République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة – الجزائر

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Sciences Vétérinaires

École Doctorale en Production Hygiène et Santé Animale

Option : Gestion des Maladies Infectieuses Animales

Étude épidémiologique sur les infections et co-infections par *Babesia spp* et *Anaplasma spp* chez le bovin dans la région d'Alger - Identification des tiques Ixodina

Réalisé par : **AMANZOUGAGHENE Nadia**

Thèse soutenue publiquement, le 30 Octobre 2014,
devant le jury composé de :

Dr Hafsi F, Maitre de Conférences A, ENSV Alger	**Président**
Dr Boukhors KT, Professeur, ENSV Alger	**Examinateur**
Dr Bitam I, Maitre de Conférences A, Université de Boumerdès	**Examinateur**
Dr Ghalmi F, Maitre de Conférences A, ENSV Alger	**Directeur de thèse**
Dr Azzag N, Maitre de Conférences B, ENSV Alger	**Co-Directeur de thèse**

Année Universitaire 2013-2014

Au nom de Dieu le tout puissant et le très miséricordieux par la grâce du quel j'ai pu mener à son terme ce travail que je dédie :

À mes très chers parents, ma mère et mon père, qui par leurs encouragements et leur disponibilité, m'ont poussé à persévérer et à donner le mieux de moi-même
Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude.

À mon fiancé, merci pour tes conseils, tes encouragements. Tu as toujours suivi mes études avec intérêt et tu n'as ménagé aucun effort pour ma réussite. Cette thèse est aussi la tienne
Que l'Eternel te garde dans sa bonté.

À mes frères, à mes sœurs, à mes belles-sœurs et beaux-frères pour leur soutien et bienveillance
Qu'ils trouvent ici les sentiments de ma reconnaissance.

À mes très chers neveux et nièces
Que ce travail vous serve d'exemple pour vous surpasser.

À mes futurs beaux-parents, belles-sœurs et beau-frère pour leur gentillesse
Qu'ils trouvent ici les sentiments de ma reconnaissance.

À toute ma famille.

À tout(e)s mes ami(e)s surtout *Noura*, *Nabila*, *Katia*, *Lydia* et *Salma*.

À tous ceux qui m'ont aidé de loin ou de près

Un grand Merci……

Au terme de ce travail, c'est avec émotion que je tiens à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce projet….

Je tiens tout d'abord à adresser mes remerciements les plus sincères à ma directrice de thèse, Dr GHALMI Farida, pour m'avoir choisi et confié ce travail. Vous avez dirigé cette thèse avec la rigueur scientifique, l'enthousiasme et la persévérance qui sont les vôtres. Aussi grande que puisse être ma gratitude, soyez assurée qu'elle ne sera jamais à la hauteur de tous les efforts que vous avez déployé, je vous témoigne le plus profond de mes plaisirs de travailler avec vous.

Mes sincères et chaleureux remerciements vont à Dr AZZAG Naouelle, ma co-directrice de thèse, votre aide scientifique inestimable, votre soutien moral, votre compréhension et votre gentillesse m'ont beaucoup marqué, j'ai pris un grand plaisir à travailler avec vous. J'espère que ce modeste travail témoigne de ma profonde reconnaissance et de ma haute considération.

Je remercie cordialement le Dr HAFSI d'avoir accepté d'être président du jury de notre mémoire. J'ai toujours admiré l'ampleur de vos connaissances, votre modestie et vos qualités humaines. Veuillez trouver ici, le témoignage de mon admiration et de mon respect.

Mes sincères remerciements vont au Professeur BOUKHORS, j'ai toujours admiré en vous l'ardeur et le dévouement scientifique. Vous me faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail.

Je remercie vivement le Dr BITAM qui a bien voulu identifier les espèces de tiques avec nous. Soyez assuré que vous me faites un grand honneur en acceptant de prendre part au présent jury.

J'adresse mes plus sincères remerciements à Mme HAFSI, Directrice du Laboratoire Central Vétérinaire d'Alger, qui nous a accueilli dans son laboratoire.

Je tiens à remercier Mr Saadi Ahmed, Technicien du laboratoire de parasitologie de l'ENSV, qui m'a été d'une assistance remarquable lors de la réalisation de ce travail. Je remercie aussi Mr ZOUAMBI et Mme AINOUZ du laboratoire de biochimie de l'ENSV pour leur aide précieuse.

Mes sincères remerciements s'adressent aux Dr MIMOUN et Dr BENHANIA pour leurs conseils et leurs aides précieuses.

Mes plus sincères remerciements vont à l'ensemble du personnel de la bibliothèque de l'ENSV pour leur aide, gentillesse et sympathie.

Résumé :

Le présent travail s'est donné comme objectif principal d'apporter une contribution originale à la connaissance des infections et co-infections par *Babesia spp* et *Anaplasma spp* chez le bovin dans la région d'Alger ainsi que les facteurs de risque associés. Pour cela, 200 prélèvements sanguins de bovins ont été effectués entre mars et octobre 2013 et destinés aux analyses parasitologiques, sérologiques, hématologiques et biochimiques. Des informations relatives aux caractéristiques individuelles des animaux ainsi qu'aux pratiques d'élevage ont été recueillies. De plus, les tiques présentes sur les bovins prélevées ont été récoltées.

Les résultats des frottis sanguins colorés au MGG ont révélé la présence de sept espèces d'hémopathogènes, qui sont par ordre de fréquence décroissante: *B. bovis* (17%), *A. marginale* (16%), *B. bigemina* (8%), *Theileria spp* (7,5%), *B. divergens* (6%), *A. phagocytophilum* (5%) et *A. centrale* (4,5%). Les séroprévalences globales par IFAT de *B. bovis*, *B. bigemina* et *d'A. phagocytophilum* ont été de 45%, 32% et 19,5% respectivement et de 43,5% par cELISA pour *A. marginale*. Les deux méthodes de dépistage (FS et sérologie) ont montré une fréquence élevée de co-infections. Les associations les plus fréquentes ont été obtenues entre *B. bovis*, *B. bigemina* et *A. marginale*. L'analyse des facteurs de risque, susceptibles d'influencer les séroprévalences de l'un ou l'autre des 4 hémopathogènes étudiés, a montré l'influence de l'âge, de la race, de l'origine du bovin, de l'état d'hygiène de la ferme, de la pratique du pâturage, de la présence des tiques et de la saison. Les analyses biochimiques et hématologiques ont révélé principalement une anémie chez les bovins cliniquement atteints de babésiose et d'anaplasmose, reflétée essentiellement par une diminution significative des paramètres érythrocytaires. Parmi les 139 tiques récoltées sur un total de 36 bovins, huit espèces ont été identifiées, avec une nette prédominance de *Hyalomma lusitanicum* (68,9%) suivie par *Hyalomma marginatum marginatum* (16,5%). Les espèces reconnues comme vecteurs de *Babesia spp* et d'*Anaplasma spp* ont été peu fréquentes voire absentes. Par ailleurs, nous avons identifié la présence de *Hyalomma marginatum rufipes* avec la description d'un nouveau spécimen du genre *Hyalomma* jamais répertorié en Afrique du Nord.

Les présentes investigations indiquent que *B. bovis*, *B. bigemina*, *A. marginale* et *A. phagocytophilum* sont largement distribués dans la région d'Alger et sévissant probablement sous forme d'enzooties instables.

Mots clés : *Babesia spp*, *Anaplasma spp*, co-infection, prévalence, facteurs de risque, bovins, tiques, Alger, frottis sanguins, sérologie.

Abstract

The aim of this study was mainly to contribute to the knowledge of infection and co-infection with *Babesia spp* and *Anaplasma spp* and its associated risk factors in the Algiers region. 200 blood samples of cattle, collected between March and October 2013, were destined to parasitological, serological, hematological and biochemical analysis. Data related to the characteristics of animals and breeding conditions were also registered. Moreover, the ticks present on animals were collected.

The results on stained blood smears revealed the presence of seven hemopathogenic species, which are, in order of decreasing frequency*: B. bovis* (17%), *A. marginale* (16%), *B. bigemina* (8%), *Theileria spp* (7.5%), *B. divergens* (6%), *A. phagocytophilum* (5%) and *A. centrale* (4.5%). The overall seroprevalence, by IFAT, of *B. bovis, B. bigemina* and *A. phagocytophilum* were 45%, 32% and 19.5% respectively and 43.5%, by cELISA, for *A. marginale*. The two screening methods (microscopy and serology) showed a high frequency of co-infections. The most frequent associations were found between *B. bovis*, *B. bigemina* and *A. marginale*. The analysis of risk factors potentially influencing the seroprevalence of the four studied hemopathogens, showed the influence of: age, breed, origin of the cattle, the status of farm hygiene, the practice of grazing, the presence of ticks and the season. The biochemical and hematological tests revealed, mainly, an anemia in cattle affected clinically with babesiosis and anaplasmosis, reflected mainly by a significant decrease in red blood cell parameters. Out of the 139 ticks collected from a total of 36 cattle, eight species were identified, with a predominance of *Hyalomma lusitanicum* (68.9%) followed by *Hyalomma marginatum marginatum* (16.5%). Species known to be vectors of *Anaplasma spp* and *Babesia spp* were under presented or absent. Furthermore, we identified the presence of *Hyalomma marginatum rufipes* with the description of a new species of the genus *Hyalomma* never listed in North Africa.

These investigations indicate that *B. bovis, B. bigemina, A. marginale* and *A. phagocytophilum* are widely distributed in the Algiers region, probably, as unstable enzootic.

Key words: *Babesia spp*, *Anaplasma spp*, co-infection, prevalence, risk factors, ticks, cattle, Algiers, blood smears, serology.

ملخص:

الهدف الأساسي من هذه الدراسة هو المساهمة الأصلية في معرفة الاصابات المنفردة و الاصابات المشتركة الناجمة عن البابيزيا (*Babesia*) و الانبلازما (*Anaplasma*) عند الأبقار في منطقة الجزائر العاصمة و تحديد عوامل الخطر المرتبطة بها. 200 عينة دم اخذت من البقر في الفترة الممتدة ما بين مارس وأكتوبر 2013، هذه العينات خصصت لإجراء التحاليل في علم الطفيليات، علم الأمصال، أمراض الدم والكيمياء الحيوية. تم جمع معلومات عن كل بقرة وظروف تربيتها، علاوة على ذلك، تم جمع القراد منالابقار.

كشفت نتائج فحص الشفيفات الدموية (frottis sanguins) الملونة بـ MGG عن وجود سبعة فصائل للطفيليات الدموية، ترتيبها التنازلي من حيث نسب الاصابات هو *B. bovis* (17٪) ، *A. marginale* (16٪) ، *B. bigemina* (8٪) ، *Theileria spp* (7.5٪) ، *B. divergens* (6٪) ، *A. phagocytophilum* (5٪) و *A. centrale* (4.5٪). الانتشار المصلي العام لـ *B. bovis* ، *B. bigemina* و *A.phagocytophilum* .بواسطة IFAT، كانت 45٪، 32٪ و 19.5٪ على التوالي و 43.5٪ بواسطة ELISAc بالنسبة لـ *A. marginale* . أظهرت طريقتا الفحص (الشفيفات الدموية و علم الامصال) ارتفاع وتيرة في الاصابات المشتركة. أغلبية الاصابات المشتركة كانت بين *B. bovis.* *B.bigemina*و *A . marginale*. تحليل عوامل الخطر التي قد تؤثر على الانتشار المصلي للطفليات الدموية أظهرت تأثير العمر، الفصيلة، أصل الماشية، صحة و نظافة الاسطبل ، الرعي، وجود القراد والفصل. كشفت الاختبارات البيوكيميائية والدموية أساسا عن فقر الدم عند البقرالمصاب سريريا بـ babésiose وanaplasmoses، هذا ما يفسرالانخفاض الملحوظ في خلايا الدم الحمراء. من 139 قراد جمعت من 36 بقرة، تم تحديد ثمانية أنواع، مع غلبة *Hyalomma lusitanicum* (68.9٪)، يليه *Hyalomma marginatum marginatum*(16.5٪). كانت الأنواع المعروفة كونها ناقلات لـ *Babesia* و *Anaplasma*قليلة أو غائبة. بالإضافة الى ذلك، حددنا وجود *Hyalomma marginatum rufipes* مع وصف نوع جديد من جنس *Hyalomma* لم يدرج من قبل في شمال أفريقيا.

تشير هذه التحقيقات أن *B. bovis*،*B. bigemina* ، *A. marginale*و*A. phagocytophilum* تتوزع على نطاق واسع في منطقة الجزائر، وربما تنتشر بصورة دائمة لكنها غير ثابتة.

الكلمات المفتاحية: بابيزيا، انيلازما، الاصابات المشتركة، نسبة الانتشار ، عوامل الخطر، قراد، أبقار ، الجزائر العاصمة ، الشفيفات الدموية ، علم الامصال .

Liste des abréviations

Ac	Anticorps
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ag	Antigène
AGE	Agroécologique
AGH	Anaplasmose granulocytaire humaine
ALAT	Alanine aminotransférase
AnkA	Ankyrin repeat domain-containing protein A
ARN	Acide ribonucléique
ASAT	Aspartate aminotransférase
Ats	Anaplasma translocated substrate
BNEDER	Bureau National, d'Etudes pour le Développement Rural
BSA	Bovine Serum Albumin
CAT	Card Agglutination test
CCMH	Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
cELISA	competitive Enzyme Linked Immuno-sorbent assay
CK	Créatinine kinase
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CO2	Dioxyde de carbone
CP	Cysteine proteases
DSA	Direction des services agricoles
EDTA	Ethylène diamine tetraacetic acide
EGH	Ehrlichiose granulocytaire humaine
ELISA	Enzyme Linked Immuno-sorbent assay
ENSV	Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire
FAO	Food and Agricultural Organisation
FC	Fixation du complement
FNS	Numération de la formule sanguine
FS	Frottis sanguin
GB	Globule blanc
GGT	Gamma-glutamyltransferase
GR	Globule rouge

Hb	Hémoglobine
Ht	Taux d'hématocrite
ICT	Immunochromatographie test
IFAT	Indirect Fluorescence Antibody test
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
INF	Interferon
iRBC	infected Red Blood Cell
LAT	Latex agglutination test
MGG	May-Grünwald Giemsa
MSA	Major Surface Antigen
MSP	Major Surface Protein
NADPH	Nicotineamide adénine dinucléotide phosphate
NK	Natural killer
NO	Nitric Oxyde
OIE	Office International des Epizooties
OR	Odds Ratio
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
PLA	Plaquette
RAP	Rhoptry-associated protein
RLB	Reverse Line Blot
TCMH	Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine
Th	T helper
TNF	Tumor necrosis factor
VESA	Variant Erythrocyte Surface Antigen
VGM	Volume globulaire moyen
VMSA	Variable Merozoite Surface Antigens

Liste des tableaux

Partie bibliographique

		Pages
Tableau 1 :	Principales espèces de *Babesia* infectants les animaux domestiques, leurs tiques vectrices et leur répartition géographique	**8**
Tableau 2 :	Séroprévalence des anticorps anti-*Babesia spp* chez le bovin	**13**
Tableau 3 :	Diagnostic différentiel des formes aiguës des babésioses avec l'anaplasmose et la theiléríose	**18**
Tableau 4 :	Espèces du genre *Anaplasma* et leurs principales caractéristiques	**26**
Tableau 5 :	Séroprévalence *à Anaplasma spp* chez le bovin	**35**
Tableau 6 :	Liste non exhaustif de quelques espèces de tiques tropicales et méditerranéennes parasites du bétail, d'importance vétérinaire	**54**
Tableau 7 :	Les espèces de tiques identifiées chez les bovins en Algérie	**55**

