely affected by its body condition (Wilson et al., 2007), the habitat degradation on the Rivière-aux-Feuilles home range may partially explain why this herd had higher *B. tarandi* cyst densities than other herds. Our finding greater cyst densities agrees well with anecdotal reports made by caribou biologists and hunters, that there has been an apparent increase in sickly looking caribou in this herd over the last few years (Brodeur, pers. comm.). *B. tarandi* is considered the cause of this greater number of unhealthy animals.

Different levels of exposure to the parasite during the summer months or variations in individual resistance to this parasite may account for the geographical variations in *B. tarandi* prevalence and intensity observed across herds. Level of exposure to parasites like *B. tarandi* is likely modulated by the density of intermediate hosts, vectors and definitive hosts. Although neither of the latter two has been identified, greater densities of definitive hosts or vectors could increase the likelihood of transmission and consequently, potentially increase the occurrence of this parasite in caribou. If biting insect vectors play a primary role in *B. tarandi* transmission, then environmental conditions favorable to the development and activity of vectors would contribute to increased insect harassment of caribou and could promote parasite transmission. Climate changes such as increased ambient temperature and greater length of the summer season likely benefit insect development and increase the number of days caribou suffer insect harassment, with the potential result that transmission of diseases,

for which insects are known vectors, is enhanced (Kutz et al., 2009). *B. tarandi* infections and cyst densities varied between the two years of this study, which may have resulted because of different climate regimes. This will have to be investigated further in light of meteorological data. Geographical difference in *B. tarandi* abundance could also be associated with genetic variability in the level of pathogenicity of this parasite, as has been demonstrated in other species (Basson et al., 1970), however, we do not expect this because *B. tarandi* shows no genetic variation throughout its Arctic range (Rosenthal, 2003).

Understanding interactions between pathogen levels and trends in caribou population abundance is a complex process. The findings of this study suggest that infection by *B. tarandi* could reduce survival of individual animals. Although the impact this parasitic disease has on fluctuations in caribou populations remains unclear, the spatial and temporal dynamics between this parasite and its hosts are worth further investigation, specifically in the current reality of a changing Arctic environment.

3.6 ACKNOWLEDGMENTS

We wish to thank the Government of Canada's International Polar Year Program for the financial support awarded to the CARMA network and to the following collaborators for their in-kind support throughout the project: Université Laval, University of Calgary, Government of Nunavut, Government of Yukon, University of Saskatchewan, Nunavik Research Center, Government of the Northwest Territories, Greenland Institute of Natural Resources and the Ministère des Ressources naturelles et de la Faune du Québec. We also would like to acknowledge the participation of hunters from the Yukon, Northwest Territories, Nunavut and Nunavik, as well as the hunting officers in Greenland. We also thank Dean Brown, Maëlle Gouix and the staff of the *Centre québécois sur la santé des animaux sauvages FauneEnNord* for their help.

3.7 LITERATURE CITED

- AGRESTI, A. 2002. Categorical data analysis. 2nd Edition. John Wiley and Sons (eds). Hoboken, New Jersey, USA, pp. 1-710.
- ALBON, S. D., A. STIEN, R. J. IRVINE, R. LANGVATN, E. ROPSTAD AND O. HALVORSEN. 2002. The role of parasites in the dynamics of a reindeer population. *Proceedings of the Royal Society* 269: 1625-1632.
- ALZIEU, J. P. 1991. La besnoitiose bovine ou anasarque des bovins. *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires* 6: 158–161.
- AYROUD, M., F. A. LEIGHTON AND S. V. TESSARO. 1995. The morphology and pathology of *Besnoitia* sp. in reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*). *Journal of Wildlife Disease* 31: 319–326.
- BASSON, P. A., R. M. MCCULLY AND R. D. BIGALKE. 1970. Observations on the pathogenesis of bovine and antelope strains of *Besnoitia besnoiti* (Marotel, 1912) infection in cattle and rabbits. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 37: 105–126.
- BERGERUD, A. T. 2000. Caribou. *In: Ecology and management of large mammals in North America*. S. Demarais and P. R. Krausman (eds). Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, USA, pp. 658–693.
- BIGALKE, R. D. 1967. The artificial transmission of *Besnoitia besnoiti* (Marotel, 1912) from chronically infected to susceptible cattle and rabbits. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 34: 303–316.

- CARMA. 2008. *Rangifer* health and body condition monitoring manual. Gunn, A. and Nixon, W. (eds). CircumArctic Rangifer Monitoring and Assessment Network. 25 pp.
- COUTURIER, S., S. D. CÔTÉ, R. D. OTTO, R. B. WELADJI AND J. HUOT. 2009. Variation in calf body mass in migratory caribou: The role of habitat, climate and movements. *Journal of Mammalogy* 90: 442–452.
- COUTURIER, S., D. JEAN, R. OTTO, AND S. RIVARD. 2004. Demography of the migratory tundra caribou (*Rangifer tarandus*) of the Nord-du-Québec region and Labrador. Ministère des Ressources naturelles, de la Faune et des Parcs. Direction de l'aménagement de la faune du Nord-du-Québec et Direction de la recherche sur la faune (eds). Québec, Canada. 68 pp.
- DE LUCO, F., C. GORTAZAR AND J. A. CASTILLO. 2000. Besnoitiosis (*Besnoitia* sp.) in roe deer (*Capreolus capreolus*). Proceedings of the 4th Meeting of the European Wildlife Disease Association. 55 pp.
- DUBEY, J. P., C. SREEKUMAR, B. M. ROSENTHAL, M. C. VIANNA, M. NYLUND, S. NIKANDER AND A. OKSANEN. 2004. Redescription of *Besnoitia tarandi* (Protozoa: Apicomplexa) from the reindeer (*Rangifer tarandus*). *International Journal for Parasitology* 34: 1273–1287.
- DUCROCQ, J., G. BEAUCHAMPS, S. KUTZ, M. SIMARD, B. ELKIN, B. CROFT, J. TAILLONS, S. D. CÔTÉ, V. BRODEUR, M. CAMPBELL, D. COOLEY, C. CUYLER, and S. LAIR. 2010. Anatomic distribution of *Besnoitia tarandi* in barren-ground caribou (*Rangifer tarandus*): Implications for diagnosis and monitoring. Submitted to the *Journal of Wildlife Disease*

- FRANC, M. AND M. C. CADIERGUES. 1999. La besnoitiose bovine: attitude diagnostique et thérapeutique. Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires 2: 45–49.
- GEIST, V. 1998. Reindeer and Caribou. *In* Deer of the world: their evolution, behaviour and ecology. 1st Edition. Stackpoles Books (ed). Mechanicsburg, Pennsylvania, USA, pp. 315–371.
- GLOVER, G. J., M. SWENDROWSKI AND R. J. CAWTHORN. 1990. An epizootic of besnoitiosis in captive caribou (*Rangifer tarandus caribou*), reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) and mule deer (*Odocoileus hemionus hemionus*). Journal of Wildlife Disease 26: 186–195.
- HAWDEN, S. AND L. J. PALMER. 1922. Reindeer in Alaska. Bulletin No.1089, Washington. U.S.Department of Agriculture (ed). 69 pp.
- HEERDEN, J. V., H. J. ELS, E. J. RAUBENHEIMER AND J. H. WILLIAMS. 1993. Besnoitiosis in a horse. Journal of the South African Veterinary Association 64: 92–95.
- JAKIMCHUK, R. D., S. H. FERGUSON AND L. G. SOPUCK. 1987. Differential habitat use and sexual segregation in the central Arctic caribou herd. Canadian Journal of Zoology 65: 534–541.
- KUTZ, S. J., E. J. JENKINS, A. M. VEITCH, J. DUCROCQ, L. POLLEY, B. ELKIN AND S. LAIR. 2009. The Arctic as a model for anticipating, preventing, and mitigating climate change impacts on host–parasite interactions. Veterinary Parasitology 163: 217–228.