Partie expérimentale

Tableau 1 :	Nombre de fermes prélevées par zones AGE et par commune	**64**
Tableau 2 :	Barème de lecture des lames IFAT (MegaCorDiagnostik, Autriche)	**68**
Tableau 3 :	Type de traitement utilisé contre les piroplasmoses et anaplasmose bovines	**74**
Tableau 4 :	Fréquence de traitement contre les tiques	**74**
Tableau 5 :	Co-infections *Babesia-Anaplasma-Theileria*	**82**
Tableau 6 :	Prévalences des différentes espèces de *Babesia* et *Anaplasma* en fonction des signes cliniques compatibles à ceux d'une babésiose et/ou anaplasmose bovine	**83**
Tableau 7 :	Prévalences des différentes espèces de *Babesia* et d'*Anaplasma* en fonction de la présence ou absence de tiques chez les bovins	**84**
Tableau 8 :	Analyse de certains facteurs de risque potentiels susceptibles d'influencer la séroprévalence de *B. bovis*	**88**
Tableau 9 :	Répartition des séroprévalence vis-à-vis de *B. bovis* en fonction des communes	**90**

Tableau 10 : Analyse de certains facteurs de risque potentiels susceptibles d'influencer la séroprévalence de *B. bigemina* **93**

Tableau 11 : Répartition des séroprévalences vis-à-vis de *B. bigemina* en fonction des communes **95**

Tableau 12 : Répartition des bovins séropositifs en fonction de leurs titres en Ac **96**

Tableau 13 : Analyse de certains facteurs de risque potentiels susceptibles d'influencer la séroprévalence *d'A. marginale* **99**

Tableau 14 : Répartition des séroprévalences d'*A. marginale* en fonction des communes **101**

Tableau 15 : Analyse de certains facteurs de risque potentiels susceptibles d'influencer la séroprévalence d'*A. phagocytophilum* **104**

Tableau 16 : Répartition des séroprévalences d'*A. phagocytophilum* en fonction des communes **106**

Tableau 17 : Séroprévalence des co-infections et mono-infections par les 4 hémopathogènes étudiés **108**

Tableau 18 : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une co-infection double **110**

Tableau 19 : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une co-infection multiple **114**

Tableau 20 : Comparaison de la technique du FS avec le test IFAT (titre seuil ≥ 1/40) pris comme test de référence pour le diagnostic de *B. bovis* **117**

Tableau 21 : Comparaison de la technique du FS avec le test IFAT (titre≥ 1/100) pris comme test de référence pour le diagnostic de *B. bovis* **118**

Tableau 22 : Comparaison de la technique du FS avec le test IFAT (titre seuil ≥ 1/80) pris comme test de référence pour le diagnostic de *B. bigemina* **119**

Tableau 23 : Comparaison de la technique du FS avec le test IFAT (titre ≥ 1/100) pris comme test de référence pour le diagnostic de *B. bigemina* **119**

Tableau 24 : Comparaison de la technique du FS avec le test cELISA (titre seuil ≥ 30%) pris comme test de référence pour le diagnostic d'*A. marginale* **120**

Tableau 25 : Comparaison de la technique du FS avec le test cELISA (titre ≥ 50%) pris comme test de référence pour le diagnostic d'*A. marginale* **121**

Tableau 26 : Comparaison de la technique du FS avec le test IFAT (titre seuil ≥ 1/50) pris comme test de référence pour le diagnostic d'*A. phagocytophilum* **122**

Tableau 27 : Comparaison de la technique du FS avec le test IFAT (titre ≥ 1/100) pris comme test de référence pour le diagnostic d'*A. phagocytophilum* **122**

Tableau 28 : Comparaison des moyennes des paramètres hématologiques entre les groupes d'animaux (contrôle, cas chroniques et cas cliniques) en fonction de la positivité vis-à-vis des différents hémopathogènes étudiés **126**

Tableau 29 : Comparaison des moyennes des paramètres biochimiques entre les groupes d'animaux (contrôle, cas chroniques et cas cliniques) en fonction de la positivité vis-à-vis des différents hémopathogènes étudiés **132**

Tableau 30 : Effectif et proportion des espèces de tiques récoltées **136**

Tableau 31 : Prévalence par espèce de tique identifiée chez le bovin **141**

Tableau 32 : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une infestation des bovins par les tiques **143**

Tableau 33 : Prévalence de l'infestation des bovins par les tiques en fonction des communes **145**

Tableau 34 : Relation entre la présence des différentes espèces de tiques et les prévalences obtenues pour des 4 hémopathogènes chez le bovin **148**

Liste des figures

Partie bibliographique

		Pages
Figure 1 :	Cycle de développement de *B. bovis*	**10**
Figure 2 :	Mécanismes effecteurs et régulateurs développés au cours de l'infection par *B. bovis*	**17**
Figure 3 :	Phylogramme de l'ordre des Rickettsiales sur la base de l'analyse des séquences des ARNr 16S	**25**
Figure 4 :	Cycle de développement d*'A. marginale*	**30**
Figure 5 :	Cycle de transmission d'*A. phagocytophilum*	**31**
Figure 6 :	Classification des tiques d'après Camicas et collaborateurs 1998	**45**
Figure 7 :	Face dorsale du capitulum d'une femelle adulte, *Ixodes scapularis*, par microscopie électronique à balayage	**46**
Figure 8 :	Morphologie générale d'une femelle adulte, *Ixodes scapularis*, en vue dorsale (a) et ventrale (b), par microscopie électronique à balayage	**47**
Figure 9:	Accouplement chez un mâle et une femelle, *Ixodes scapularis*, par microscopie électronique à balayage	**49**
Figure 10 :	Cycle de vie des tiques	**50**
Figure 11 :	Représentation chez une tique *Amblyomma* femelle de trois phases d'alimentation: à jeun (29mg); partiellement gorgée (276mg) et entièrement gorgée (3460mg)	**52**
Figure 12 :	Modalités de transmission des agents pathogènes entre tiques	**53**

Partie expérimentale

Figure 1 :	Situation géographique de la région d'étude	**61**
Figure 2 :	Carte de localisation des fermes prélevées	**64**
Figure 3 :	Les trois couches caractéristiques du sang total après centrifugation	**66**
Figure 4 :	Différents signes cliniques relevés par les éleveurs	**73**
Figure 5 :	Différentes espèces de *Babesia spp, Anaplasma spp et Theileria spp* identifiées sur frottis sanguins colorés au MGG, oculaire x8 et objectif x100	**76**
Figure 6 :	Prévalence de *Babesia*, *Anaplasma* et *Theileria* chez le bovin	**77**
Figure 7 :	Prévalence des différentes espèces de *Babesia* identifiées	**78**

Figure 8 : Prévalence des différentes espèces d'*Anaplasma* identifiées **79**

Figure 9 : Répartition des prévalences (%) des espèces de *Babesia* identifiées en mono-infection et en infections mixtes **80**

Figure 10 : Répartition des prévalences (%) des espèces d'*Anaplasma* identifiées en mono-infection et en infections mixtes **81**

Figure 11 : Variation de la séroprévalence vis-à-vis de *B. bovis* en fonction des titres en Ac **85**

Figure 12 : Variation de la séroprévalence vis-à-vis de *B. bovis* en fonction de l'âge (A), de la race (B), de l'origine du bovin (C), de l'état d'hygiène de la ferme (D), de la présence ou absence de tiques (E) et de la saison (F) **89**

Figure 13 : Distribution des bovins séropositifs vis-à-vis de *B. bovis* par commune **90**

Figure 14 : Variation de la séroprévalence vis-à-vis de *B. bigemina* en fonction des titres en Ac **91**

Figure 15 : Séroprévalence vis-à-vis de *B. bigemina* en fonction de l'âge (A), de l'état d'hygiène de la ferme (B), de la présence ou de l'absence de tiques (C) et de la saison (D) **94**

Figure 16 : Distribution des bovins séropositifs vis-à-vis de *B. bigemina* par commune **95**

Figure 17 : Variation de la séroprévalence *d'A. marginale* en fonction de l'âge (A), de la race (B), de l'origine du bovin (C), de l'état d'hygiène de la ferme (D), de la présence ou de l'absence de tiques (E) et de la saison (F) **100**

Figure 18 : Distribution des bovins séropositifs vis-à-vis *d'A. marginale* par commune **101**

Figure 19 : Variation de la séroprévalence *d'A. phagocytophilum* en fonction des titres en Ac **102**

Figure 20 : Variation de la séroprévalence *d'A. phagocytophilum* en fonction de l'âge (A), de l'origine du bovin (B), de la pratique ou non du pâturage (C) et de la saison (D) **105**

Figure 21 : Distribution des bovins séropositifs *d'A. phagocytophilum* par commune **106**

Figure 22 : Fréquence des co-infections et mono-infections relevée chez les bovins **107**

Figure 23 : Variation de la séroprévalence vis-à-vis de la co-infection *B.bovis-A. marginale* en fonction de la race (A), origine du bovin (B), la pratique du pâturage (C), la présence ou l'absence de tiques (D), contrôle des tiques (E) et la saison (F) **112**

Figure 24 : Variation de la séroprévalence vis-à-vis de la co-infection *B.bigemina-A. marginale* en fonction de l'état d'hygiène de la ferme (A) et la saison (B) **113**

Figure 25 : Variation de la séroprévalence vis-à-vis de la co-infection *B. bigemina-A. phagocytophilum* en fonction de l'origine du bovin **113**

Figure 26 : Variation de la séroprévalence vis-à-vis de la co-infection *B. bovis-B. bigemina-A. marginale* en fonction de la pratique du pâturage (A) et la présence ou absence de tiques (B) **116**

Figure 27 : Variation de la séroprévalence vis-à-vis de la co-infection *B. bovis-B. bigemina- A. phagocytophilum* en fonction de la pratique du pâturage (A) et de la saison (B) **116**

Figure 28 : Représentation en boîte à moustaches de la répartition des valeurs selon les paramètres (globules rouges, hémoglobine, hématocrite et globules blancs) et les groupes d'animaux **128**

Figure 29 : Représentation en boîte à moustaches de la répartition des valeurs selon les paramètres (VGMH, TGMH, CCMH et plaquettes) et les groupes d'animaux **129**

Figure 30 : Représentation en boîte à moustaches de la répartition des valeurs selon les paramètres (urée, créatinine, bilirubine totale et bilirubine directe) et les groupes d'animaux **134**

Figure 31 : Représentation en boîte à moustaches de la répartition des valeurs selon les paramètres (ALAT, ASAT, CK et GGT) et les groupes d'animaux **135**

Figure 32 : *H. lusitanicum* femelle et mâle en vue dorsale **136**

Figure 33 : *H. m. marginatum* femelle et mâle en vue dorsale **137**

Figure 34 : *Rh. (Boophilus) annulatus* femelle en vue dorsale et ventrale **137**

Figure 35 : *H. d. detritum* mâle en vue dorsale et ventrale. **138**

Figure 36 : *H. anatolicum excavatum* mâle (A), *H. impeltatum* mâle (B) et *Rh. sanguineus* mâle (C) en vue dorsale **138**

Figure 37 : *H. m. rufipes* mâle en vue dorsale et ventrale **139**

Figure 38 : Espèce de *Hyalomma spp* mâle en vue dorsale et ventrale **139**

Figure 39 : Prévalence des infestations par espèce de tique chez le bovin **141**

Figure 40 : Variation de la prévalence de l'infestation des bovins par les tiques en fonction de d'état d'hygiène de la ferme (A), la saison (B) et de la zone AGE (C) **144**

Figure 41 : Distribution des bovins infestés par les tiques par commune **145**

Figure 42 : Représentation en boîte à moustaches des séroprévalences vis-à-vis de *B. bovis, B. bigemina, A. marginale* et *A. phagocytophilum* obtenues dans d'autres régions du monde. **166**

Sommaire

Introduction générale 1

Partie bibliographique

I. Définition et importance **3**

1. Définition 3
2. Importance 4

II. Historique et synonymie 4

III. Étude épidémiologique et clinique des babésioses et anaplasmoses bovines **6**

IV. 1 *Babesia spp* et les babésioses bovines 6

1. Biologie 6
2. Épidémiologie 11
3. Pathologie 14
4. Diagnostic 18
5. Moyens de lutte 22

IV. 2 *Anaplasma spp* et les anaplasmoses bovines 24

1. Biologie 24
2. Épidémiologie 32
3. Pathologie 36
4. Diagnostic 40
5. Moyens de lutte 43

IV. Étude épidémiologique sur les tiques Ixodidés **44**

1. Systématique et morphologie 44
2. Biologie 48
3. Importance et distribution 53
4. Collecte et identification 56
5. Moyens de lutte 57

Partie expérimentale

I. Objectifs et but de l'étude **59**

II. Matériel et méthodes **60**

II. 1. Description de la région étudiée 60

II. 2. Description de l'élevage bovin 62
II. 3. Plan d'échantillonnage et enquête épidémiologique 62
II. 3.1 Méthode d'échantillonnage 62
II. 3.2 Enquête épidémiologique descriptive 63
II. 4. Nature et préparation des prélèvements 65
II. 3.3 Nature des prélèvements 65
II. 3.4 Préparation des prélèvements 65
II. 5. Analyses de laboratoire 66
II. 5.1 Technique du frottis sanguin 66
II. 5.2 Analyses sérologiques 67
II. 6. Analyses hématologiques et biochimiques 70
II. 7. Récolte et identification des tiques 71
II. 8. Codage et saisie des données 71
II. 9. Analyses statistiques 71
III. Résultats 73
III. 1. Enquête descriptive 73
III. 2. Description morphologique des espèces de *Babesia* et d'*Anaplasma* identifiées sur frottis sanguins colorés au MGG 75
III. 3. Étude de la prévalence des infections et des co-infections par *Babesia spp* et *Anaplasma spp.* 77
III. 3.1 Étude de prévalence par frottis sanguin 77
III. 3.2 Étude de séroprévalence de différents hémopathogènes et analyse des facteurs de risque potentiellement associés 85
III. 3.3 Étude de la séroprévalence des co-infections et analyse des facteurs de risque potentiellement associés 107
III. 4. Étude de la comparaison des deux méthodes de diagnostic 117
III. 4.1 Comparaison des deux méthodes (FS et IFAT) pour le diagnostic de *B. bovis* 117
III. 4.2 Comparaison des deux méthodes (FS et IFAT) pour le diagnostic de *B. bigemina* 118
III. 4.3 Comparaison des deux méthodes (FS et cELISA) pour le diagnostic *d'A. marginale* 120
III. 4.4 Comparaison des deux méthodes (FS et IFAT) pour le diagnostic *d'A. phagocytophilum* 121
III. 5. Étude hématologique et biochimique 123

III. 5.1 Hématologie 123
III. 5.2 Biochimie 123
III. 6. Étude épidémiologique des populations de tiques rencontrées chez le bovin 136
III. 6.1 Identification morphologique des différentes espèces de tiques récoltées 136
III. 6.2 Prévalence des tiques Ixodidés chez le bovin et identification des facteurs de risque associés 140
III. 7. Étude de la relation entre la présence de tiques et la prévalence des 4 hémopathogènes identifiés chez le bovin 146
IV. Discussion 151
IV. 1. Protocole de l'étude et biais de conception 151
IV. 2. Enquête descriptive 154
IV. 3. Description morphologique des espèces de *Babesia* et d'*Anaplasma* identifiées sur frottis sanguins colorés au MGG 156
IV. 4. Étude de la prévalence des infections et des co-infections par *Babesia spp* et *Anaplasma spp* 157
IV. 4.1 Étude de prévalence par frottis sanguin 157
IV. 4.2 Étude de la séroprévalence de différents hémopathogènes 162
IV. 4.3 Séroprévalence des co-infections 166
IV. 4.4 Étude des facteurs de risque associés 167
IV. 4.5 Estimation de l'état épidémiologique 174
IV. 5. Étude de la comparaison des deux méthodes de diagnostic 175
IV. 6. Étude hématologique et biochimique 176
IV. 7. Étude épidémiologique des populations de tiques rencontrées chez le bovin dans la région d'étude 179
IV. 8. Étude de la relation entre la présence de tiques et la prévalence des 4 hémopathogènes identifiés chez le bovin 182

Conclusion générale et perspectives 184

Références bibliographiques

Annexes

Introduction générale

Parmi les maladies vectorielles potentiellement émergentes celles transmises par les tiques, constituent une contrainte importante pour le développement et l'amélioration de l'élevage bovin en Afrique et dans d'autres régions du globe (Morzaria, 1991 ; El Haj et *al.,* 2002a ; Mondal et *al.,* 2013). Elles sont responsables d'une baisse de la productivité et d'un taux de mortalité relativement élevé. Au niveau mondial, on estime à 800 millions le nombre de bovins affectés et à plusieurs milliard de dollars US, le coût de la lutte contre les tiques et les maladies qu'elles transmettent (Gomes et *al.*, 1991). Parmi ces dernières, la babésiose et l'anaplasmose ont un impact économique considérable dans les élevages bovins en Afrique du Nord (Sergent et *al*., 1945 ; M'ghirbi et Bouattour, 2009).