- LEIGHTON, F. A. AND A. A. GAJADHAR. 2001. *Besnoitia* spp. and besnoitiosis. In Parasitic Disease of Wild mammals. 2nd Edition. W. M. Samuel, M. J. Pybus, and A. A. Kocan (eds). Iowa State University Press, Iowa, pp. 468–478.
- LUNA, L. G. 1968. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rd Edition. McGraw-Hill Book Company, New York, New York, 258 pp.
- McCALLUM, H. AND A. DOBSON. 1995. Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. TREE 10: 190–194.
- MILLER, F. L. 1974. Biology of the Kaminuriak population of barren-ground caribou. Part 2. Dentition as an indicator of sex and age; composition and socialization of the population. Canadian Wildlife Service (eds). 88 pp.
- POLS, J. W. 1960. Studies on bovine besnoitiosis with special reference to its aetiology. Onderstepoort Journal of Veterinary Research 28: 265–356.
- POST, E. AND M.C. FORCHHAMMER. 2002. Synchronization of animal population dynamics by large-scale climate. Nature 420:168-171.
- REHBINDER, C., M. ELVANDER AND M. NORDKVIST. 1981. Cutaneous besnoitiosis in a Swedish reindeer (*Rangifer tarandus* L.). Nordisk veterinærmedicin 33: 270–272.
- RENAUD, T. 2004. La besnoitiose bovine. L'Action Vétérinaire 1683: 13–15.
- ROSENTHAL, B. 2003. Abstract: Is genetic structure of *Toxoplasma Gondii* exceptional for parasite of this kind ? Infection, Genetics and Evolution 2: 250–250.

- SCHUURS, A. AND H. A. M. VERHEUL. 1994. Effects of gender and sex steroids on the immune-responses. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 35: 157–172.
- SMITH, D. D. AND J. K. FRENKEL. 1984. *Besnoitia darlingi* (Apicomplexa, Sarcocystidae, Toxoplasmatinae): Transmission between Opossums and Cats. *Journal of Protozoology* 31: 584–587.
- TOUPIN, B., J. HUOT AND M. MANSEAU. 1996. Effect of insect harassment on the behaviour of the Rivière GeorRge caribou. *Arctic* 49: 375–382.
- WILSON, K., O. N. BJORNSTAD, A. P. DOBSON, S. MERLER, G. POGLAYEN, S. E. RANDOLPH, A. F. READ, AND A. SKORPING. 2007. Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes. *In* *The ecology of wildlife disease*. P. J. Hudson, A. Rizzoli, B. T. Grenfell, H. Heesterbeek, and A. P. Dobson (eds). Oxford University Press, New York, pp. 6–44.
- WOBESER, G. 1976. Besnoitiosis in a woodland caribou. *Journal of Wildlife Disease* 12: 566–571.

TABLE 1. The eight caribou herds sampled with the numbers collected, location, method of harvesting, sampling year, harvest period and gender.

Herd	N	Sampling location	Type of sampling	Sampling year ^a			Harvest period ^b			Gender	
				First	Second	Third	S	PS	W	Male	Female
Akia-Manitsoq	46	~64°N, 51°W	Scientific collection	46					46		46
Kangerlussuaq-Sisimiut	50	~64°N, 51°W	Scientific collection		50				50		4 46
Bathurst	129	~64°N, 115°W	Scientific collection	89	40			79	50		46 76
Bluenose West	25	~67°N, 122°W	Subsistence harvest	17	8			25			25
Porcupine	13	~67°N, 140°W	Scientific collection		13			13			13
Southampton Island	55	~64°N, 84°W	Scientific collection	55					55		31 24
Rivière-George	145	~57°N, 65°W	Scientific collection	41	44	60		69	76		20 125
	1	~59°N, 65°W	Subsistence harvest			1		1			1
Rivière-aux-Feuilles	151	~67° N, 140°W	Scientific collection	41	46	63		66	84		24 125
	455	~53°N, 77°W	Recreational hunting	110	345			309	146		171 253
	30	~58°N, 77°W	Subsistence harvest		27			6	16	5	20 8
Total	1100	-	-	399	573	124		142	602	352	354 704

^a First year: 01/06/2007 to 31/05/2008; Second year: 01/06/2008 to 31/05/2009; Third year: 01/06/2009 to 30/10/1009. Sampling year was not available for four individuals; ^b SS: Spring/summer; FW: Fall/winter. Harvest season was not available for four individuals; ^c Gender was not available for 42 individuals.

TABLE 2. Results from the regression models for *B. tarandi* prevalence and cyst density (n = 972).

Risk factors	<i>B. tarandi</i> prevalence					Density of <i>B. tarandi</i> cysts ^b				
	<i>n</i>	Prevalence (%) (95% CI)	OR	95% CI	<i>P</i>	<i>n</i>	Median (min – max)	IR	95% CI	<i>P</i>
Gender^a										
Female	610	28.7 % (25.1 – 32.5)	1	–	–	175	1.1 (0 – 10.3)	1	–	–
Male	324	44.9 % (39.4 – 50.5)	1.21	1.02 – 1.43	0.02 ^c	146	1.2 (0 – 13.1)	0.97	0.76 – 1.23	0.8
Season										
Spring/summer	283	12.4 % (8.8 – 16.8)	1	–	–	35	0.4 (0 – 3.0)	1	–	–
Fall/winter	689	42.7 % (38.9 – 46.5)	2.05	1.39 – 3.00	0.0003 ^c	294	1.3 (0 – 13.1)	2.60	1.63 – 4.14	<0.0001 ^c
Sampling Year										
Year one	399	22.6 % (18.5 – 27.0)	1	–	–	90	0.5 (0 – 13.1)	1	–	–
Year two	573	41.7 % (37.6 – 45.9)	1.67	1.34 – 2.08	<0.0001 ^c	239	1.3 (0 – 10.3)	1.27	0.96 – 1.69	0.09
Centered age	716	–	1.19	1.12 – 1.26	<0.0001 ^c	284	–	0.94	0.86– 1.02	0.1
Centered-age squared	716	–	0.98	0.97 – 0.99	<0.0001 ^c	284	–	1	0.99 – 1.01	0.8

^a Gender was not available for 38 individuals; ^b Density of *B. tarandi* cysts relates to positive animals only; ^c Differences statistically significant after Bonferroni correction.

TABLE 3. Comparisons between herds using subsets of the caribou sampled during the fall/winter period. Results of the final regression models for the *B. tarandi* prevalence and cyst density in the superficial dermis from the anterior aspect of the mid-third metatarsus. All caribou were harvested by scientific collection unless mentioned otherwise.

Subsets	Herds	Prevalence %					<i>B. tarandi</i> cyst density				
		<i>n</i>	Prevalence (95% CI)	OR	95% CI	<i>P</i>	<i>n</i>	Density (min – max)	OR	95% CI	<i>P</i>
Sub-adult / adult males, first sampling year. (n = 73)	RAF	33 ^a	30.3 (15.6 – 48.7)	1	–	–	10	1.6 (0.4 – 5.2)	1	–	–
	BW	17	47.1 (23.0 – 72.2)	1.6	0.8 – 3.2	0.2	8	0.2 (0.1 – 1.4)	0.2	0.1 – 0.5	0.0005 ^d
	BA	23	39.1 (19.7 – 61.4)	1.3	0.6 – 2.7	0.5	9	0.3 (0.1 – 4.2)	0.4	0.2 – 1	0.06
	BW	17	30.3 (15.6 – 48.7)	1	–	–	8	0.2 (0.1 – 1.4)	1	–	–
	BA	23	47.1 (23.0 – 72.2)	0.8	0.4 – 1.7	0.6	9	0.3 (0.1 – 4.2)	2.2	0.9 – 5.8	0.1
Sub-adult / adult females, first sampling year. (n = 125)	RAF	94 ^b	30.9 (21.7 – 41.2)	1	–	–	29	1.1 (0.0 – 5.4)	1	–	–
	RG	14	28.6 (8.4 – 58.1)	0.9	0.4 – 2.2	0.9	4	0.3 (0.1 – 0.7)	0.2	0.1 – 0.6	0.004 ^d
	BA	21	28.6 (11.3 – 52.1)	0.9	0.4 – 1.9	0.8	6	0.3 (0.1 – 1.5)	0.4	0.2 – 0.8	0.01 ^d
	RG	14	28.6 (8.4 – 58.1)	1	–	–	4	0.3 (0.1 – 0.7)	1	–	–
	BA	21	28.6 (11.3 – 52.1)	1	0.3 – 2.9	1	6	0.3 (0.1 – 1.5)	1.6	0.5 – 5.2	0.4
Sub-adult / adult females, second sampling year. (n = 191)	RAF	164 ^c	60.4 (52.4 – 67.9)	1	–	–	99	1.6 (0 – 10.3)	1	–	–
	RG	15	46.7 (21.3 – 73.4)	0.8	0.4 – 1.3	0.4	7	1.3 (0.1 – 2.0)	0.4	0.2 – 0.9	0.02 ^d
	BA	12	16.7 (2.1 – 48.4)	0.3	0.1 – 1	0.05	2	0.3 (0.2 – 0.5)	0.1	0.0 – 0.5	0.004 ^d