Généralement, l'existence et l'importance des maladies transmises par les tiques sont régies par des interactions complexes impliquant les vecteurs, l'hôte et l'environnement (Ait Hamou et *al.,* 2012a). Les facteurs favorisant l'expression de ces pathologies sont souvent liés aux stratégies des éleveurs notamment l'exploitation de races exotiques très sensibles ou de leurs croisements et la modification des pratiques de conduite des troupeaux dans certains écosystèmes. L'insuffisance des connaissances sur l'épidémiologie de ces maladies est aussi un paramètre important qui concourt à la perpétuation de leurs effets néfastes.

À cela, viennent s'ajouter des facteurs tels que les variations climatiques notamment en raison des récents réchauffements de la planète et leurs corolaires sur la répartition et l'abondance des tiques vectrices. En effet, des modifications dans la distribution et/ou le comportement des nombreuses espèces de tiques ont été déjà signalées par de nombreux auteurs (Bouattour, 2009). Ainsi, face à cette tendance préoccupante et très évolutive, ces maladies transmises par les tiques se révèlent plus que jamais des maladies d'actualités et l'intérêt porté à leur égard semble grandissant, d'ailleurs l'augmentation du nombre de travaux publiés ces dernières années à leur sujet étant belle et bien la preuve.

En Algérie, bien que certaines données de base sur les tiques et les maladies transmises ont déjà été obtenues, notamment sur la présence d'anaplasmose à *A. marginale* et de la babésiose à *B. bovis* et *B. bigemina* transmises par *Rhipicephalus* (*Boophilus) annulatus* et *Rhipicephalus bursa* (Sergent et *al.,* 1945), très peu de connaissances sont disponibles actuellement sur la distribution et la prévalence réelle de ces deux maladies, ainsi que sur la nature des facteurs de risque déterminant leur transmission.

C'est dans ce contexte qu'il nous a paru intéressant de mener une étude épidémiologique, l'objectif général étant d'apporter une contribution originale à la connaissance des espèces circulantes de *Babesia spp* et d'*Anaplasma spp* chez le bovin dans la région d'Alger ainsi que des mécanismes et des facteurs de risque de transmission de ces deux maladies, avec une attention particulière sur les cas de co-infections. Le but final est d'estimer les états épidémiologiques de la babésiose et de l'anaplasmose et de leurs implications en termes de stratégie de contrôle adaptée aux conditions locales.

Dans la première partie de ce travail, nous allons présenter une synthèse de la littérature sur la babésiose et l'anaplasmose bovine. Nous allons développer essentiellement les aspects étiologiques, épidémiologiques, cliniques ainsi que le diagnostic et les moyens de lutte.

Dans la deuxième partie, nous aborderons une étude épidémiologique sur la babésiose et l'anaplasmose menée sur les bovins de la région d'Alger. Nous décrirons en premier lieu le protocole de l'étude en détail et dans une seconde partie, nous présenterons les résultats obtenus. Enfin, nous concluons ce travail de magister par des perspectives.

Partie

Bibliographique

I. Définition et importance

1. Définition

La babésiose et l'anaplasmose sont des maladies infectieuses, virulentes, inoculables et non contagieuses des bovins, transmises biologiquement par des tiques vectrices à impact économique, social et épidémiologique important dans le monde (Morel, 2000 ; Suarez et Noh, 2011).

La babésiose est le fait des parasites protozoaires intraerythrocytaires du genre *Babesia* de l'ordre des Piroplasmida et du phylum des Apicomplexa. Trois espèces principales (*Babesia bovis, Babesia bigemina et Babesia divergens*) sont décrites pour causer la maladie chez les bovins y compris l'homme (*B. divergens*) (Zintle et *al.*, 2003 ; Mosqueda et *al.*, 2012). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* est le principal vecteur de *B. bovis* et de *B. bigemina* dans les pays tropicaux et subtropicaux (Bock et *al.*, 2004 ; Mosqueda et *al.*, 2012). Le vecteur de *B. divergens* est *Ixodes ricinus*, largement distribué en Europe tempérée (Zintle et *al.*, 2003). La forme aiguë de la maladie est caractérisée par une forte fièvre, de l'anémie, de l'ataxie, de l'hémoglobinurie, de l'ictère et parfois la mort de l'animal (Suarez et Noh, 2011). *B. bovis* est connue pour causer des infections sévères avec une forte fièvre et des symptômes nerveux centraux provoqués par l'agrégation des hématies parasitées dans les capillaires cérébraux (Bock et *al.*, 2004 ; Suarez et Noh, 2011).

L'anaplasmose est une rickettsiose due à des bactéries Gram négative intracellulaires obligatoires de la famille des Anaplasmataceae, ordre des Rickettsiales dont deux espèces, *Anaplasma marginale* et *Anaplasma phagocytophilum*, connues pour causer la maladie chez les ruminants y compris l'homme (*A. phagocytophilum*) (Brown, 2012). *A. marginale*, agent de l'anaplasmose bovine tropicale, est exclusivement parasite des érythrocytes transmise principalement par les tiques *Rhipicephalus spp* et *Dermacentor spp*, mais également mécaniquement par des mouches piqueuses (Kocan et *al.*, 2004 ; Rodriguez et *al.*, 2009). *A. phagocytophilum*, l'agent de l'anaplasmose granulocytaire bovine appelée encore fièvre des tiques, affecte les granulocytes neutrophiles et transmise principalement par la tique *I. ricinus* largement distribuée en Europe (Woldehiwet, 2006). L'anaplasmose bovine se traduit principalement par de la fièvre, une diminution de la production laitière, de l'anémie et des avortements (Stuen, 2007 ; Suarez et Noh, 2011).

2. Importance

La babésiose et l'anaplasmose connaissent une répartition mondiale, mais elles sont particulièrement importantes dans les régions tropicales et subtropicales (L'Hostis et Seegers, 2002). Elles ont une importance sanitaire, agents de zoonoses *(B. divergens et A. phagocytophilum)* mais surtout une importance économique qui est irréfutable à cause des pertes qu'elles occasionnent en industrie bovine. Ses pertes sont non seulement attribuées à la mortalité, la morbidité, la diminution des productions (lait/viande), les avortements et les mesures de contrôle mais également aux contraintes qu'elles engendrent au commerce international d'animaux (de Vos, 1992 ; Bock et *al*., 2004 ; Camus et Uilenberg, 2010 ; Aubry et Geale, 2011 ; Suarez et Noh, 2011). Enfin, dans les pays en développement ces maladies constituent un obstacle à l'introduction des races bovines améliorées (Figueroa et *al*., 2010).

Bien que les pertes économiques dues à ces maladies soient toujours décrites comme considérables, peu de données chiffrées sont disponibles. Ces dernières sont difficiles à obtenir, car il est pratiquement impossible de distinguer les pertes économiques dues à l'anaplasmose et la babésiose proprement dites, des pertes dues aux tiques ou à d'autres maladies transmises par celles-ci (de Vos, 1992 ; Figueroa et *al*., 2010). En 1999, McLeod et Kristjanson ont développé un modèle (coût des tiques) pour évaluer l'impact global des tiques et celui des maladies transmises, ils ont ainsi, estimé en Australie que les pertes totales annuelles dues à l'anaplasmose et la babésiose sont de l'ordre de 16.9 million de dollars US par an. Ce même modèle a permis une estimation annuelle des pertes au Kenya, Zimbabwe, Tanzanie, Afrique du Sud, Chine, Inde, Indonésie et au Philippine, qui sont de l'ordre de 5.1, 5.4, 6.8, 21.6, 19.4, 57.2, 3.1 et 0.6 million de dollars US, respectivement (Bock et *al*., 2004).

II. Historique et synonymie

Les babésies furent les premiers parasites d'arthropodes reconnus comme pathogènes envers les vertébrés (Meliani et *al*., 2006). C'était à la fin du 19^{éme} siècle que Victor Babes a décrit pour la première fois en Roumanie la présence d'un microorganisme intraérythrocytaire dans le sang des bovins qu'il a appelé *Haematococcus bovis* (= *Babesia bovis*), il a nommé la maladie « hémoglobinurie bactérienne » ou « Red water fever » (Uilenberg, 2006 ; Hunfeld et *al*., 2008). En 1893, aux États-Unis, Smith et Kilborne ont identifié l'agent de la fièvre texane ou « Texas fever », à qui ils ont donné le nom de *Pyrosoma bigeminum* (= *Babesia bigemina*), ils ont également démontré sa transmission aux bovins par *Boophilus annulatus* (Bock et *al*., 2004). C'est ainsi qu'ils ont rapporté pour la première fois la preuve de la transmission d'une maladie

infectieuse d'un animal à un autre par l'intermédiaire d'un vecteur arthropode (Uilenberg, 2006). Après la publication de ce travail, la babésiose a été identifiée dans différentes régions du monde. En Australie, Sidney Hunt a confirmé que l'agent causal de «Red water fever» est identique à celui de «Texas fever». En Argentine (1903), Lignières a décrit deux formes de «Tristeza» (babésiose), forme A et C, qui ensuite ont été identifiées comme *B. bigemina* et *B. argentina* (= *B. bovis*) respectivement (Bock et *al*., 2004).

L'histoire de l'anaplasmose bovine a débuté avec les travaux de Theiler en Afrique du Sud, qui est le premier à avoir identifié en 1903 les corpuscules intra-érythrocytaires ou «marginal points» dans le sang des bovins atteints de *gall sickness* (anaplasmose), il les a nommé *Anaplasma marginale* en 1910 (Theiler, 1910 ; Sergent et *al.*, 1945). Ces inclusions marginales ont été fréquemment observées dans les globules rouges des bovins anémiques, le plus souvent ceux qui sont atteints de babésiose. D'ailleurs, Smith et Kilborne (1893) ont considéré ces inclusions marginales comme faisant partie du cycle évolutif de *B. bigemina* agent de «Texas fever» (Kocan et *al.*, 2010). Ainsi, la découverte de Theiler a permis de distinguer deux affections auparavant confondues, l'anaplasmose et la babésiose et qui souvent coexistes chez le même animal (Camus et Uilenberg, 2010 ; Kocan et *al.*, 2010). En 1911, Theiler identifie une autre espèce d'*Anaplasma* qui est *Anaplasma centrale*, moins pathogène mais étroitement liée à *A. marginale*, il l'a alors utilisée comme vaccin, méthode encore largement employée de nos jours (Sergent et *al.*, 1945 ; de la Fuente et *al*., 2005a). Par la suite, l'anaplasmose a été largement identifiée dans les régions tropicales, subtropicales et plusieurs régions tempérées de l'ancien monde (Kocan et *al.*, 2010).

Anaplasma phagocytophilum, l'agent causal de la fièvre des tiques ou «tick-borne fever» chez les bovins et les ovins, a été identifié pour la première fois en 1932 sur des moutons en provenance des régions écossaises. L'agent bactérien en cause se voit attribuer successivement les noms de *Rickettsia phagocytophila, Cytoecetes phagocytophila*, avant d'être décrit par Philip, en 1974, sous le nom d*'Ehrlichia phagocytophila* (Dumler et *al.*, 2001 ; Woldehiwet, 2006 ; Stuen, 2007). En Californie, en 1969, Gribble décrit une infection chez les équidés due à *Ehrlichia equi*. La présence de morulas est mise en évidence dans les granulocytes neutrophiles, ce qui donne le nom « d'ehrlichiose granulocytaire équine » à la maladie. Ceci a été suivi par la description de deux agents granulocytaires distincts causant une maladie semblable chez les chiens aux États-Unis entre 1971 et 1982 (Woldehiwet, 2010). La maladie a été identifiée tardivement chez l'homme. En effet, ce n'est qu'en 1994 que le premier cas d'ehrlichiose granulocytaire humaine (EGH) fut confirmé chez un patient aux États-Unis (Chen

et *al*., 1994 ; Woldehiwet, 2010). Malgré une caractérisation précise, celle-ci resta longtemps dénommée EGH. Par la suite, l'analyse de la séquence de l'ARNr 16S a révélé un pourcentage d'homologie de 99,9% avec l'ARNr 16S d'*Ehrlichia phagocytophila* et un pourcentage de 99,8% avec celui d'*Ehrlichia equi* (Doudier et *al.*, 2010). Ces trois bactéries furent finalement regroupées en 2001 sous le nom d'*A. phagocytophilum* (Dumler et *al*., 2001 ; Woldehiwet, 2010). L'anaplasmose à *A. phagocytophilum* est aujourd'hui considérée comme une maladie infectieuse émergente transmise par les tiques et un agent de zoonose largement répandue dans le monde (Walker et Dumler, 1997 ; Dumler, 2005).

III. Étude épidémiologique et clinique des babésioses et anaplasmoses bovines

Dans cette partie, nous aborderons les principales caractéristiques des *Babesia spp* et *Anaplasma spp* ainsi que l'épidémiologie, la pathologie et le diagnostic des affections induites**.**

III. 1. *Babesia spp* et les babésioses bovines

Les *Babesia spp* sont des protozoaires Apicomplexa intraerythrocytaires, transmises obligatoirement par des tiques dures (Ixodina), infectant une large variété de mammifères domestiques et sauvages, y compris l'homme. Chez le bovin, trois principales espèces sont décrites : *B. divergens, B. bovis* et *B. bigemina.* Les deux dernières sont les plus importantes sur le plan économique en Afrique du Nord.

1. Biologie

1.1 Position taxonomique

Les babésies sont des hémoprotozoaires appartenant à l'embranchement des Apicomplexa, à la classe des Sporozoasida (Sporozoaires), ordre des Eucoccidiorida, sous-ordre des Piroplasmidora et à la famille des Babesiidae (Bock et *al.*, 2004).

Ces parasites sont caractérisés par la présence d'un complexe apical qui consiste en un ensemble d'organelles spécialisées, telles que les rhoptries et les micronèmes, qui sont impliquées dans l'invasion des cellules de l'hôte, caractéristique commune aux Apicomplexa, comme *Theileria* et *Plasmodium* (Homer et *al.*, 2000). Caractérisés également par l'absence de formation de pigments à l'intérieur des cellules infectées, ce qui les distingue d'emblée du genre *Plasmodium* (Uilenberg, 2006). D'autres critères tels que l'absence d'une phase extra-érythrocytaire chez l'hôte vertébré et la transmission transovarienne chez la tique vectrice permettent de les

distinguer de l'autre principal genre d'hémoparasites non pigmentaires, à savoir les *Theileria* (Homer et *al.*, 2000 ; Uilenberg, 2006).