Subsets	Herds	Prevalence %				<i>B. tarandi</i> cyst density					
		<i>n</i>	Prevalence (95% CI)	OR	95% CI	<i>P</i>	<i>n</i>	Density (min – max)	OR	95% CI	<i>P</i>
	RG	15	46.7 (21.3 – 73.4)	1	–	–	7	1.3 (0.1 – 2.0)	1	–	–
	BA	12	16.7 (2.1 – 48.4)	0.4	0.1 – 1.4	0.1	2	0.3 (0.2 – 0.5)	0.3	0.1 – 1.4	0.1

Type of harvesting: ^a 32 caribou by sport hunting and one caribou by scientific collection; ^b 75 caribou by sport hunting, 19 caribou by scientific collection; ^c 144 caribou by sport hunting, 15 caribou by scientific collection and five by subsistence harvest. ^d Differences statistically significant after Bonferroni correction.

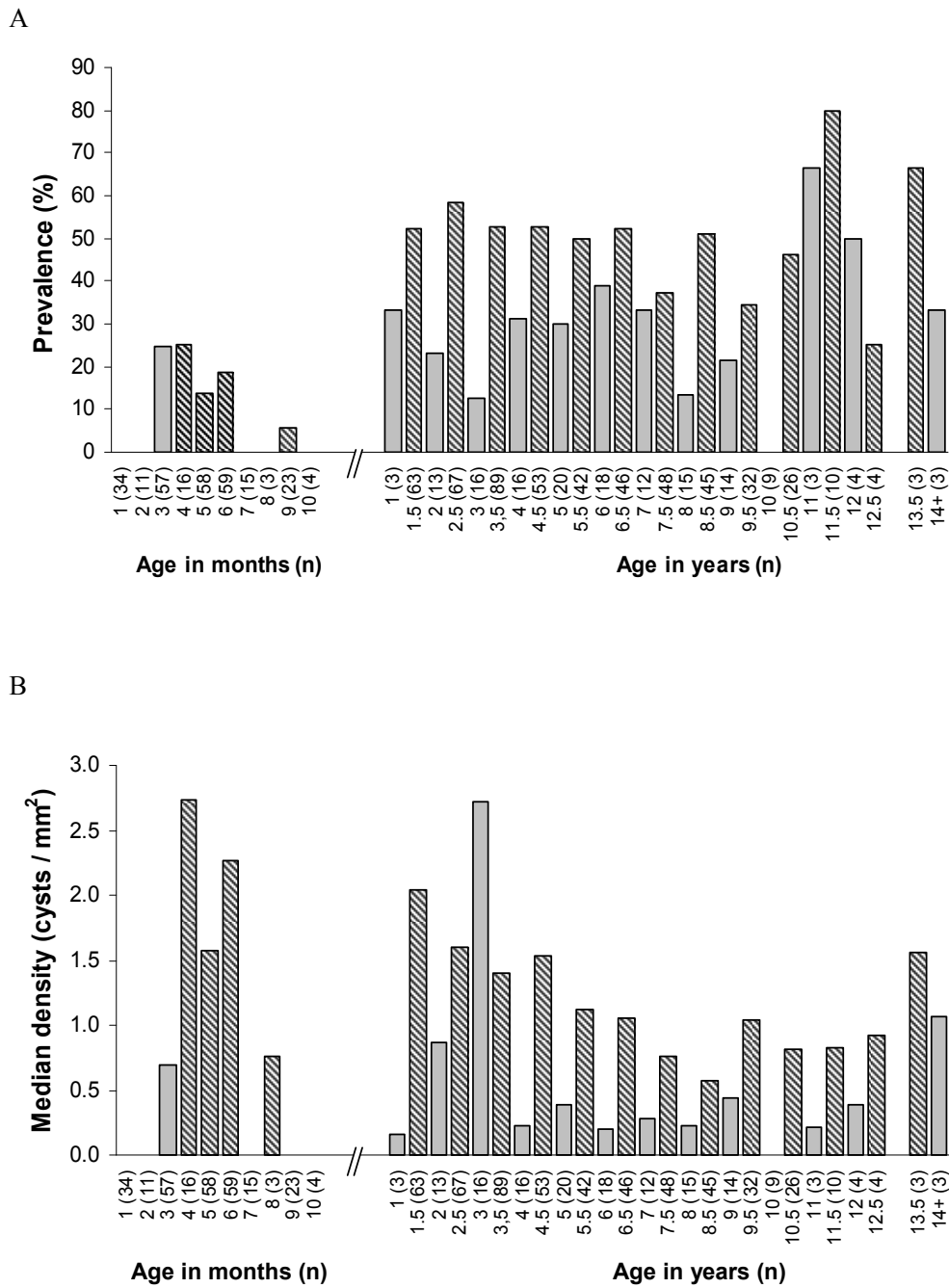


FIGURE 1. *Besnoitia tarandi* prevalence (A) and cysts densities (B) according to age of sampled caribou (n = 892). Age was not determined for 208 caribou. Caribou sampled during the spring/summer periods are represented by solid grey columns and those sampled during the fall/winter periods are represented by hatched columns.

Chapitre 4 – Discussion générale des résultats

Bien que les infections à *Besnoitia tarandi* chez les caribous et les rennes ont été documentées depuis 1922, la surveillance de cette parasitose demeure sporadique et peu homogène (Hawden and Palmer, 1922; Leighton et Gajadhar, 2001). Rappelons que les objectifs principaux de ce projet de maîtrise étaient d’optimiser la détection des infections à *B. tarandi* chez les caribous et d’identifier les facteurs de risque associés aux infections à *B. tarandi* chez le caribou afin de comparer la prévalence et l’intensité de ces infections entre les troupeaux échantillonnés.

Cette étude a été rendue possible grâce au partenariat des plusieurs collaborateurs du réseau CARMA qui travaillent avec les caribous des régions subpolaires. Bien que le protocole d’échantillonnage des tissus fût normalisé, la méthode de sélection des animaux échantillonnés variait d’une population à l’autre. Les caribous échantillonnés lors de collectes scientifiques étaient choisis de façon aléatoire pour la condition physique et leur santé. Toutefois, ces animaux étaient sélectionnés selon les besoins du programme de surveillance du troupeau soit en fonction du sexe et de leur âge. Ces caribous ne sont donc pas vraisemblablement représentatifs des populations de référence. De plus, les caribous abattus lors de chasse sportive ou de subsistance ne représentent probablement pas un échantillon aléatoire de la population puisque les chasseurs tentent généralement d’éviter les animaux en mauvais état général. De ce fait, nous supposons que les échantillonnages reliés à la chasse sous-estimeraient vraisemblablement la prévalence et la densité d’infection dans un troupeau puisque les animaux malades ou en mauvais condition physique sont plus susceptibles d’abriter de hautes intensités de l’infection (base de données du CCCSF). L’interprétation des résultats de cette étude doit donc tenir compte de ces limites.