Initialement, l'identification d'espèce de *Babesia* a été exclusivement fondée sur l'aspect morphologique des formes intraérythrocytaires ainsi que sur certaines spécificités d'interactions parasite-hôte. Ainsi, plus d'une centaine d'espèces ont été décrites, infectant une large variété de mammifères domestiques et sauvages (Homer et *al.*, 2000 ; Meliani et *al.*, 2006). Ces méthodes traditionnelles sont depuis, supplantées par l'analyse moléculaire de l'ARN ribosomal 18S dont la séquence est particulièrement conservée au sein d'une espèce. Il est probable que des espèces jusque-là considérées comme différentes correspondent à une seule et même espèce, mais présentant des caractéristiques morphologiques différentes suivant le type d'hôte (Meliani et *al.*, 2006). Le tableau (1) résume les principales espèces infectant les animaux domestiques, leurs tiques vecteurs ainsi que leur répartition géographique.

1.2 Morphologie

L'évolution dans l'érythrocyte commence par le trophozoite, circulaire ou elliptique, de petite taille avec un noyau ; puis la taille augmente, le noyau se dédouble, on parle alors de trophoblaste. Celui-ci donne par bourgeonnement 2 ou 4 organismes ovalaires ou piriformes qui peuvent être reliés par leur extrémité la plus fine, le plus souvent deux par deux (aspect géminé) ou encore en tétrade (aspect en «croix de Malte») (Morel, 2000 ; Maslin et *al.*, 2004).

Il est possible de différencier les espèces de babésies par une observation soigneuse de la taille, de la forme et de la position du parasite intraérythrocytaire sur un étalement de frottis sanguin coloré au Giemsa (Bock et *al.*, 2006). *B. bovis* est un petit parasite, habituellement localisé au centre de l'érythrocyte. Il mesure approximativement entre 1 et 1,5 µm de long, 0,5 et 1,0 µm de large et est souvent rencontré par paires situées en angle obtus l'un par rapport à l'autre (Bock et *al.*, 2006). *B. divergens* est aussi un petit parasite, de morphologie similaire à *B. bovis*. Cependant, les paires en angle obtus sont localisées au bord de l'érythrocyte (Zintl et *al.*, 2003). *B. bigemina* est beaucoup plus long et est rencontré par paires à angle aigu l'un par rapport à l'autre. *B. bigemina* a typiquement une forme de poire, mais de nombreuses formes uniques sont rencontrées. Il mesure 3 à 3,5 µm de long et 1 à 1,5 µm de large et les formes par paire ont souvent 2 points rouges discrets dans chaque parasite (*B. bovis* et *B. divergens* n'en possèdent qu'un seul) (Bock et *al.*, 2006).

Tableau 1 : Principales espèces de Babesia infectant les animaux domestiques, leurs tiques vectrices et leur répartition géographique (Bock et *al*., 2004)

Babesia spp	**Principaux vecteurs**	**Distribution géographique**	**Animaux domestiques**
B. bigemina	*Rh. (Boophilus) microplus* *Rh. (Boophilus) decoloratus* *Rh. (Boophilus) annulatus* *Rh. (Boophilus) geigyi* *Rh. Evertsi*	Afrique, Asie, Australie, Amérique du sud et central et Europe austral.	Bovins, buffle
B. bovis	*Rh. (Boophilus) microplus* *Rh. (Boophilus) annulatus* *Rh. (Boophilus) geigyi*	Similaire à *B. bigemina*, mais moins répandue en Afrique à cause de la concurrence de *Rh. (Boophilus) microplus* avec *Rh. (Boophilus) decoloratus*	Bovin, buffle
B. divergens	*Ixodes ricinus* *Ixodes persulcatus*	Europe du nord-ouest, Espagne, Grand Bretagne, Irlande	Bovin
B. major	*Haemaphysalis punctata*	Europe, Afrique du nord-ouest, Asie	Bovin
B. ovata	*Haemaphysalis longicornis*	Asie orientale	Bovin
B. ovis	*Rhipicephalus bursa*	Europe sud-est, Afrique du nord, Asie Moyen-Orient	Ovin et caprin
B. motasi	*Rhipicephalus bursa* *Haemaphysalis punctata*	Europe sud-est, Afrique du nord, Asie	Ovin et caprin
B. caballi	*Dermacentor sp.* *Hyalomma marginatus* *Hyalomma truncatum* *Rhipicephalus evertsi*	Afrique, Amérique du sud et centrale, USA australe, Europe, Asie	Cheval, âne, mulet
B. canis	*Rhipicephalus sanguineus* *Dermacentor sp.* *Haemaphysalis sp.* *Hyalomma sp.*	Europe australe, Amérique du nord, Afrique, Asie, Australie	Chien
B. gibsoni	*Haemaphysalis sp.* *Rhipicephalus sanguineus*	Afrique, Asie, Europe, Amérique du nord	Chien
B. trautmanni	*Rhipicephalus sp.*	Europe australe, ancienne URSS, Afrique	Porc

1.3 Cycle évolutif

Le cycle biologique des babésies (figure 1) est fondamentalement dixène (Maslin et *al.*, 2004): il comporte une première phase qui se déroule chez la tique qui est l'hôte définitif et une deuxième phase qui se développe, chez le vertébré qui est l'hôte intermédiaire (Zintl et *al.*, 2003 ; Bock et *al.*, 2004). Le cycle présente trois stades de reproduction: mérogonie, gamétogonie et sporogonie, avec comme seule cellule cible les érythrocytes chez le vertébré, caractérisé également par une transmission transovarienne chez la tique vectrice (Homer et *al.*, 2000 ; Hunfeld et *al*., 2008; Chauvin et *al.*, 2009; Suarez et Noh, 2011).

À l'occasion du repas sanguin sur son hôte, la tique infectée inocule des sporozoïtes de *Babesia* contenus dans sa salive, ceux-ci envahissent directement les érythrocytes grâce au complexe apical (Potgieter et *al.*, 1979 ; Suarez et Noh, 2011; Schnittger et *al.*, 2012). Une fois à l'intérieur de l'érythrocyte, les sporozoites s'y transforment alors en trophozoites qui vont se multiplier par fission binaire (mérogonie) pour donner deux mérozoites. Ceux-ci provoquent l'éclatement du globule rouge et se retrouvent libres avant de pénétrer dans un nouveau érythrocyte (Bock et *al.*, 2004 ; Hunfeld et *al.*, 2008).

Le mécanisme d'invasion érythrocytaire par les mérozoites (ou sporozoites) se déroule comme suit : dans un premier temps, il se produit un contact initial entre le mérozoite et l'érythrocyte, qui est réversible et aléatoire. Ces interactions ont lieu grâce à des protéines présentes à la surface des mérozoites, dont les plus étudiées sont les membres de la famille «variable merozoite surface antigens» (VMSA) de *B. bovis* (Yokoyama et *al.*, 2006 ; Cooke et *al.*,2006). Une fois l'interaction établie, le mérozoite est réorienté de manière à ce que l'extrémité apicale soit au contact de la membrane érythrocytaire. À la suite d'un repositionnement du mérozoite, celui-ci relâche les protéines et les lipides contenus dans les rhoptries et les micronèmes à l'interface du parasite et du GR infecté (iRBC, «infected Red Blood Cell ») et il se forme une jonction irréversible. Une jonction de déplacement est alors créée autour du mérozoite pour former la vacuole parasitophore. Celle-ci disparaît ensuite et le parasite entouré d'une simple membrane est en contact direct avec le cytoplasme de la cellule infectée (Homer et *al.*, 2000 ; Yokoyama et *al.*, 2006 ; Gohil et *al.*, 2010 ; Suarez et Noh, 2011).

Après quelques cycles, certains mérozoites vont cesser leur multiplication intraérythrocytaire, leur taille va augmenter et ils deviennent de potentiels gamétocytes, formes infectantes pour la tique (Maslin et *al.*, 2004 ; Schnittger et *al.*, 2012).

Dans le tractus intestinal de la tique, les gamétocytes vont subir un ensemble de modifications morphologiques par des mécanismes non définis (se développent en «corps étoilé»), pour devenir compétents à la reproduction sexuelle. Ainsi, ces derniers vont fusionner 2 à 2 pour donner un zygote sphérique, probablement diploïde (Yokoyama et *al.*, 2006). Ces zygotes vont par la suite infester les cellules intestinales, se multiplient par sporogonie pour donner des kinètes mobiles, appelées également ookinètes, qui vont envahir les différents tissus et cellules de la tique via l'hémolymphe, y compris les ovaires où d'autres cycles de multiplication par sporogonie se produisent. L'infection des ovaires permet ainsi la transmission de l'infection aux générations suivantes : c'est la transmission transovarienne (Bock et *al.*, 2004 ; Chauvin et *al.*, 2009). Dans les glandes salivaires, un dernier cycle de fission multiple se produit chez la tique en phase de gorgement, ainsi des sporokinetes donnent des sporontes renfermant des milliers de sporozoites infectants (Bock et *al.*, 2004 ; Schnittger et *al.*, 2012). Pour *B. bigemina*, ces sporozoites infectants se développent au bout du 9ème jour suivant l'attachement de la tique et se produisent uniquement pour les stades nymphaux et adultes (la larve n'est pas infectante) (Potgieter et Els, 1977). Pour *B. bovis*, contrairement à *B. bigemina*, cela se produit durant le 2ème et le 3ème jour qui suivent l'attachement de la larve (Riek, 1966).

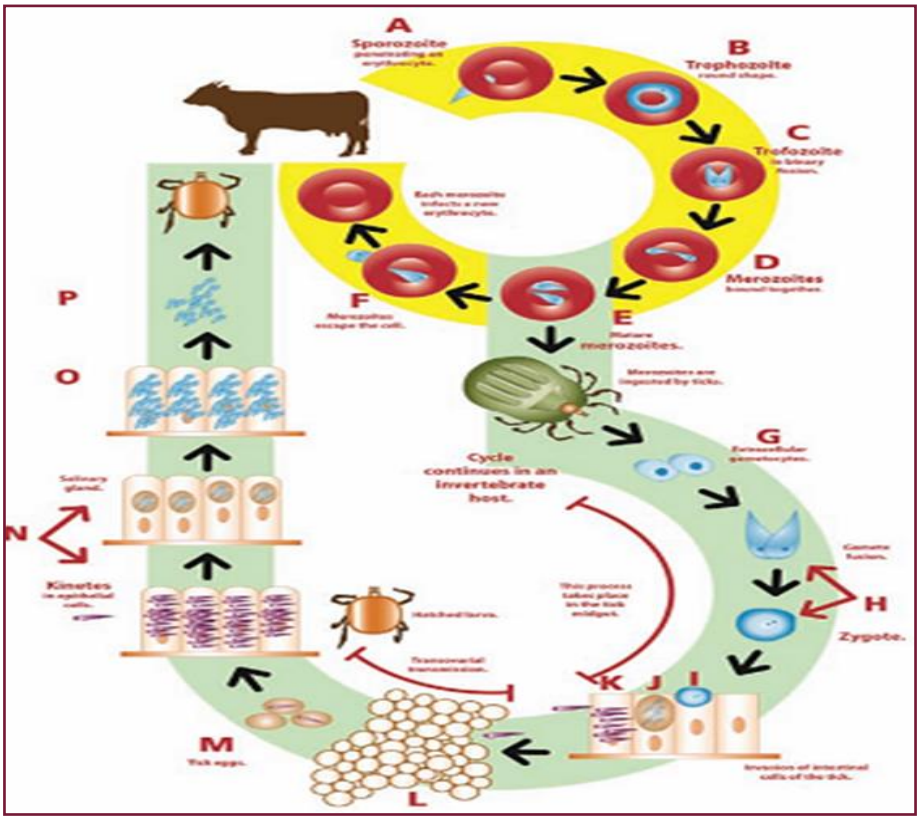


Figure 1 : Cycle de développement de *B. bovis* (Mosqueda et *al.*, 2012)

2. Épidémiologie

2.1 Vecteurs et transmission

Les babésies sont transmises exclusivement par des tiques, et les espèces décrites chez les bovins sont vectorisées par quatre genres principaux qui sont : *Rhipicephalus spp, Hyalomma spp, Haemaphysalis spp* et *Ixodes spp* (Morel, 2000 ; OIE, 2005). Il y a, par ailleurs, des différences d'aptitudes à la transmission entre les genres et les espèces d'un même genre. Ainsi, pour *B. bigemina*, les vecteurs principaux sont: *Rh. (Boophilus) decoloratus, Rh. (Boophilus) geigyi, Rh. (Boophilus) annulatus* et *Rh. (Boophilus) microplus.* Pour *B. bovis*, la transmission se fait principalement par les deux dernières espèces (Morel, 2000 ; Bock et *al*., 2004).

Rh. (Boophilus) annulatus est le vecteur principal de *B. bovis* et *B. bigemina* en Afrique du Nord (Bock et *al*., 2004). C'est une tique monoxène et les trois repas sanguins des trois stases successives se déroulent en général sur le même animal. Elle est largement distribuée au Maghreb dans les zones bioclimatiques de l'humide, du sub-humide et de l'aride supérieur (Bouattour, 2002). La transmission est faite par le stade nymphal voire par les adultes pour *B. bigemina* et larvaire pour *B. bovis* (Pérez-Eid, 2007 ; Figueroa et Camus, 2010).

I. ricinus est le vecteur principal de *B. divergens* (L'Hostis et Seegers, 2002 ; Zintl et *al*., 2003). Cette tique est caractérisée par un cycle triphasique, exophile et télotrope. Elle est très hygrophile, largement distribuée en Europe ; en Afrique du Nord, elle se rencontre sous forme de petites populations dans des biotopes de hautes altitudes (Pérez-Eid, 2007). Au Maghreb, elle est distribuée dans les zones bioclimatiques de l'humide et du sub-humide (Bouattour, 2002). Les adultes sont actives durant la saison froide (de janvier à avril) (Sergent et *al*., 1945). C'est la femelle qui s'infecte au cours du repas et c'est la nymphe qui est infectante (à partir du 3ème jour suivant sa fixation) (Morel, 2000).

La transmission des babésies ne peut se faire que si la parasitémie est faible, c'est le cas de l'infection de *Rh. (Boophilus) microplus* par *B. bigemina*. Si la tique se nourrit sur un bovin malade, les babésies vont provoquer le plus souvent la mort de la tique suite à des lésions intestinales multiples (Morel, 2000). Pour *B. divergens*, une parasitémie élevée semble être au contraire plus favorable à l'infection d'*I. ricinus* (Donnelly et Peirce, 1975).

2.2 Les bovidés et leur sensibilité à *Babesia*

B. bigemina et *B. bovis* sont étroitement associés aux bovins domestiques. Néanmoins, les taurins, les zébus et les buffles d'Afrique peuvent être infectés par ces deux espèces, mais ils sont beaucoup moins sensibles que les bovins domestiques (Morel, 2000 ; Figueroa et Camus, 2010).

Chez le bovin, la sensibilité à *Babesia* est fonction non seulement des conditions générales de l'animal et de son immunité active ou passive, mais aussi à la susceptibilité de la race. En effet, les races autochtones ou locales sont habituellement plus résistantes et seuls quelques sujets développent une forme atténuée de la maladie. Cette résistance est probablement le résultat de la sélection naturelle pendant des siècles dans la population bovine. En revanche, les races améliorées, orientées vers une grande productivité, telles que la Frisonne pie noire, la Montbéliarde, la Holstein ou les produits de leurs croisements sont beaucoup plus sensibles (Morel, 2000 ; Figueroa et Camus, 2010).

D'une façon paradoxale, *B. divergens* des bovins peut infecter expérimentalement la gerbille de Mongolie (*Meriones unguiculatus)* qui peut être sensible même non splénectomisée (Lewis et William, 1979). Les humains splénectomisés sont également réceptifs et sensibles à *B. divergens* (Morel, 2000 ; Zintl et *al.*, 2003).

En ce qui concerne l'âge, les jeunes bovins sont réputés peu ou pas sensibles à l'infection. Cette résistance naturelle s'explique par l'immunité dont les mécanismes seront détaillés dans la partie correspondante (voir plus loin).

2.3 Prévalence et facteurs de risque

Les prévalences des *Babesia spp* chez le bovin dépend directement de l'aire de répartition des tiques vectrices. Pour *B. bigemina* et *B. bovis*, elles sont surtout réparties en Afrique, Asie, Australie, Amérique centrale et du Sud (Bock et *al.*, 2004). L'aire de répartition de *B. divergens* s'étend de l'Europe du Nord jusqu'en Afrique du Nord (Zintl et *al*., 2003 ; Bock et *al.*, 2004 ; Bouattour et *al.*, 2004). Les prévalences sont influencées principalement par la saison, la conduite d'élevage, la race de bovin, son âge et son statut immunitaire (Morel, 2000).

Les séroprévalences des *Babesia spp* chez l'espèce bovine dans plusieurs pays du monde sont résumées dans le tableau suivant.

Tableau 2 : Séroprévalence des anticorps anti-*Babesia spp* chez le bovin

Année	Pays	*Babesia spp*	Technique	Prévalence %	Référence
1999	Mexique	*B.bovis*	iELISA	73.8	Solorio-Rivera *et al.*, 1999
1999	Turquie	*B.bigemina*	ELISA	53.7	Sevinc et *al.*, 2001
2000	Afrique du Sud	*B.bovis* *B.bigemina*	IFAT IFAT	0 94	Mtshali et *al.*, 2004
2001	Italie	*B.bovis* *B.bigemina*	ELISA ELISA	0 23.1	Cringoli et *al.*, 2002
2001	France	*B.divergens*	IFAT	7	Devos et Geysen, 2004
2002	Maroc	*B.bigemina*	ELISA	13	El Haj *et al.*, 2002a
2002	Soudan	*B.bigemina*	iELISA	10.7	Salih et *al.*, 2009
2003	Guatemala	*B.bovis* *B.bigemina*	IFAT IFAT	95.8 89.6	Teglas *et al.*, 2005
2004	Tunisie	*B.divergens*	IFAT	44,6	Bouattour et *al.*, 2004
2005	Mozambique	*B.bovis*	iELISA	39	Alfredo et *al.*, 2005
2005	Maroc	*B.bovis* *B.bigemina* Co-infection	cELISA IFAT	19.4 17.6 2.2	Ait Hamou et *al.*, 2012a
2005	Brésil	*B.bovis* *B.bigemina*	iELISA iELISA	77.7 75.5	Barros et *al.*, 2005
2006	Puerto Rico	*B.bovis*	IFAT	26	Urdaz-Rodríguez et *al.*, 2009
2006	Portugal	*B.bovis* *B.bigemina*	iELISA	79 52	Silva et *al.*, 2009
2007	France	*B.divergens*	IFAT	14	Agoulon et *al.*, 2012
2009	Tunisie	*B.bovis* *B.bigemina* Co-infection	IFAT IFAT	56.5 41.4 25.8	M'ghirbi et Bouattour, 2009
2010	Malaysia	*B.bovis* *B.bigemina* Co-infection	IFAT IFAT	17.0 16.0 9.0	Rahman et *al.*, 2010
2010	Turquie	*B.bovis* *B.bigemina*	IFAT IFAT	13.3 37.5	Kalkan, 2010
2010	Kenya	*B.bigemina*	ELISA	19	Gachohi et *al.*, 2010
2010	Norvège	*B.divergens*	IFAT	27	Hasle et *al.*, 2010
2010	Mozambique	*B.bovis* *B.bigemina*	iELISA iELISA	78.8 76	Tembue et *al.*, 2011a
2010	Syrie	*B.bovis* *B.bigemina* Co-infection	IFAT ELISA IFAT ELISA IFAT ELISA	18.36 15.46 21.47 18.84 13.04 7.73	Terkawi et *al.*, 2012
2011		*B.bovis*	IFAT ELISA	39.7 35.5	Terkawi et *al.*, 2011

	Afrique du Sud	*B.bigemina* Co-infection	IFAT ELISA IFAT ELISA	36.5 30 26.3 18.2	
2011	Maroc	*B.bovis* *B.bigemina*	cELISA IFAT	10,9 9,4	Ait Hamou et *al.*, 2011
2011	Egypte	*B.bovis* *B.bigemina*	ELISA ELISA	9.27 10.6	Ibrahima et *al.*, 2013
2012	Egypte	*Babesia spp.*	IFAT	15.82	Nayel et *al.*, 2012

En Algérie, l'étude menée par l'équipe de Sergent et collaborateurs à l'Institut Pasteur (1922-1945) a permis de révéler, sur les 3.875 cas de piroplasmoses diagnostiqués au laboratoire, 28,8% sont due à *B. bovis* et 2,9% à *B. bigemina* (Sergent et *al*., 1945). L'étude de Ziam et Benaouf (2002) à l'Est Algérien a révélé une prévalence de 5,6 % pour *B. bovis* sur les 44 bovins examinés par la méthode du frottis sanguin (Ziam et Benaouf, 2004).

3. Pathologie

3.1 Photogénie et signes cliniques

La sévérité de l'infection varie principalement en fonction de l'âge et du statut immunitaire de l'animal ainsi que des infections intercurrentes (Schnittger et *al.*, 2012). La forme aiguë de la maladie est caractérisée principalement par une forte fièvre (> 41°C), de l'anémie, de l'ataxie, de l'hémoglobinurie, de l'ictère, des avortements et parfois de la mort de l'animal (Bock et *al.*, 2004 ; Schnittger et *al*, 2012). La pathogenèse de la babésiose bovine diffère quelque peu en fonction de l'agent pathogène responsable. Généralement, *B. bovis* est plus pathogène que *B. bigemina* et *B. divergens* (Brown et *al.*, 2006a). En effet, pour l'infection par *B. bovis*, des signes nerveux sont fréquents en raison de la séquestration des érythrocytes infectés dans les capillaires cérébraux (Suarez et Noh, 2011). Toujours dans le cas d'une infection par *B. bovis*, la parasitémie maximale est généralement faible (inférieure à 1%) et les phénomènes d'hémolyse sont alors relativement peu importants. Cependant, l'infection induit des modifications de différents composants plasmatiques, ce qui induit de la stase circulatoire, un état de choc et de la coagulation intravasculaire (Bock et *al.*, 2004). Par contre, *B. bigemina* est responsable d'une hémolyse brutale qui s'accompagne d'hémoglobinémie et de fièvre. La parasitémie peut être supérieure à 10% et peut atteindre 30% (Bock et *al.*, 2004). La parasitémie et l'apparence clinique de l'infection à *B. divergens* sont similaires à l'infection due à *B. bigemina* (OIE, 2010).

Les animaux qui survivent à la primo-infection présentent par la suite une parasitémie pratiquement indétectable par examen microscopique (état de prémunition) (Allred et Al-Khedery, 2006). Cette infection subclinique peut persister durant de longues périodes et les animaux infectés agissent alors comme réservoirs du parasite (Morel, 2000 ; Brown et *al*., 2006b).

Les anomalies biologiques observées chez les bovins infectés sont principalement une anémie régénérative avec un nombre d'hématies inférieur à 3 millions/mm³. Le sang alors apparaît pâle, poisseux et coagule mal. Une leucocytose, ainsi qu'une augmentation du nombre et du pourcentage de lymphocytes sont observés vers le 16ème jour suivant la maladie. Une chute du taux de calcium dans le plasma des animaux infectés par *B. bigemina* et *B. bovis* est également observée. Une alcalose métabolique et respiratoire est récurrente chez les animaux atteints d'une infection aigue par *B. bovis*. L'altération des fibrogènes déclenche d'importants dysfonctionnements rénaux et hépatiques, ainsi qu'une anoxie généralisée des tissus (Figueroa et Camus, 2010).

À l'autopsie, on retrouve de l'anémie (carcasse pâle) ou de l'ictère (muqueuses jaunes), aussi bien pour *B. bovis* que pour *B. bigemina*. On constate également une hépatonéphrite sévère: foie hypertrophié et décoloré, stase biliaire importante et reins foncés et hypertrophiés (Jammes, 2009).

3.2 Immunologie

Il est important de noter que les *Babesia spp* ont des cycles biologiques complexes. Chaque stade de leur développement implique un ensemble d'antigènes exigeant un type particulier de réponse immunitaire.

3.2.1 Réponse immunitaire

Suite à une primo-infection, l'animal développe une immunité dite de « prémunition », qui le protège contre les réinfections. Elle résulte d'un contact continu avec le parasite qui est nécessaire pour maintenir les cellules mémoires. Ainsi, lors de l'infection des bovins par *B. bovis, B. bigemina ou B. divergens,* le parasite peut persister plusieurs mois voire plusieurs années à des taux de parasitémie très bas (Chauvin et *al.*, 2009). Cette immunité de « prémunition » est la base d'utilisation des vaccins vivants atténués (Brown et *al.*, 2006b).

Enfin, une résistance liée à l'âge a été rapportée chez les bovins. En effet, les veaux âgés de moins de 6 mois et d'une année sont résistants respectivement à *B. bovis* et *B. divergens*, ils présentent rarement des signes cliniques de la maladie après l'infection et quel que soit le statut

immunologique de la mère. Des études ont montré que des veaux nés de mères séronégatives résistent aussi à l'infection (Brown et *al.*, 2006b).

Mécanismes de l'immunité (voir figure 2)

Les mécanismes immunitaires décrits pour *B. bovis* montrent que l'immunité est à la fois cellulaire et humorale, dirigée contre les parasites intraérythrocytaires et les mérozoites libres. Le rôle de l'immunité cellulaire a été démontré. Ainsi, les animaux splénectomisés présentent une grande sensibilité à l'infection (Brown et *al.*, 2006b).

Lors d'une infection aigue par *B. bovis*, l'immunité innée est essentielle et requière la production d'IL-12 et 18 qui vont stimuler les NK qui produisent un taux élevé d'IFN-γ entrainant la production de NO (Nitric Oxyde) par les macrophages (Chauvin et *al.*, 2009).

Au cours d'une infection chronique, la lyse des hématies est principalement induite par le NO produit par les macrophages de la rate activés par l'IFN-γ et le TNF-α. Ce mécanisme est inhibé par IL-4 et IL-10. La réponse immunitaire humorale ne permet pas une élimination totale des parasites. Néanmoins, plusieurs mécanismes permettent de contrôler la parasitémie : une action cellulaire cytotoxique anticorps-dépendante induite par IgG1, une neutralisation qui est induite par IgG2 et une activation du complément induite par IgG1 et IgG2 (Chauvin et *al.*, 2009).

Récemment, une comparaison entre la réponse immunitaire des adultes et des veaux qui sont résistants à l'infection a montré que la réponse immunitaire innée des jeunes veaux infectés par *B. bovis* implique l'induction précoce de IL-12, IFN-γ et la synthèse NO dans la rate (cela permet de tuer les parasites suffisamment de façon précoce afin d'éviter l'installation de la maladie). En revanche, chez les bovins adultes, IL-10, IFN-γ et IL-12 sont produits en même temps. Ainsi la réponse Th1 et la production de NO dans la rate va diminuer ce qui va permettre à la maladie de s'exprimer (inhibition par IL-10) (Brown et *al.*, 2006b ; Chauvin et *al.*, 2009). À l'inverse, lors de l'infection chronique, le taux bas de la parasitémie stimule la réponse immunitaire adaptative type Th1 qui active la production des IgG, en particulier IgG2 (opsonisation) et l'activité cytotoxique des macrophages (NO) (Allred, 2001 ; Chauvin et *al.*, 2009).

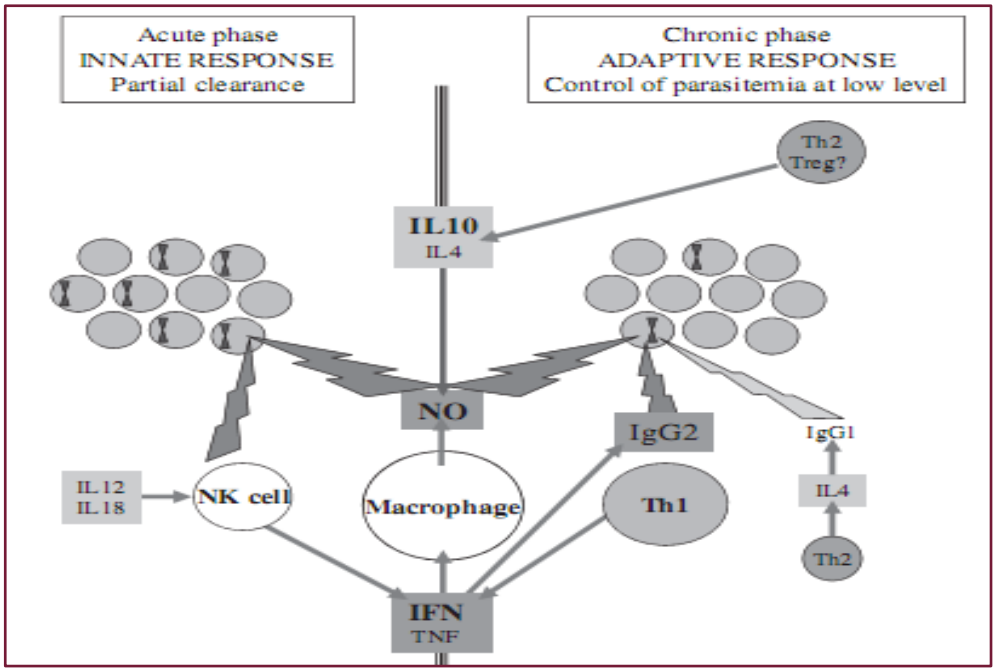


Figure 2 : Mécanismes effecteurs et régulateurs développés au cours de l'infection par *B.bovis* (Chauvin et *al.*, 2009)

3.2.2 Mécanismes d'échappement immunitaire

Les espèces de *Babesia spp* ont développé des stratégies qui leurs permettent de limiter voire éviter les effets de la réponse immunitaire pour pouvoir persister chez l'hôte.

- *La variation antigénique et la cytoadhérence (VESA) :*

Certains *Babesia* s'adhérent aux cellules de l'endothélium vasculaire, il résulte donc une séquestration des érythrocytes infectés dans les capillaires, cela évite leur passage dans la rate et donc leur phagocytose. Pour *B. bovis*, cette cytoadhérence est assurée par Variant Erythrocyte Surface Antigen1 (VESA1), qui sont des protéines exposées à la surface des érythrocytes infectés (Gohil et *al.*, 2010). De plus, lorsque des anticorps sont produits, le parasite développe une autre stratégie pour protéger cette cytoadhérence, c'est la variation antigénique par conversion des gènes codant pour VESA1, cela permet une variation rapide des épitopes exposés dans la population initiale du parasite et donc échappement aux anticorps (Chauvin et *al.*, 2009).