Les résultats de la première étude montrent que les chances de détecter les kystes de *B. tarandi* par l’examen microscopique varient en fonction des tissus échantillonnés. Ainsi, la probabilité de détecter des kystes dans les sections de peau provenant du métatarse et du rostre sont statistiquement équivalentes mais plus élevées que celles provenant de la conjonctive ou de la cuisse. Toutefois, la densité des kystes dans la

région du métatarse demeure statistiquement supérieure aux trois autres régions. La section de peau du métatarse possède également le plus haut coefficient de détermination, ce qui signifie qu'il représente le mieux la densité moyenne des kystes obtenue par le jumelage des quatre sites anatomiques. La méthode utilisée pour mesurer la densité des kystes par l'examen microscopique est relativement facile à effectuer même si elle demande de l'équipement et une expertise particulière pour la préparation et la lecture des lames histologiques. Plusieurs programmes de surveillance des populations de caribous échantillonnent déjà l'un des membres postérieurs (CARMA, 2008). Par conséquent, il serait très facile d'échantillonner une section de peau provenant de la face antérieure du tiers moyen du métatarse afin d'effectuer la surveillance et le suivi des infections à *B. tarandi*.

L'examen visuel macroscopique de la conjonctive est suggéré comme méthode de détection de cette parasitose (Glover et al., 1990; Lewis, 1992). Nos résultats révèlent que cette évaluation macroscopique sous-estime fortement la prévalence du parasite lorsque comparé aux résultats de l'examen microscopique puisque les valeurs de sensibilité relative sont très faibles pour tous les sites anatomiques (entre 0.13 et 0.30). Les valeurs de spécificité sont, quant à elles, très élevées, variant entre 0.98 et 1. Des nodules lymphoïdes présents sur la conjonctive, et ce, en absence de *B. tarandi*, ont pu être identifiés comme étant des kystes parasitaires et mener ainsi à un diagnostic erroné de besnoitiose. Ce risque de faux positifs a été rapporté dans une autre étude (Ayroud et al., 1995). Il est également possible que les observateurs aient bien vu des kystes parasitaires chez certains caribous tandis qu'aucun kyste ne fut observé à l'examen microscopique. Les résultats de la présente étude ont également démontré que la sensibilité de l'examen macroscopique augmente avec l'intensité d'infection. En raison du trop faible nombre d'observations dans chacune des catégories de sévérité des lésions macroscopiques, il n'a pas été possible de corrélérer ce système d'évaluation semi-quantitative avec les résultats de l'examen microscopique. Malgré une sensibilité faible, l'évaluation macroscopique fourni néanmoins une certaine indication de la présence de *B. tarandi* chez les individus et les populations de caribou.

Bien que plus sensible que l'examen macroscopique, l'examen microscopique ne peut être considéré comme un « gold standard » puisque la sensibilité de cette méthode de détection est sans aucun doute inférieure à 100%. La sensibilité de l'examen microscopique varierait aussi vraisemblablement en fonction de la densité des kystes tissulaires. Un autre facteur pourrait aussi influencer la valeur de sensibilité, soit le nombre de caribous échantillonnés entre le moment d'acquisition de l'infection et la détection de kystes tissulaires. Ce délai peut varier en fonction de la résistance génétique aux maladies, de l'immunité acquise et du niveau d'exposition des individus (Wilson et al., 2007). Le délai entre le moment d'acquisition de l'infection et la détection de kystes dans les tissus de caribous demeure inconnu mais il est estimé à environ six semaines chez les bovins infectés expérimentalement (Pols, 1960). Du côté de la spécificité de l'examen microscopique, il peut être assumé que cette valeur est relativement très élevée (près de 100%) puisque les kystes de *B. tarandi* possèdent une morphologie microscopique très particulière (Dubey et al., 2004). Les chances que l'examineur classe des caribous comme faux-positifs demeurent donc très marginales. Conséquemment, les prévalences calculées par l'examen histologique représentent donc une estimation minimale de la prévalence réelle au sein d'un groupe d'animaux échantillonnés.

L'examen microscopique des sections de peau du métatarse a fourni des informations sur la proportion des animaux atteints et l'intensité des infections à *B. tarandi* dans huit populations de caribous. Aucun kyste de *B. tarandi* n'a été observé à l'examen microscopique des métatarses et des autres tissus prélevés sur les caribous des troupeaux d'Akia-Maniitsoq et de Kangerlussuaq-Sisimiut. À notre connaissance, *B. tarandi* n'a jamais été rapportée au Groenland. Nos résultats suggèrent donc que ce parasite n'est pas présent au Groenland. Il est possible que les caribous qui ont migré en Amérique du Nord ne fussent pas infectés par ce parasite (Geist, 1998). L'absence de vecteurs et/ou d'hôtes définitifs sur ce territoire pourrait aussi expliquer cette situation. Toutefois, les animaux échantillonnés n'étaient pas représentatifs de ces deux populations car seules des femelles ont été échantillonnées et, à un moment de l'année où

la probabilité de détection des animaux infectés est plus faible. De plus, la valeur de sensibilité de notre évaluation microscopique est inconnue. Il est donc possible que *B. tarandi* soit présent dans les troupeaux du Groenland mais à des niveaux indétectables.

À l'encontre des deux troupeaux du Groenland, *B. tarandi* a été observé chez environ un tiers des individus provenant de six populations de caribous d'Amérique du Nord. Nos analyses statistiques ont démontré que la prévalence et la densité des kystes varient en fonction de la période d'échantillonnage, de la classe d'âge, du sexe et du troupeau d'appartenance.

Ainsi, les prévalences et les intensités d'infection plus élevées chez les caribous échantillonnés pendant la période automne/hiver pourraient suggérer une augmentation des taux d'infection durant la saison estivale ce qui serait en accord avec le rôle présumé des arthropodes piqueurs comme vecteurs mécaniques ou biologiques de *B. tarandi* (Glover et al., 1990). Durant les mois suivant la mise-bas (fin juin jusqu'au mois d'août), les caribous sont exposés à plusieurs insectes de l'ordre des Diptères, c'est-à-dire des insectes piqueurs (moustiques et mouches noires) et des insectes parasites (*Hypoderma tarandi* et *Cephenemyia trompe*) (Toupin et al. 1996; Leslie Witter, communication personnelle.). Puisque la transmission de *Besnoitia besnoiti* par des insectes de l'ordre des Diptères a été démontrée chez les bovins, on suspecte que ces vecteurs sont également le principal mode de transmission des infections à *B. tarandi* (Bigalke, 1968; Pols, 1960). Ceci n'empêcherait pas l'existence d'un cycle de transmission à travers un hôte définitif pour *B. tarandi* même si à ce jour, cet hôte demeure toujours inconnu (Dubey et al., 2004). Dans ce cas, les variations saisonnières de prévalence et de densité s'expliqueraient par des variations géographiques dans les niveaux d'exposition des caribous à des milieux contaminés par les selles de l'hôte définitif.

La baisse des densités parasitaires retrouvées dans les sections de peaux du métatarse échantillonnées pendant le printemps/été suggère que le système immunitaire des caribous pourrait éliminer certains kystes du derme. La présence de cellules inflammatoires phagocytaires autour de certains kystes dégénérés suggère en effet que

l'hôte intermédiaire est à même de se débarrasser de certains kystes. Cependant, cette capacité à réduire la charge parasitaire demeure inconnue (Wobeser, 1976). Sans intervention humaine, les bovins infectés par *B. besnoiti* demeureraient porteurs du parasite durant plusieurs années, si ce n'est durant toute leur vie (Franc and Cadiergues, 1999). Il est donc difficile de croire que le système immunitaire pourrait réduire la charge parasitaire sous le seuil de détection de l'examen microscopique chez près de la moitié des caribous infectés. Ainsi, la différence dans les prévalences et les densités observées avant et après la saison des insectes suggère plutôt que le taux de mortalité des caribous fortement infectés avec *B. tarandi* est supérieur à celui des caribous légèrement ou non-infectés. Cette hypothèse est supportée par les observations histologiques effectuées durant cette étude et qui démontrent que très peu de caribous réussissent à détruire les kystes. De plus, certaines études évoquent que les lésions occasionnées par ce parasite réduisent les chances de survie des individus gravement infectés (Wobeser, 1976; Rehbindler et al., 1981). Le taux de mortalité associé à *B. tarandi* demeure inconnu tandis que le taux de mortalité des bovins infectés avec *B. besnoiti* varie entre 1 to 10% (Alzieu, 1991). Une diminution de la mobilité et de la résistance à l'exercice chez des caribous lourdement infectés provenant du troupeau de la Rivière-aux-Feuilles a été notée lors d'un échantillonnage ciblé (Base de données du Centre Québécois sur la santé des animaux sauvages). Les infections avec d'autres espèces de *Besnoitia* spp. ont aussi été associées avec une diminution de la mobilité et de la résistance à l'exercice (Heerden et al., 1993; Renaud, 2004). Puisque ces caribous migrent sur de très longues distances entre leurs aires estivales et hivernales (Bergerud, 2000), les animaux avec une mobilité et une résistance à l'exercice réduite seraient potentiellement plus susceptibles à la prédation.

Les prévalences et les densités d'infection ont également varié entre les deux années d'échantillonnages, les valeurs étant supérieures en 2008-2009 comparativement à 2007-2008. Ceci indique qu'il y a possiblement des variations annuelles dans la pression d'infection, ce qui pourrait être expliquées par des variations dans certains phénomènes climatiques (Post et Forchhammer, 2002). Cependant, avant de conclure

que le période d'échantillonnage affecte l'intensité des infections à *B. tarandi*, il faudrait continuer à amasser des données avec des plans d'échantillonnages semblables et ce, sur plusieurs années pour valider cet effet.

Les résultats des analyses statistiques indiquent également que la relation entre la prévalence et l'âge suit une courbe concave, soit que les chances d'être infectées par le parasite augmentent durant les premières années de vie mais diminuent par la suite. Quant à la densité des kystes, elle demeure similaire peu importe l'âge des caribous. L'immunité acquise, le taux de mortalité associée au parasite, une exposition et une prédisposition au parasite selon l'âge sont tous des mécanismes pouvant expliquer les variations dans la prévalence des infections à *B. tarandi* en fonction de l'âge (Wilson et al. 2007). Toutefois, il est impossible d'identifier le ou les principaux mécanismes responsables de la concavité de la courbe prévalence-âge sans des données exactes sur la structure d'âge et les taux de mortalité naturelle dans les populations étudiées. Cependant, l'hypothèse que la densité de kystes augmenterait à chaque année de vie (i.e. infection cumulative) peut être mise de l'avant seulement si le taux de mortalité associés au parasite augmente aussi avec l'âge (McCallum and Dobson, 1995).

Les résultats de la deuxième étude suggèrent également que les mâles sont légèrement plus susceptibles d'être infectés par *B. tarandi* que les femelles. Le stress lié aux efforts de reproduction pourrait rendre les mâles légèrement plus vulnérables aux infections que les femelles (Schuurs and Verheul, 1994). Toutefois, cette hypothèse est remise en question puisqu'une fois l'animal infecté, la densité des kystes est similaire entre les deux sexes. La plus haute prévalence retrouvée chez les mâles peut être consécutive à un taux de mortalité plus bas comparativement à celui des femelles. Il suggère aussi une exposition accrue aux stades infectieux du parasite, potentiellement reliée à la sélection d'habitat ou à certains comportements (Wilson et al., 2007). La ségrégation et une préférence pour certains habitats selon le sexe ont déjà été rapportées mais n'ont jamais été étudiées pour les troupeaux échantillonnés (Jakimchuk et al., 1987).

L'échantillonnage effectué dans le cadre de ce projet est de type opportuniste; c'est-à-dire que nous n'avons eu aucun contrôle sur la classe d'âge, le sexe et la période d'échantillonnage des caribous. Puisque les résultats de cette étude ont montré que les risques d'infection varient en fonction de ces facteurs, la prévalence et la densité des kystes de *B. tarandi* ne pouvaient être comparées entre tous les troupeaux sans créer un important biais de sélection. Pour minimiser le biais relié à la nature opportuniste de ces échantillonnages, la prévalence et la densité des kystes ont pu être comparé entre des sous-échantillons de troupeaux lorsque les caribous avec des facteurs de risque comparables (i.e. mâles adultes échantillonnés à l'automne) étaient sélectionnés.

Les comparaisons entre sous-groupe de certains troupeaux suggèrent que les caribous provenant de Rivière-aux-Feuilles abritent des densités des kystes supérieures aux caribous provenant de Rivière-George, Bathurst et Bluenose West. Les caribous provenant des troupeaux de Rivière-George et Bathurst ont été échantillonnés lors de collectes scientifiques, tandis que les chasseurs ont fourni la majorité des échantillons issus des troupeaux Rivière-aux-Feuilles et Bluenose West. Comme discuté auparavant, il nous semble raisonnable de penser que les caribous échantillonnés par les chasseurs sous-estiment légèrement la présence et la densité des infections à *B. tarandi*. Malheureusement, puisque l'effet du type d'échantillonnage sur la prévalence et la densité d'infection est confondu avec la saison, il est impossible de démontrer hors de tout doute que l'augmentation de la densité des infections chez les caribous de Rivière-aux-Feuilles reflète la réalité. Néanmoins, les observations faites sur le terrain par des chasseurs (Inuits ou sportifs) et des biologistes supportent ce résultat car ils suggèrent une augmentation de la morbidité des caribous provenant du troupeau Rivière-aux-Feuilles (Vincent Brodeur, communication personnelle). De plus, dans le troupeau de la Rivière-aux-Feuilles, certains caribous (n=3) sont considérés infectés mais les kystes observés à l'examen microscopique se retrouvent à l'extérieur du champ utilisé pour calculer la densité. De ce fait, la densité moyenne calculée pour ce troupeau est légèrement sous-estimée.

L'une des hypothèses émises pour expliquer la hausse de morbidité des infections à *B. tarandi* au sein des caribous de Rivière-aux-Feuilles est en lien avec les fluctuations naturelles observées dans ce type de population. Le dernier inventaire aérien suggère que la taille du troupeau de la Rivière-aux-Feuilles a atteint son maximum autour de 2001 avec approximativement 628 000 individus (Couturier et al., 2004). Durant les dernières années, une dégradation de l'habitat du caribou, occasionnée par la surpopulation du troupeau de la Rivière-aux-Feuilles, a été observée. La diminution de la quantité et de la qualité des végétaux dont s'alimentent les caribous est suggérée comme cause du déclin de la condition corporelle de ces animaux (Joëlle Taillon, communication personnelle). Puisque la condition corporelle des individus influence leur résistance aux maladies, il est possible que la dégradation de l'habitat de la Rivière-aux-Feuilles puisse expliquer, du moins en partie, l'augmentation de la susceptibilité de ces individus à *B. tarandi* (Wilson et al., 2007).

Différents niveaux d'exposition au parasite vers la fin de l'été ainsi que de résistance à *B. tarandi* pourraient expliquer les variations géographiques dans la prévalence et l'intensité des infections entre les troupeaux. Les niveaux d'exposition au parasite sont liés à la densité des vecteurs et, des hôtes intermédiaires et définitifs. Ainsi, s'il s'avère que les arthropodes jouent un rôle prépondérant dans le cycle de transmission de ce parasite, les conditions favorables au développement des populations d'arthropodes augmenteraient le nombre de jours où les caribous sont dérangés par les insectes et favoriseraient la transmission de certaines maladies vectorielles telles que *B. tarandi* (Kutz et al., 2009).