- *Polymorphisme antigénique :*

La surface des formes libres des mérozoites est recouverte par « Glycosyl Phosphatidyl Anchored Proteins » qui sont des protéines impliquées dans l'attachement à la surface des érythrocytes, ce sont des antigènes immunodominants, différents d'une espèce à une autre. Ces protéines de surface sont caractérisées par un polymorphisme antigénique qui permet au

mérozoites libres de s'échapper au système immunitaire. Chez *B. bovis*, les antigènes variables de la surface de mérozoite (VMSA) sont MSA-1 et MSA-2. L'analyse des molécules MSA des isolats vaccinaux a montré des variations étendues des séquences en fonction des souches vaccinales utilisées, ce qui a résulté d'un manque de réactivité immunologique croisée des MSA-1 (Chauvin et *al.*, 2009).

4. Diagnostic

4.1 Diagnostic clinique et épidémiologique

La symptomatologie, l'historique clinique du troupeau et la présence de vecteurs sont à la base d'un diagnostic de suspicion de la babésiose (Figueroa et Camus, 2010). Compte tenu des similitudes avec plusieurs autres entités pathologiques, ce diagnostic est également différentiel, notamment avec les autres maladies estivales. Il s'agit de l'anaplasmose et de la theiériose (tableau 3).

Tableau 3 : Diagnostic différentiel des formes aiguës des babésioses avec l'anaplasmose et la theiériose (Gharbi et *al.*, 2012)

Maladie/agent pathogène		**Signes cliniques**			
		Anémie	Hémoglobinurie	Ictère	Autres
Babésiose	*B.bovis*	1+ à 2+	Peu importante (urines bordeaux)	Fréquent et net	Diarrhée noirâtre, signes nerveux, épistaxis
	B. bigemina	1+ à 3+	Fréquente (urines brun café)	Plus modéré	
	B. divergens	1+ à 3+	Fréquente (urines brun café)	Plus modéré	Fièvre courte (2-3 j), diarrhée noirâtre en jet, chronicité
Anaplasmose	*A. marginale*	2+ à 3+	Absente	Tardif inconstant	Anémie avec muqueuses blanc porcelaine, Atonie ruminale constante
Theiériose	*Th. annulata*	1+ à 3+	inconstante	Tardif, inconstant	Hypertrophie ganglionnaires, pétéchies

4.2 Diagnostic de laboratoire

4.2.1 Le frottis sanguin

C'est actuellement la technique de diagnostic de laboratoire la plus pratiquée en vue de la confirmation d'une suspicion de babésiose en raison de sa facilité de réalisation (Mosqueda et *al.*, 2012). Celle-ci consiste à confectionner des frottis minces à partir de sang prélevé des capillaires, comme ceux du bout de l'oreille ou de la queue, puisque *B. bovis* est plus fréquente dans les capillaires sanguins, ou bien à partir du sang provenant de la veine jugulaire pour *B. bigemina* et *B. divergens*, étant donné que ces deux espèces sont uniformément distribuées dans tous les vaisseaux sanguins (Bock et *al.*, 2006 ; Mosqueda et *al.*, 2012). La sensibilité de cette technique est telle qu'elle permet de détecter des parasitémies aussi faibles qu'un seul parasite pour 10^6-10^7globules rouges (Potgieter et *al.*, 1979 ; Bose et *al.*, 1995). La différentiation entre espèces est généralement bonne. Par ailleurs, cette technique est habituellement adaptée à la détection dans le cas d'infections aigues, mais pas pour la détection de porteurs pour lesquels la parasitémie est en général faible (OIE, 2005). Dans ce dernier cas, les étalements épais semblent être plus adaptés, car ils permettent d'analyser un grand nombre d'érythrocytes, de ce fait, ils sont 10 fois plus sensibles que les frottis minces. En revanche, la différentiation entre les différentes espèces de babésies est très difficile voire impossible contrairement aux étalements fins (Bock et *al.*, 2006).

Des étalements d'organes peuvent être également réalisés à partir, par ordre de préférence, du cortex cérébral, du rein, du foie, de la rate ou de la moelle osseuse. Cette méthode est surtout adaptée pour la détection de *B. bovis* (accumulation dans les capillaires d'organes) (OIE, 2005).

Les *Babesia spp* sont à différencier d'autres pathogènes des érythrocytes tels que les *Thelieria spp* et les *Anaplasma spp* et ne doivent pas être confondues avec les reliquats de noyaux d'érythrocytes (corps de Jolly) ou avec les artéfacts de coloration (Figueroa et Camus, 2010).

4.2.2 Mise en évidence du parasite sur culture ou par infestation expérimentale

Les méthodes de culture cellulaire *in vitro* ont été utilisées pour confirmer la présence de *Babesia spp* dans des cas d'infections (Holman et *al.*, 1993) et *B. bovis* a été clonée en culture (OIE, 2005). La parasitémie minimale détectable par cette méthode est peut être aussi faibles qu'1 parasite pour 10^{-1}⁰ globules rouges. Ce qui en fait une méthode très sensible pour prouver l'infection. Sa spécificité de 100% est le principal atout de cette technique qui reste cependant lourde à mettre en œuvre (Bock et *al.*, 2006).

La confirmation de l'infection chez un animal suspect peut aussi être réalisée par inoculation expérimentale (transfusion jugulaire d'approximativement 500 ml de sang) à un veau splénectomisé exempt de *Babesia*. Le veau est alors suivi pour la détection de l'infection. Cette méthode est lourde, couteuse et évidemment non applicable à un diagnostic de routine. Des gerbilles de Mongolie (*Meriones unguiculatus*) peuvent cependant être utilisées pour mettre en évidence la présence de *B. divergens* (OIE, 2005). Ces techniques restent l'apanage de centres spécialisés et perdent de leur intérêt depuis l'apparition des techniques d'amplification de génome par PCR.

4.2.3 Les tests sérologiques

- *Indirect Fluorescence Antibody Test (IFAT)*

C'est la technique la plus largement utilisée pour la détection de tous les *Babesia spp* (Bose, 1995) et possède une bonne spécificité et sensibilité (OIE, 2010 ; Mosqueda et *al.*, 2012). Elle permet la détection des anticorps entre 8 et 14 jours voire 24 mois après une infection expérimentale (Figueroa et Camus, 2010). Le principe de l'IFAT est le suivant : les mérozoites sont fixés sur une lame porte-objet. Les sérums sont dilués puis incubés en présence des mérozoites. Après lavage, les anticorps spécifiquement fixés, sont mis en évidence par un anticorps secondaire conjugué à l'isothiocyanate de fluorescéine. La lecture des lames se fait alors grâce à une microscopie à fluorescence (Mosqueda et *al.*, 2012).

L'IFAT est facile à réaliser mais elle exige une bonne qualité d'Ag qui sont difficiles à obtenir. Elle permet de différencier entre les différentes espèces de babésies mais certaines réactions croisées ont été rapportées, en particulier avec les anticorps anti-*B. bovis* dans l'épreuve contre *B. bigemina* (problème dans les régions où les 2 espèces coexistent), ainsi pour *B. bigemina,* l'IFAT est très peu spécifique. De plus, elle possède le désavantage de ne pouvoir être réalisée que sur un faible nombre d'échantillons, sa lecture est longue et subjective et sa standardisation est difficile (Bose et *al.*, 1995 ; Bock et *al.*, 2006 ; OIE, 2010 ; Mosqueda et *al.*, 2012). Cependant, l'IFAT est jusqu'à présent considérée comme étant la méthode de référence pour estimer l'endémicité des babésioses et le niveau de risque de l'apparition de la maladie clinique (Bose et *al.*, 1995 ; Urdaz-Rodríguez et *al.*, 2009).

- *Tests immuno-enzymatiques (ELISA)*

Méthode de plus en plus utilisée. Elle possède l'avantage d'être non subjective, réalisable sur un grand nombre d'échantillons et elle est plus spécifique que l'IFAT (Mosqueda et *al.*, 2012).

Il existe de nombreuses variantes de la technique développées pour la détection de divers *Babesia spp* et qui sont basées initialement sur l'utilisation des antigènes brutes (mérozoites entiers). Cependant, elles manquent de spécificité et génèrent ainsi de nombreuses réactions croisées, ce qui a conduit à la mise au point d'autres méthodes basées sur l'utilisation d'antigènes recombinants et d'anticorps monoclonaux qui sont caractérisés par une grande spécificité et de très faibles réactions croisées (Mosqueda et *al.*, 2012).

Plus récemment, un test ELISA a été validé à l'échelle internationale pour le diagnostic de *B. bovis*. Néanmoins, malgré les efforts de plusieurs investigateurs dans différents laboratoires, aucun test ELISA n'est validé de manière similaire pour *B. bigemina* et *B. divergens* (OIE, 2010).

- *Immunochromatographie test (ICT)*

C'est un test de diagnostic rapide qui permet la détection d'anticorps spécifiques dans de faibles quantités de sérum au moyen d'anticorps spécifiques et d'antigènes recombinants. C'est un test très pratique car il est facile à réaliser et à lire (Mosqueda et *al.*, 2012).

L'ICT a été développé pour *B. bovis* et *B. bigemina* (Kim et *al.*, 2007). Tous ces tests sont basés sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux de lapin et des antigènes recombinants spécifiques de chaque *Babesia spp*, tels que MSA-2 pour *B. bovis* et RAP-1 pour *B. bigemina*. La concordance avec les tests standards ELISA et IFAT a été évaluée pour *B. bovis* (92.5 et 90.3%, respectivement) et *B. bigemina* (96.8 et 92.5%, respectivement) (Mosqueda et *al.*, 2012). Des ICT combinés ont été également mis en place pour une détection simultanée de *B. bigemina/B. bovis* (Kim et *al.*, 2008). Ce test ne nécessite pas de personnel entrainé ni d'équipement spécialisé, réalisable en quelques minutes et stable aux différentes températures. Ces nombreux avantages font que l'ICT est le test de diagnostic du futur (Mosqueda et *al.*, 2012).

4.2.4 Méthodes de biologie moléculaire

- *La réaction de polymérisation en chaîne (PCR)*

La PCR a été appliquée au diagnostic de la babésiose, en utilisant des amorces spécifiques, du gène codant pour le gène de l'ARNr 18S (Buling et *al.*, 2007 ; Schnittger et *al.*, 2012). Des essais d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) se sont révélés très sensibles particulièrement pour la détection de *B. bovis* et *B. bigemina* chez les bovins. Des niveaux de détection aussi faibles que 3 érythrocytes parasités dans 20 µl (ou bien 1 par 10^9 cellules) ont été rapportés. Un certain nombre de techniques de PCR permettant la détection et la

différentiation des espèces de *Babesia* ont été décrites. Des épreuves de PCR permettant de différencier les isolats de *B. bovis* ont été aussi décrites (Bock et *al*., 2006 ; OIE, 2010). En revanche, ces épreuves de PCR ne sont pas adaptées à des tests à grande échelle et ne sont pas prêtes de remplacer les épreuves sérologiques comme méthode de choix pour les études épidémiologiques. Néanmoins, elles sont utiles comme épreuves de confirmation et dans certains cas pour des épreuves édictées par la réglementation (Bock et *al*., 2006 ; OIE, 2010).

- *La Reverse Line Blot (RLB)*

La RLB est une technique qui se base sur l'amplification de séquences 16S ribosomales conservées et communes aux deux genres *Babesia* et *Theileria* (les amorces sont appelées «catch all Theileria Babesia»), ainsi qu'aux rickettsies appartenant aux genres *Anaplasma* et *Ehrlichia* (« catch all Ehrlichia Anaplasma ») (Gharbi et *al.*, 2012). Cette technique permet de mettre en évidence tous les pathogènes transmis par les tiques (les co-infections) appartenant à ces taxons (Sparagano et Jongejan, 1999 ; Gharbi et *al.*, 2012). Elle a l'avantage d'avoir une sensibilité suffisamment bonne pour détecter les porteurs asymptomatiques. De plus, elle s'avère économique. En effet, sur la même membrane il est possible de rechercher plusieurs génomes de pathogènes sur 40 échantillons différents (Gharbi et *al.*, 2012). Cette technique est certainement précieuse lorsque plusieurs agents pathogènes sont présents dans le même échantillon, mais elle reste inadaptée au diagnostic individuel des cas cliniques (Mosqueda et *al.*, 2012).

5. Moyens de lutte

5.1 Traitement

Le traitement est basé sur l'emploi des médicaments chimiques. Son succès dépend à la fois d'un diagnostic précoce et la rapidité de mise en œuvre d'un traitement efficace. Un grand nombre de composés chimiques a été rapporté, certains étaient très spécifiques et efficaces, mais beaucoup d'entre eux ont été retirés du marché pour plusieurs raisons, telles que le problème de résidus médicamenteux. De plus, leur utilisation non rationnelle à des doses faibles notamment dans le cadre de chimioprophylaxie, conduit à l'apparition des phénomènes de résistances parasitaires envers ces médicaments, d'où la nécessité de développer de nouveaux médicaments qui se caractérisent par une grande spécificité et efficacité contre le parasite, une faible toxicité pour l'animal et surtout pour faire face aux problèmes de rémanence des

composés chimiques dans les produits destinés à la consommation (viande et lait) (Vial et *al.*, 2006 ; Mosqueda et *al.*, 2012).

L'Imidocarb est le principal médicament utilisé chez les animaux et le seul à permettre une élimination totale du parasite chez l'hôte. Il a été souvent employé dans le traitement et la prophylaxie de la babésiose et de l'anaplasmose chez les bovins. Le principal inconvénient est sa persistance dans l'organisme après le traitement (accumulation dans les noyaux cellulaires) (Mosqueda et *al.*, 2012).

L'identification de nouvelles cibles thérapeutiques est habituellement basée sur les voies métaboliques et les structures cellulaires qui sont différentes entre le parasite et son hôte, et sont actuellement révolutionnées par l'évènement génomique (Vial et *al.*, 2006). Ainsi, pour *Babesia spp*, le complexe apical est actuellement l'une des principales cibles thérapeutiques étant donné son rôle essentiel dans la survie parasitaire. De plus, le génome de *B. bovis* a été récemment séquencé, ce qui a permis une meilleure compréhension des mécanismes métaboliques notamment en effectuant des comparaisons avec des génomes des autres parasites apparentés (*Plasmodium falciparum* et *Theileria*), permettant ainsi d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques (Brayton et *al.*, 2007 ; Mosqueda et *al.*, 2012).

De nouvelles molécules très efficaces contre les babésies (telles le Triclosan et Epoxomicin) sont mises au point, malheureusement aucune d'entre elles n'est encore disponible sur le marché (Mosqueda et *al.*, 2012).

Récemment, une nouvelle cible thérapeutique, la Cysteine Proteases (CP), a été identifiée comme un inhibiteur pour certains Apicomplexa. Chez *Babesia*, elle réduit l'invasion *in vitro* des érythrocytes et la croissance de *B. bovis*. Le gène codant pour cette CP a été identifié pour *B. bigemina*, il s'agit d'un gène de la famille C1 nommé babesipain-1 (Mosqueda et *al.*, 2012).

5.2 Prophylaxie

La meilleure option pour contrôler la babésiose reste certainement la vaccination. Celle-ci a été depuis le début, effectuée avec divers degrés de succès en se basant sur des vaccins vivants atténués puis sur des vaccins inactivés (Zintl et *al.*, 2003). Les vaccins vivants atténués n'étaient pas entièrement sûrs (risque de réversion des souches vaccinales et développement de la maladie), de ce fait, ces vaccins ont été surtout recommandés pour les jeunes (résistance naturelle) ou bien chez les adultes protégés par des doses d'Imidocarb. Cette approche malgré certains succès sur le terrain, était très coûteuse et laborieuse, de plus les adultes n'étaient pas

véritablement protégés (Zintl et *al.*, 2003 ; OIE, 2010). Quant aux vaccins inactivés, le risque de réaction post-vaccinale était faible, cependant, ils présentent un faible pouvoir immunogène. Pour les améliorer, divers adjuvants toxiques ont été employés (Zintl et *al.*, 2003).