Les variations géographiques observées pourraient être également expliquées par une variabilité de la pathogénécité des souches comme ce fut démontré avec *B. besnoiti* (Basson et al., 1970). Cependant, aucune variation génétique n'a été détectée entre différents isolats de *B. tarandi* provenant de l'Arctique (Rosenthal, 2003).

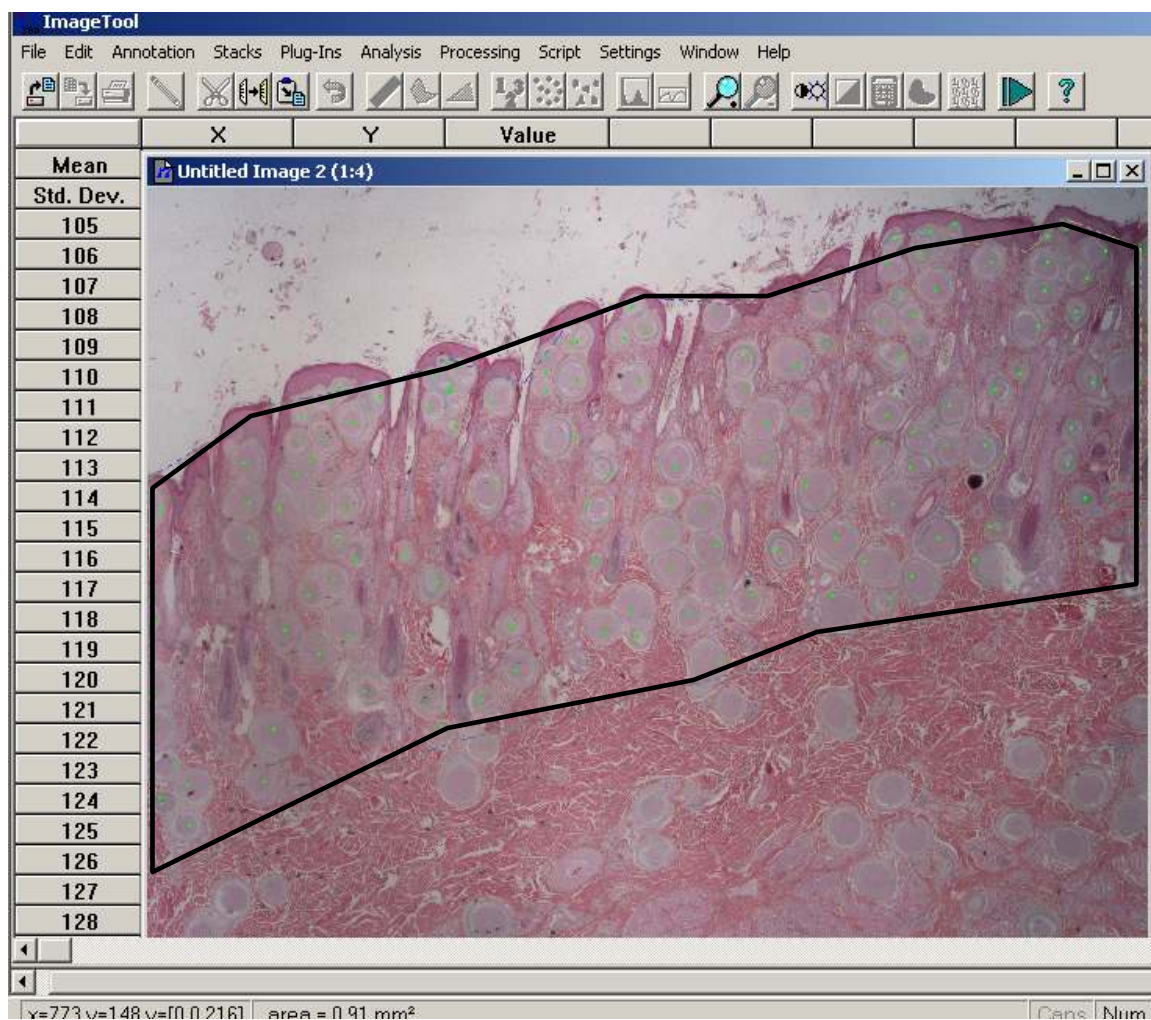
Chapitre 5 – Conclusion

Les résultats de cette étude suggèrent que les infections par *B. tarandi* pourraient potentiellement diminuer les chances de survie des caribous les plus affectés. L'influence de ce parasite sur les populations de caribous demeure un phénomène complexe. Cependant, nos résultats démontrent que les niveaux d'infection par ce parasite sont variables d'un troupeau à l'autre et qu'ils sont probablement grandement influencés par différents facteurs biotiques et abiotiques. L'augmentation probable des températures dans les régions subarctiques au cours des prochaines années, associée au réchauffement global, pourrait amplifier les taux de transmission de ce parasite en augmentant la durée et l'intensité de la période de développement et de dérangement par les insectes. Comme *B. tarandi* a le potentiel de diminuer la survie et d'affecter la reproduction des individus affectés, ce parasite pourrait davantage contribuer au déclin de certaines populations. Il est donc recommandé de continuer à étudier les interactions entre ce parasite et son hôte intermédiaire surtout en ces temps de grands changements globaux.

Annexe I : Prévalences des infections à *B. tarandi* chez l'espèce *R. tarandus* rapportées dans la littérature

Troupeau/herde (localisation)	Prévalence (%)	Type d'échantillons (n)	Méthode de détection				Références
			S. cliniques	Examen macro.	Histopathologie	Digestion	
Troupeau Mackenzie River Delta (TNO)	~ 0.25-1.5	Ciblé (n=400)	X	X	X		Choquette et al. 1967
Caribous forestiers (CB)	23	Chasse (n=311)		X	X	X	Lewis. 1989
Caribous en captivité (Manitoba)	82	Ciblé (n=?)		X	X		Glover et al. 1990
Troupeau Dolphin-Union (TNO)	7,3	Non-mentionné (n=82)		X			Gunn et al. 1991
Rennes d'élevage (TNO)	~ 15-20	Tout l'élevage (n=65-87)		X			Lewis. 1992
Troupeau Bathurst (TNO)	78	Non-mentionné (n=40)			X		Larter.1999
Troupeau Bathurst (TNO)	75	Non-mentionné (n=8)			X		Larter.1999
Rennes finlandais (Finlande)	2.6	Animaux soumis en nécropsie (n=735)		X			Dubey et al. 2004

Annexe 2. Section de peau du métatarse photographiée avec une caméra Nikon DS-Fi1 et un objectif 2X. Le logiciel d'image *NIS-Element F.3.0 Imaging Software* a permis de calculé la densité des kystes (# kystes/mm²) dans le derme superficiel (zone délimitée par la jonction épiderme/derme et la base des follicules pileux ou des glandes annexes).



Bibliographie

- AGRESTI, A. 2002. Categorical data analysis. 2nd Edition. John Wiley and Sons (eds). Hoboken, New Jersey, USA, pp. 1-710.
- ALBON, S. D., A. STIEN, R. J. IRVINE, R. LANGVATN, E. ROPSTAD AND O. HALVORSEN. 2002. The role of parasites in the dynamics of a reindeer population. *Proceedings of the Royal Society* 269: 1625-1632.
- ALZIEU, J. P. 1991. La besnoitiose bovine ou anasarque des bovins. *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires* 6: 158–161.
- ALZIEU, J. P., P. DORCHIES, F. SCHELCHER AND B. GOTTSTEIN. 2007. L'extension de la besnoitiose bovine en France. *Le Point Vétérinaire* 276: 37–43.
- ANDERSON, R. M. AND R. M. MAY. 1978. Regulation and stability of host-parasite population interactions. (I) Regulatory processes. *Journal of Animal Ecology* 47: 219–247.
- AYROUD, M., F. A. LEIGHTON AND S. V. TESSARO. 1995. The morphology and pathology of *Besnoitia* sp. in reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*). *Journal of Wildlife Disease* 31: 319–326.
- BAMFIELD, A.W. 1961. A revision of the reindeer and caribou, genus *Rangifer*. National Museum of Canada Bulletin. 177pp.
- BASSON, P. A., R. M. MCCULLY AND R. D. BIGALKE. 1970. Observations on the pathogenesis of bovine and antelope strains of *Besnoitia besnoiti* (Marotel, 1912) infection in cattle and rabbits. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 37: 105–126.