Des efforts importants ont été consacrés ces dernières années à la recherche de nouveaux vaccins sous unitaires notamment recombinants protégeant contre la maladie. Les travaux les plus avancés dans ce domaine sont ceux enregistrés pour *B. divergens*, par l'identification de la protéine de surface de mérozoite Bd37 (PCR-RFLP). Cette dernière semble être une perspective intéressante pour le développement d'un vaccin recombinant et subit actuellement une phase de test en plein champ (Zintl et *al.*, 2003; Brown et *al.*, 2006a). De plus, le séquençage du génome de *B. bovis* et sa comparaison avec les génomes de *Plasmodium falciparum* et *Theileria parva* a permis la caractérisation de la famille du gène ***ves1*** impliqué dans la persistance du parasite chez l'hôte (cytoadhérence, séquestration et évasion immunitaire). Par ailleurs, une autre famille de gènes *smorf* a été récemment découverte et qui joue un rôle dans les variations des antigènes de surface des érythrocytes infectés (Brayton et *al.*, 2007 ; Chauvin et *al.*, 2009).

Ces découvertes vont permettre certainement la compréhension des voies métaboliques pour les *Babesia spp* et constituent ainsi un potentiel chemin pour le développement de nouveaux médicaments et vaccins.

III. 2. *Anaplasma spp* et les anaplasmoses bovines

Les bactéries du genre *Anaplasma* sont des micorganismes hémotropes, intracellulaires obligatoires, transmises par des tiques dures. Deux principales espèces sont connues pour causer la maladie chez les bovins, *A. marginale* qui infecte les érythrocytes et *A. phagocytophilum* infectant principalement les granulocytes neutrophiles.

1. Biologie

1.1 Position taxonomique

Les anaplasmes sont classés dans le genre *Anaplasma* appartenant à la famille des Anaplasmataceae et à l'ordre des Rickettsiales dont la taxonomie a été bouleversée suite à l'application des outils de phylogénie moléculaire. En effet, Dumler et collaborateurs (2001) ont établi la nouvelle classification basée sur l'analyse des séquences des ARNr 16S, des gènes des opérons gro *ESL* et l'analyse des gènes codant pour les protéines de surface (figure 3).
Ainsi, l'ordre des Rickettsiales comporte deux familles ; la famille des *Rickettsiaceae*, bactéries occupant un compartiment intracytoplasmique au sein de la cellule hôte et la famille des

Anaplasmataceae, bactéries occupant un compartiment intravacuolaire qui comporte les genres *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Neorickettsia* et *Wolbachia*. De plus, Dumler et collaborateurs (2001) ont inclus dans le genre *Anaplasma : Anaplasma bovis* (précédemment *Ehrlichia bovis*), *Anaplasma platys* (précédemment *Ehrlichia platys*) et *Anaplasma phagocytophilum* qui regroupe les espèces anciennement nommées *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi* et l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire humaine. Ces trois agents présentent tout de même des différences et sont définis comme des variants ou biovars au sein de cette espèce : variant bovin, équin et humain (Kocan et *al.*, 2010 ; Aubry et Geale, 2011 ; Rar et Golovljova, 2011).

Le genre *Anaplasma* regroupe six espèces qui parasitent les cellules hématopoïétiques et présentent entre elles un degré de similarité d'au moins 96,1% sur l'ARNr 16S (Kocan et *al.*, 2010). L'espèce type est *Anaplasma marginale* (1910). Leurs principales caractéristiques sont résumées dans le tableau 4.

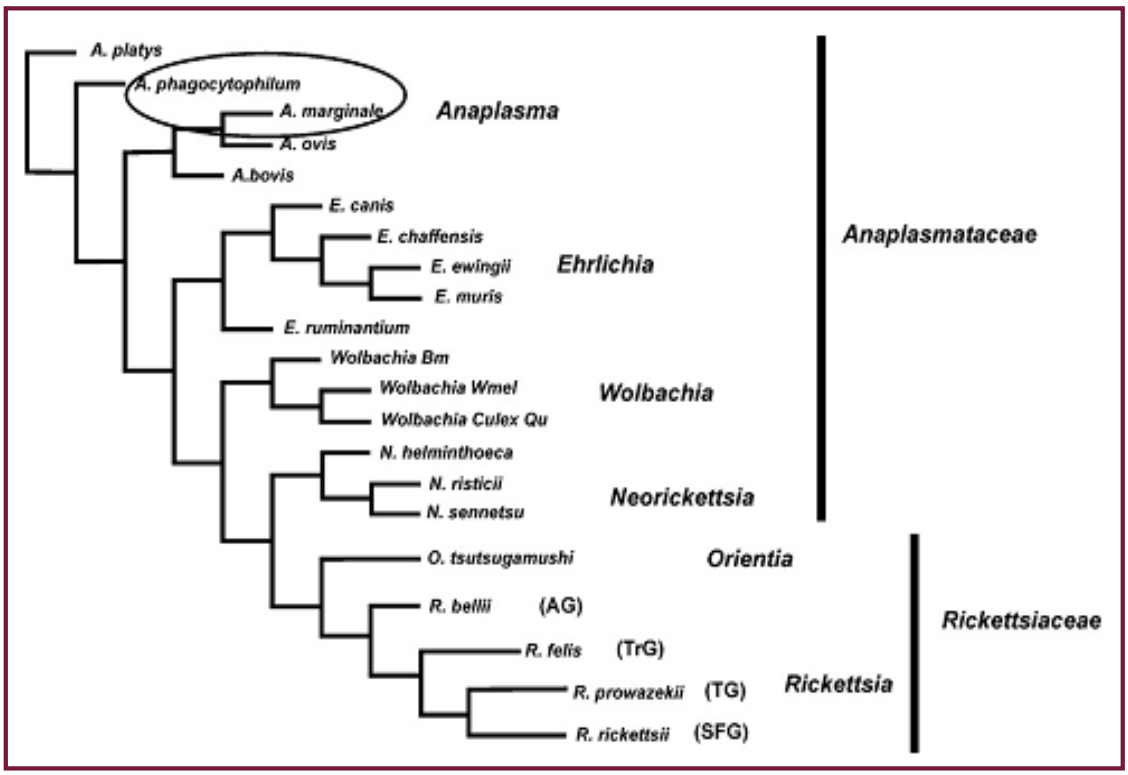


Figure 3 : Phylogramme de l'ordre des Rickettsiales sur la base de l'analyse des séquences des ARNr 16S (Brown, 2012)

Tableau 4: Espèces du genre *Anaplasma* et leurs principales caractéristiques **(**Rymaszewska et Grenda, 2008 ; Rar et Golovljova, 2011)

Espèces		Cellules cibles	Vecteurs primaires	Principaux hôtes	Pathologie
avant 2001	**après 2001**				
Ehrlichia phagocytophila, *E. equi* et l'agent de EGH	***Anaplasma phagocytophilum***	Granulocytes	*Ixodes spp.*	Bovins, ovins, chiens, chevaux, rongeurs, homme	Anaplasmose granulocytaire animale et humaine
Anaplasma marginale	***Anaplasma marginale***	Erythrocytes	*Dermacentor spp., Rhipicephalus spp*.	Bovins, ruminants sauvages	Anaplasmose bovine
Anaplasma centrale	*Anaplasma centrale*	Erythrocytes	*Rhipicephalus simus*	Bovins	Anaplasmose bénigne des bovins
Anaplasma ovis	*Anaplasma ovis*	Erythrocytes	*Dermacentor spp. Rhipicephalus spp*	Ovins, caprins, ruminants sauvages	Anaplasmose ovine
Ehrlichia bovis	*Anaplasma bovis*	Monocytes	*Amblyomma spp., Rhipicephalus spp. Hyalomma spp*.	Bovins, bisons	Anaplasmose bovine
Ehrlichia platys	*Anaplasma platys*	Plaquettes	*Rhipicephalus sanguineus*	Chiens	Thrombopénie cyclique de chien

1.2 Morphologie

A. marginale et *A. phagocytophilum* sont des α-protéobactéries de petite taille, souvent de forme coccoïde à ellipsoïde et immobiles. La coloration de Gram est négative. Elles sont formées d'une membrane externe et d'une membrane interne délimitant une matière filamenteuse dense. De plus, elles sont dépourvues de gènes de biosynthèse de lipopolysaccharides et de peptidoglycanes (Lin et Rikihisa, 2003 ; Rebaudet et Brouqui, 2008 ; Brown, 2012). Par ailleurs, elles disposent de plusieurs protéines de surface formant des complexes qui pourraient renforcer la membrane (Brayton et *al.*, 2005).

Dans les cellules hôtes, comme toutes les *Anaplasma spp,* elles résident et se multiplient dans des vacuoles intracytoplasmiques. Elles forment ainsi des inclusions nommées morula («mûre» en latin), visibles en microscopie optique par les colorations May-Grünwald Giemsa ou Diff Quick®, Wright ou Giemsa (Rebaudet et Brouqui, 2008 ; Rikihisa, 2011). La visualisation par microscopie électronique révèle la présence de deux formes morphologiques au sein de ces morulas, des corps élémentaires ou corps initiaux denses et des corps réticulés. Ces deux formes se multiplient par fission binaire (Kocan et *al*., 2004 ; Rebaudet et Brouqui, 2008).

Sur des frottis sanguins colorés par le May-Grünwald Giemsa, les inclusions d'*A. marginale* apparaissent rondes, colorées en bleu, de 0,3 à 1,0 µm de diamètre, contenant 4 à 8 corps initiaux de 0,3 à 0,4 µm de diamètre et situées à la périphérie des érythrocytes, ce qui permet sa distinction d'*A. centrale*, qui occupe une position centrale. *A. phagocytophilum*, quant à elle, forme des morulas d'un diamètre compris entre 1,5 et 2,5 µm mais pouvant parfois atteindre 6 µm, prenant une teinte pourpre violine et retrouvées principalement au sein des granulocytes neutrophiles et situées en général contre le noyau des cellules parasitées (Camus et Uilenberg, 2010 ; Rikihisa, 2011 ; OIE, 2012).

1.3 Structure antigénique et variation des souches

L'utilisation de techniques sérologiques a permis de définir différents caractères antigéniques au sein des *Anaplasma spp,* dont certains sont communs entre des espèces différentes et d'autres variables au sein d'une même espèce. La majeure partie des antigènes impliqués correspond à des protéines de surface majeure ou les MSPs (Rebaudet et Brouqui, 2010). Ceux-ci jouent un rôle crucial dans les interactions de ces bactéries avec leurs cellules hôtes (Brayton et *al.*, 2005; Dunning Hotopp et *al*., 2006 ; Nelson et *al*.,2008), et sont plus susceptibles d'évoluer que les autres gènes en raison de la pression de sélection immunitaire exercée par leurs hôtes (de la Fuente et *al.*, 2010).

Parmi les protéines de surface les plus étudiées : MSP2 et MSP3, décrites chez *A. marginale*, et MSP2/p44, décrite chez *A. phagocytophilum.* Ces protéines sont codées par une famille de multigénes permettant une diversité antigénique importante (Severo et *al.*, 2012). Le locus *msp2* est initialement identifié chez *A. marginale* et contient un nombre variable de pseudogènes (5 à 10) et un seul site d'expression génomique. Le gène *msp2* est formé par une région centrale hypervariable limitée par des séquences conservées, identiques à celles de site d'expression *msp2.* Les variations antigéniques du MSP2 et MSP3 se produisent par des phénomènes de conversion génétiques fournissant un mécanisme efficace pour produire un grand nombre de variants ou souches, ce qui explique en partie l'échappement de la bactérie au système immunitaire produisant ainsi des infections persistantes chez l'animal (de la Fuente et *al.*, 2010). Chez *A. phagocytophilum,* MSP2/p44 est composée d'un site d'expression msp2/p44 et de 112 pseudogènes msp2/p44, avec une structure similaire de régions hypervariables et conservées, et le même mécanisme de conversion génique que celui d'*A. marginale,* produisant ainsi plusieurs variants (de la Fuente et *al.*, 2010 ; Aubry et Geale, 2011). MSP2 ayant un rôle dans l'adhésion aux cellules hôtes, sa diversité pourrait donc permettre, outre l'évasion immunitaire, l'adaptation de la bactérie à de nouvelles niches animales (Rebaudet et Brouqui, 2008).

De plus, des phénomènes de conversion combinatoire concernent les gènes P44, P44ESup1 (omp-1N), msp2 et ankA (ankyrin repeat domain-containing protein A), certains d'entre eux codant des protéines de surface. Ceci entraîne une diversité phénotypique de la membrane, qui pourrait expliquer également en partie l'échappement de la bactérie à la réponse immunitaire de l'hôte et son adaptation à un nouvel environnement. Ge et Rikihisa (2007) ont identifié de nouvelles protéines de surface Asp62 et Asp55, ces dernières sont susceptibles d'être utilisées comme cibles pour le sérodiagnostic des infections à *A. phagocytophilum*.

Une autre protéine majeure de surface est MSP1a, identifiée uniquement chez *A. marginale*, celle-ci est impliquée dans l'adhésion aux érythrocytes bovins et les cellules de la tique et est conservée durant la multiplication de la bactérie (Aubry et Geale, 2011). Son poids moléculaire est variable entre les souches. Cette variation est due à la différence dans le nombre des tandems répétés des amino-acides 23-31 et ceci en fonction de l'origine géographique de la souche. Ainsi le gène msp1α, qui code pour cette protéine, est utilisé comme un marqueur génétique stable pour l'identification des différentes souches géographiques d'*A. marginale* (Kocan et *al.*, 2004 ; Aubry et Geale, 2011).

Enfin, MSP5 (19 kDa) qui est une protéine immunodominante hautement conservée, identifiée à la fois chez *A. marginale* et *A. phagocytophilum*, dont la fonction reste à démontrer. Néanmoins, elle s'est avérée efficace comme cible pour le sérodiagnostic des infections à *A. marginale* et est utilisée comme un antigène dans le test commercial d'ELISA de compétition (de la Fuente et *al.*, 2010 ; Aubry et Geale, 2011).

1.4 Cycle biologique

A. marginale et *A. phagocytophilum*, comme toutes les *Anaplasma spp*, présentent des cycles de transmission enzootiques spécifiques impliquant les tiques *Ixodidae* comme vecteur biologique et un hôte animal qui développe une infection persistante lui permettant ainsi de se servir comme un réservoir et de perpétuer l'infection. Chez la tique, il n'y a pas de transmission transovarienne mais uniquement transtadiale.

a) Anaplasma marginale

Suite à une primo-infection et après une période d'incubation de 7 à 60 jours (avec une moyenne de 28 jours), *A. marginale* envahit les érythrocytes des bovins et entreprend des cycles de réplication (Aubry et Geale, 2011). Seuls les globules rouges sont connus comme étant le site de multiplication. Néanmoins, Munderloh et collaborateurs (2004) ont rapporté la propagation de ces bactéries via les cellules endothéliales bovines, toutefois, leur infection n'est pas encore démontrée (Munderloh et *al.*, 2004). Une fois dans l'érythrocyte, *A. marginale* se trouve dans les inclusions cytoplasmiques renfermant 4 à 8 rickettsiae (Kocan et *al*., 2008).