- BEGON, M., J. L. HARPER AND C. R. TOWNSEND. 1996. Ecology: Individuals, populations and communities. Blackwell Scientific Publications (ed). Oxford, 1047 pp.
- BERGERUD, A. T. 2000. Caribou. *In*: Ecology and management of large mammals in North America. S. Demarais and P. R. Krausman (eds). Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, USA, pp. 658–693.
- BIGALKE, R. D. 1967. The artificial transmission of *Besnoitia besnoiti* (Marotel, 1912) from chronically infected to susceptible cattle and rabbits. Onderstepoort Journal of Veterinary Research 34: 303–316.
- BLAKE, J. E., J. E. ROWELL AND J. M. SUTTIE. 1998. Characteristics of first-antler growth in reindeer and their association with seasonal fluctuations in steroid and insulin-like growth factor 1 levels. Canadian Journal of Zoology 76: 2096–2102.
- BOWMAN, D. D. 1999. Georgis' Parasitology for Veterinarians. 7th Edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 464 pp.
- BUSSIÈRES, J. ET R. CHERMETTE. 1992. Abrégé de Parasitologie vétérinaire: Protozoologie. É. N. V. d. Service de Parasitologie (ed). Maisons-Alfort, France, 186 pp.
- CARMA. 2008. *Rangifer* health and body condition monitoring Manual. Gunn, A. and Nixon, W. (eds). CircumArctic Rangifer Monitoring and Assessment Network. 25 pp.
- CARMA. 2009. Herd Overview. <http://carmanetwork.onconfluence.com>
- CARRASCO, L., V. FIERRO, J. M. SANCHEZ-CASTILLEJO, J. HERVAS, J. PEREZ AND J. C. GOMEZ-VILLAMANDOS. 2009. Abnormal antler growth

associated with testicular hypogonadism in red deer. *Journal of Wildlife Disease* 33: 670–672.

CHOQUETTE, L. P., E. BROUGHTON, F. L. MILLER, H. C. GIBBS AND J. G. COUSINEAU. 1967. Besnoitiosis in barren-ground caribou in Northern Canada. *Canadian Veterinary Journal* 8: 282–287.

CORTES, H. C., J. CHAGAS, E. SILVA, M. C. BAPTISTA, R. M. PEREIRA, A. LEITAO, A. E. HORTA, M. I. VASQUEZ, J. P. BARBAS, AND C. C. MARQUES. 2006a. *Besnoitia besnoiti* impact on fertility of cattle exploited in Mediterranean pastures (Alentejo). In: EAAP publication. Publication No. 119. J. M. C. Ramalho Ribeiro, A. E. Horta, and N. Mueller (eds). Wageningen Academic publishers, Netherlands, pp. 323–329.

CORTES, H. C., S. NUNES, Y. REIS, D. STAUBLI, R. VIDAL, H. SAGER, A. LEITAO AND B. GOTTSTEIN. 2006b. Immunodiagnosis of *Besnoitia besnoiti* infection by ELISA and Western blot. *Veterinary Parasitology* 141: 216–225.

COUTURIER, S., S. D. CÔTÉ, R. D. OTTO, R. B. WELADJI AND J. HUOT. 2009. Variation in calf body mass in migratory caribou: The role of habitat, climate and movements. *Journal of Mammalogy* 90: 442–452.

COUTURIER, S., D. JEAN, R. OTTO, AND S. RIVARD. 2004. Demography of the migratory tundra caribou (*Rangifer tarandus*) of the Nord-du-Québec region and Labrador. Ministère des Ressources naturelles, de la Faune et des Parcs. Direction de l'aménagement de la faune du Nord-du-Québec et Direction de la recherche sur la faune (eds). Québec, Canada. 68 pp.

- DE LUCO, F., C. GORTAZAR AND J. A. CASTILLO. 2000. Besnoitiosis (*Besnoitia* sp.) in roe deer (*Capreolus capreolus*). Proceedings of the 4th Meeting of the European Wildlife Disease Association. 55 pp.
- DOHOO, I., W. MARTIN AND H. STRYHN. 2007. Veterinary epidemiologic research. 2nd Edition. M. S. McPike (ed). AVC Inc., Charlottetown, Canada, 706 pp.
- DUBEY, J. P., C. SREEKUMAR, D. S. LINDSAY, D. HILL, B. M. ROSENTHAL, L. VENTURINI, M. C. VENTURINI AND E. C. GREINER. 2003. *Besnoitia oryctofelisi* n. sp. (Protozoa: Apicomplexa) from domestic rabbits. Parasitology 126: 521–539.
- DUBEY, J. P., C. SREEKUMAR, B. M. ROSENTHAL, M. C. VIANNA, M. NYLUND, S. NIKANDER AND A. OKSANEN. 2004. Redescription of *Besnoitia tarandi* (Protozoa: Apicomplexa) from the reindeer (*Rangifer tarandus*). International Journal for Parasitology 34: 1273–1287.
- DUCROCQ, J., G. BEAUCHAMPS, S. KUTZ, M. SIMARD, B. ELKIN, B. CROFT, J. TAILLONS, S. D. CÔTÉ, V. BRODEUR, M. CAMPBELL, D. COOLEY, C. CUYLER, and S. LAIR. 2010. Anatomic distribution of *Besnoitia tarandi* in barren-ground caribou (*Rangifer tarandus*): Implications for diagnosis and monitoring-To be submitted to the Journal of Wildlife Disease
- FRANC, M. AND M. C. CADIERGUES. 1999. La besnoitiose bovine: attitude diagnostique et thérapeutique. Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires 2: 45–49.
- GEIST, V. 1998. Reindeer and Caribou. In: Deer of the world: their evolution, behaviour and ecology. 1st Edition. Stackpoles Books (ed). MechanicsbuRg, Pennsylvania, USA, pp. 315–371.

- GLOVER, G. J., M. SWENDROWSKI AND R. J. CAWTHORN. 1990. An epizootic of besnoitiosis in captive caribou (*Rangifer tarandus caribou*), reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) and mule deer (*Odocoileus hemionus hemionus*). *Journal of Wildlife Disease* 26: 186–195.
- GUNN, A., T. LEIGHTON AND G. WOBESER. 1991. Wildlife diseases and parasites in the Kitikmeot Region, 1984-90. Renewable resources. Government of the Northwest Territories, Coppermine, Canada. 51 pp.
- HAWDEN, S. AND L.J PALMER. 1922. Reindeer in Alaska. Bulletin No.1089, Washington. U.S.Department of Agriculture (ed). 69 pp.
- HEERDEN, J. V., H. J. ELS, E. J. RAUBENHEIMER AND J. H. WILLIAMS. 1993. Besnoitiosis in a horse. *Journal of the South African Veterinary Association* 64: 92–95.
- IPCC. 2007. Climate Change 2007: The physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Salomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K. B., Tignor, M., and Miller, H. L. (eds). Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. 996 pp.
- JAKIMCHUK, R. D., S. H. FERGUSON AND L. G. SOPUCK. 1987. Differential habitat use and sexual segregation in the central Arctic caribou herd. *Canadian Journal of Zoology* 65: 534–541.
- JEAN, D. AND G. LAMONTAGNE. 2004. Plan de gestion du caribou (*Rangifer tarandus*) dans la région Nord-du-Québec 2004-2010. Ministère des Ressources

naturelles et de la Faune – Secteur Faune Québec, Direction de
l'aménagement de la faune du Nord-du-Québec. 86 pp.

JUAN-SALLÉS, C., G. RICO-HERNANDEZ, M. M. GARNER AND B. C. BARR.
2004. Pulmonary besnoitiasis in captive maras (*Dolichotis patagonum*)
associated with Interstitial Pneumonia. *Veterinary Pathology* 41: 408–411.

KUMI-DIAKA, J. S., S. WILSON, A. SANNUSI, C. E. NJOKU AND D. I. K. OSORU.
1981. Bovine besnoitiosis and its effect on the male reproductive system.
Theriogenology 16: 523–530.

KUTZ, S. J., E. J. JENKINS, A. M. VEITCH, J. DUCROCQ, L. POLLEY, B. ELKIN
AND S. LAIR. 2009. The Arctic as a model for anticipating, preventing, and
mitigating climate change impacts on host–parasite interactions. *Veterinary
Parasitology* 163: 217–228.

LAPPIN, M. R. 2005. Enteric protozoal diseases. *Veterinary Clinics of North America:
Small Animal Practice* 35: 81–88.

LARTER, N.C. 1999. Incidence of *Besnoitia* in caribou of the Cape Bathurst
subpopulation of the Bluenose herd. Department of Renewable Resources,
Northwest Territories, Manuscript Report No. 118: 15 pp.

LATCH, E. K., R. P. AMANN, J. P. JACOBSON AND O. E. RHODES. 2008.
Competing hypotheses for the etiology of cryptorchidism in Sitka black-tailed
deer: an evaluation of evolutionary alternatives. *Animal Conservation*. The
Zoological Society of London 11: 234–246.

- LEIGHTON, F. A. AND A. A. GAJADHAR. 2001. *Besnoitia* spp. and besnoitiosis. *In: Parasitic Disease of Wild mammals*. 2nd Edition. W. M. Samuel, M. J. Pybus, and A. A. Kocan (eds). Iowa State University Press, Iowa, pp. 468–478.
- LEWIS, R. J. 1989. *Besnoitia* infection in woodland caribou. *Canadian Veterinary Journal* 30: 436–436.
- LEWIS, R. J. 1992. *Besnoitia* infection in game-farmed reindeer: A trial to determine susceptibility of domestic cattle and mule deer. *Canadian Veterinary Journal* 33: 76–77.
- LUNA, L. G. 1968. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3rd Edition. McGraw-Hill Book Company, New York, New York, 258 pp.
- McCALLUM, H. AND A. DOBSON. 1995. Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. *TREE* 10: 190–194.
- McGAVIN M.D. AND J.F. ZACHARY. 2007. *Pathologic basis of veterinary disease*. 4th Edition. Elsevier Inc, Philadelphia, Pennsylvania, 1476 pp.
- NG'ANG'A C.J. AND S. KASIGAZI. 1994. Caprine besnoitiosis: studies on the experimental intermediate hosts and the role of the domestic cat in transmission. *Veterinary Parasitology* 52: 207–210.
- NIKOLAEVSKII, L. D. 1961. *Disease of Reindeer*. 2nd Edition. Zhigunov P.S. (ed). Israel program for scientific translation, Moskow, pp. 266–268.

- NJAGI, O. N., R. ENTZEROTH, P. N. NYAGA AND A. J. MUSOKE. 2004. Monoclonal antibodies identify two neutralization-sensitive epitopes in *Besnoitia besnoiti* endocytes. *Parasitology Research* 94: 247–253.
- NJENGA, M. J., E. K. KANG'ETHE, O. BWANGAMOI, S. J. MUNYUA, G. M. MUGERA AND E. R. MUTIGA. 1999a. Experimental transmission of *Besnoitia caprae* in goats. *Journal of South Africa Veterinary Association* 70: 161–163.
- NJENGA, M. J., S. J. MUNYUA AND E. R. MUTIGA. 1999b. Semen characteristics of goats with subacute, acute and chronic besnoitiosis. *Journal of South Africa Veterinary Association* 70: 18–20.
- NOBEL, T. A., M. NEUMAN, U. KLOPFER AND S. PERL. 1977. Kystes de *Besnoitia besnoiti* dans les organes génitaux de la vache. *Bulletin d'Academie Veterinaire de France* 50: 568–574.
- POLS, J. W. 1960. Studies on bovine besnoitiosis with special reference to its aetiology. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 28: 265–356.
- POST, E. AND M.C. FORCHHAMMER. 2002. Synchronization of animal population dynamics by large-scale climate. *Nature* 420:168-171.
- REHBINDER, C., M. ELVANDER AND M. NORDKVIST. 1981. Cutaneous besnoitiosis in a Swedish reindeer (*Rangifer tarandus L.*). *Nordisk veterinærmedicin* 33: 270–272.
- RENAUD, T. 2004. La besnoitiose bovine. *L'Action Vétérinaire* 1683: 13–15.
- RICE, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43: 223–225.

- ROSENTHAL, B. 2003. Abstract: Is genetic structure of *Toxoplasma gondii* exceptional for parasite of this kind? *Infection, Genetics and Evolution* 2: 250–250.
- ROZSA, L., J. REICZIGEL AND G. MAJOROS. 2000. Quantifying parasites in samples of hosts. *The Journal of Parasitology* 86: 228–232.
- SANNUSI, A. 1991. A simple field diagnostic smear test for bovine besnoitiosis. *Veterinary Parasitology* 39: 185–189.
- SCHUURS, A. AND H. A. M. VERHEUL. 1994. Effects of gender and sex steroids on the immune-responses. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 35: 157–172.
- SHKAP, V., A. RESKE, E. PIPANO, L. FISH AND T. BASZLER. 2002. Immunological relationship between *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti*. *Veterinary Parasitology* 106: 35–43.
- SHKAP, V., A. UNGARWARON, E. PIPANO AND C. GREENBLAT. 1984. Enzyme linked immunosorbent assay detection of antibodies against *Besnoitia besnoiti* in cattle. *Tropical Animal Health and Production* 16: 233–238.
- SMITH, D. D. AND J. K. FRENKEL. 1977. *Besnoitia darlingi* (Protozoa: Toxoplasmatinae): Cyclic transmission by cats. *The Journal of Parasitology* 63: 1066–1071.
- TOUPIN, B., J. HUOT AND M. MANSEAU. 1996. Effect of insect harassment on the behaviour of the Rivière GeorGe caribou. *Arctic* 49: 375–382.

- VEERAMACHANENI, D. N. R., R. P. AMANN AND J. P. JACOBSON. 2006.
Testis-antler dysgenesis in Sitka Black-tailed deer on Kodiak Island, Alaska:
Sequela of environmental endocrine disruption? *Environmental Health
Perspectives* 114: 51–59.
- VENTURINI, L., M. PETRUCCELLI, M. PISCOPO, J. M. UNZAGA, M. C.
VENTURINI, D. BACIGALUPE, W. BASSO AND J. P. DUBEY. 2002.
Natural *Besnoitia* sp. infection in domestic rabbits from Argentina. *Veterinary
Parasitology* 107: 273–278.
- WALLACE, G. D. AND J. K. FRENKEL. 1975. *Besnoitia* species (Protozoa, Sporozoa,
Toxoplasmatidae): recognition of cyclic transmission by cats. *Science* 188: 369–
371.
- WILSON, K., O. N. BJORNSTAD, A. P. DOBSON, S. MERLER, G. POGLAYEN, S.
E. RANDOLPH, A. F. READ, AND A. SKORPING. 2007. Heterogeneities in
macroparasite infections: patterns and processes. *In: The ecology of wildlife
disease*. P. J. Hudson, A. Rizzoli, B. T. Grenfell, H. Heesterbeek, and A. P.
Dobson (eds). Oxford University Press, New York, pp. 6–44.
- WOBESER, G. 1976. Besnoitiosis in a woodland caribou. *Journal of Wildlife Disease*
12: 566–571.