Durant la primo-infection, il y a une phase d'augmentation géométrique où le nombre des érythrocytes infectés double toutes les 24 h (Aubry et Geale, 2011). En fonction de la souche d'*A. marginale* et de la susceptibilité de bovin, 10 à 90% d'érythrocytes peuvent être parasités. Durant la phase aiguë de l'infection, au moins 15% des érythrocytes sont parasités avant l'apparition des signes cliniques (Aubry et Geale, 2011). Une fois infecté par *A. marginale*, le bovin peut rester porteur pendant une longue période (plus de7 ans) (Palmer et *al.*, 2000). En effet, le système immunitaire agit uniquement en réduisant le taux élevé de la bactériémie sans pour autant éradiquer l'agent infectieux. Il existe donc une bactériémie récurrente qui permet un taux optimal de transmission d*'A. marginale* aux tiques et assure ainsi la poursuite du cycle enzootique. Ce phénomène repose sur des variations cycliques, de 10 à 14 jours, des antigènes de surface MSP2 et MSP3. Durant ces intervalles bimensuels, la concentration des érythrocytes

infectés varie nettement de 10^3 à 10^5 cellules par millimètre du sang (Palmer et *al.*, 2000; Camus et Uilenberg, 2010 ; Aubry et Geale, 2011).

Le cycle de développement d*'A. marginale* chez la tique est complexe, celle-ci s'infecte pendant le repas sanguin sur un animal en phase aiguë ou infecté asymptomatique. Ces rickettsies vont subir une multiplication dans les cellules intestinales, puis envahissent les différents tissus et cellules de la tique, y compris les glandes salivaires, le site à partir de lequel seront transmises au bovin via la salive (Kocan et *al.*, 2004 ; Aubry et Geale, 2011). À chaque site de multiplication chez la tique, *A. marginale* se développe dans des vacuoles membranaires ou colonies. La première forme observée à l'intérieur de ces colonies est la forme réticulée (végétative) qui se divise par fission binaire pour former de larges colonies, qui peuvent renfermer des centaines d'organismes (voir figure 4). Ces formes réticulées se transforment par la suite en formes denses, infectantes pour le bovin (Kocan et *al.*, 2010).

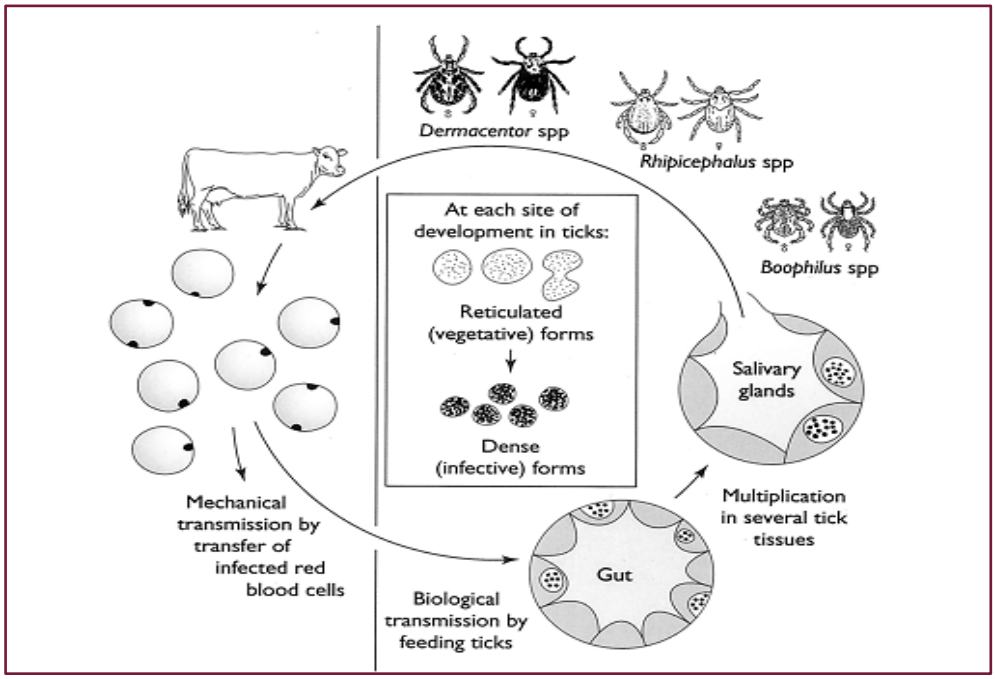


Figure 4: Cycle de développement d'*A.marginale* (Kocan et *al.*, 2003)

b) *Anaplasma phagocytophilum*

Le cycle d'*A. phagocytophilum* n'est pas complétement connu. La plupart des recherches concernant la pathogénie de l'infection ont été réalisées *in vitro* et principalement sur des cellules humaines ou de souris. Ainsi, le passage de la bactérie du derme, lieu d'inoculation par la tique infectée, au granulocyte neutrophile sanguin est encore incompris (Woldehiwet, 2008). Néanmoins, Munderloh et collaborateurs (2004) ont montré que la bactérie est capable d'entrer et de se multiplier dans les cellules endothéliales de la microvascularistaion de primates et de

bovins *in vitro*. Ces cellules pourraient donc participer à la dissémination et à la persistance de la bactérie dans l'organisme hôte (Pober, 1999 ; Woldehiwet, 2010). La phase de bactériémie débute 4 à 7 jours après la morsure de la tique. Pendant cette phase de l'infection, la bactérie est présente sous forme de morula principalement dans les éosinophiles, neutrophiles et dans les monocytes en fin de cette phase (Gokce et Woldehiwet, 1999). Durant la phase aiguë de l'infection, jusqu'à 90% des granulocytes peuvent être infectées et ceci en fonction de la souche bactérienne et la susceptibilité de bovin à l'infection (Woldehiwet, 2006). Chez le bovin et l'ovin infectés, la phase de la bactériémie est accompagnée par une fièvre élevée (41°C) qui dure habituellement 7 jours où plus. Une phase de récurrence est possible, elle survient 2 à 4 semaines après la première phase fébrile et elle est souvent accompagnée d'une bactériémie (Woldehiwet, 2010). Comme pour *A. marginale*, *A. phagocytophilum* possède des mécanismes d'échappement aux défenses cellulaires grâce à son système MSP2, développant ainsi des infections persistantes chez le bovin.

Chez la tique, *A. phagocytophilum* a été détectée par les techniques moléculaires et récemment par microscopie. Cependant, le cycle de développement chez celle-ci n'est pas encore décrit (de la Fuente et *al*., 2010).

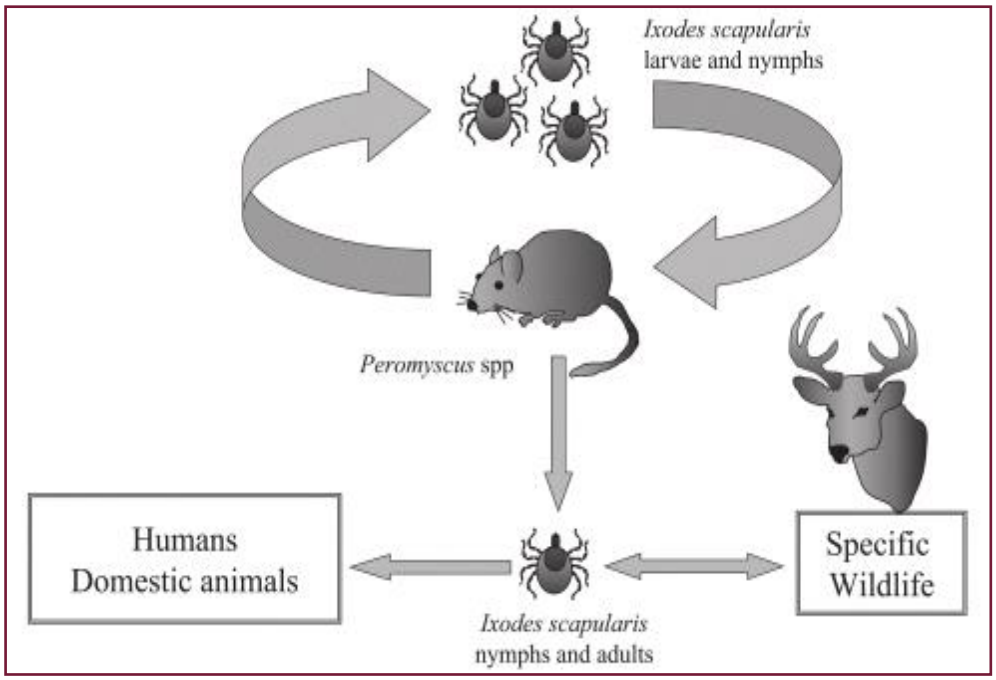


Figure 5: Cycle de transmission d'*A. phagocytophilum* (McQuiston *et al.*, 2003)

2. Épidémiologie

2.1 Espèces affectées et hôtes réservoirs

L'infection clinique à *A. marginale* se produit le plus souvent chez les bovins domestiques, mais d'autres ruminants tels que les zébus (*Bos indicus*) ou taurins (*Bos taurus*), et les buffles domestiques peuvent être atteints (Kocan *et al.*, 2010 ; Camus et Uilenberg, 2010). Les ovins sont également réceptifs ; la parasitémie y est faible et des passages en série s'accompagnent d'une atténuation de la virulence pour les bovins. Les caprins peuvent aussi être atteints par *A.marginale*, qu'ils conservent au moins 75 jours (Morel, 2000).

Diverses antilopes peuvent développer une affection subclinique et jouer le rôle de réservoir sauvage de l'infection, comme le blesbok (*Damaliscus dorcas*), le céphalophe de Grimm (*Sylvicapra grimmia*) (Kuttler, 1984). Certains animaux sauvages comme en Amérique le daim à queue noire (*Odocoileus colombianus scaphiotus*), le daim-mulet (*O. hemionus*) et le daim de la Californie, bison nord-américain et le daim-rouge Européen peuvent aussi être des réservoirs. La réceptivité des camélidés reste à prouver (Camus et Uilenberg, 2010 ; Aubry et Geale, 2011).

A. phagocytophilum, contrairement à *A. marginale,* infecte une large variété d'espèces animales dont les animaux domestiques (bovins, ovins, caprins, chevaux, chiens), les grands mammifères (cerfs, biches, chevreuils, sangliers et renards), les micromammifères (mulots, campagnols) ainsi que l'homme (Amiel et *al*., 2004 ; Dumler, 2005). La sévérité et l'incidence de l'infection dépendent de la souche d'*A. phagocytophilum* en cause. En effet, le biovar *phagocytophilum* affecte plus particulièrement les ovins, chez qui il entraine la Fièvre à tiques ou tick-born-Fever. Chez les bovins, la maladie est alors appelée Fièvre des pâturages ou anaplasmose granulocytaire bovine (AGB), le biovar AGH est responsable de l'anaplasmose granulocytaire humaine, Enfin, le biovar equi affecte naturellement les équidés (Woldehiwet, 2010). Il a été montré que plusieurs espèces dont le rat (Foley et *al.*, 2002), le mouton, le chevreuil, le bovin (Stuen *et al.*, 2006), le chien (Egenvall et *al*., 2000), et le cheval (Franzen et *al*., 2005), peuvent être infectées de façon chronique, et pourraient donc constituer des réservoirs pour la bactérie. Les moutons peuvent être porteurs jusqu'à 25 mois après la rémission des symptômes, et le sang reste infectieux (Rikihisa, 1991).

Par ailleurs, les petits mammifères sauvages sont des hôtes de prédilection pour les stades immatures des tiques. Ils représentent donc des réservoirs naturels potentiels pour *A. phagocytophilum* (Woldehiwet, 2010). Ainsi, les principaux réservoirs sont : en Europe, le campagnol (*Clethrionomys glareolus*) (Brouqui, 1999 ; Liz *et al*., 2000), Aux États-Unis la souris à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*), les ratons laveurs (*Procyon lotor*) et les

écureuils gris (*Sciurus carolinensis*) (Dumler et Bakken, 1998 ; Ogden et *al.*,1998 ; Levin et *al.*, 2002), le mulot en Grande-Bretagne (Bown et *al*., 2006) et enfin, en Suisse les petites rongeurs *Apodemus flavicollis* et *Sorex araneus* (Liz *et al.*, 2000 ; Ogden *et al.*, 1998). De plus, les grands cervidés sauvages (hôtes privilégiés des tiques adultes du genre *Ixodes*) et notamment, le cerf de virginie (*Odocoileus virginianus*) aux États-Unis, semblent aussi être des réservoirs (Amiel *et al.*, 2004).

Le rôle des oiseaux en tant que réservoirs potentiels d'*A. phagocytophilum* n'a pas été clairement établi. Néanmoins, une étude réalisée au États-Unis, suggère qu'au moins deux espèces d'oiseaux, le merle américain (*Turdus migratorius*) et la grive fauve (*Catharus fuscescens*), peuvent être des réservoirs pour les variants AGH (Woldehiwet, 2010).

2.2 Vecteurs et transmission

A. marginale peut être transmise aux ruminants selon trois modalités : (i) biologiquement par des vecteurs arthropodes, (ii) mécaniquement par des diptères piqueurs ou par des instruments contaminés avec du sang infecté, (iii) ou encore par voie transplacentaire (Kocan et *al.*, 2004 ; Rodriguez et *al.*, 2009 ; Aubry et Geale, 2011).

La voie biologique, via la salive des tiques infectées, est la principale voie de transmission (Kocan, 2010). Au moins, une vingtaine d'espèces à travers le monde ont été rapportées dans la transmission expérimentale d'*A. marginale* (Kocan et *al*., 2004) ; parmi les plus importantes en région tropicale et subtropicale figurent les *Boophilus* (*B. annulatus, B. microplus* et *B. decoloratus*), les *Rhipicephalus* (*R. bursa, R. simus et R. eversti*) et *Hyalomma rufipes* (Camus et Uilenberg, 2010). La transmission est la plus souvent transtadiale, de la nymphe à l'adulte (ou peut-être même de la larve à la nymphe), mais également intrastadiale via les tiques mâles infectées qui passent d'un hôte à l'autre (Kocan et *al.*, 1992 ; Camus et Uilenberg, 2010). En effet, ceux-ci peuvent avoir un rôle particulièrement important comme vecteurs ; ils peuvent être infectés permanents et jouer le rôle de réservoir de l'infection (Kocan et *al.*, 2003).

La transmission mécanique peut se réaliser par différents insectes hématophages, particulièrement ceux du genre *Tabanus*, mais également par les *Stomoxys* et différentes espèces des moustiques (Kocan et *al.*, 2010; Aubry et Geale, 2011). Pour que cette transmission soit possible, il doit y avoir un grand nombre de mouches piqueuses au moment du pic de parasitémie chez l'animal et la transmission doit se faire dans les minutes qui suivent parce que les *Anaplasma* ne survivent pas longtemps sur les pièces buccales de l'insecte (Aubry et Geale, 2011). Les taons peuvent rester infectants pendant 2 h et il faut de 5 à 10 piqûres pour infecter le bovin (Camus et Uilenberg, 2010).

La voie transplacentaire a été rapportée par plusieurs auteurs. En effet, dans une étude réalisée en Afrique du sud, une incidence de 15.6% de transmission transplacentaire d'*A. centrale* ou d'*A. marginale* a été rapportée chez 77 veaux nés des vaches en phase chronique ou primo-infectées pendant la gestation (Aubry et Geale, 2011). La transmission transplacentaire d'*A. marginale* peut donc contribuer à l'épidémiologie de cette maladie dans certaines régions du monde (Kocan *et al.,* 2003).

Les tiques les plus connues pour transmettre *A. phagocytophilum* sont celles du genre *Ixodes* dont les espèces varient en fonction de la localisation géographique (Amiel et *al.,* 2004 ; Woldehiwet, 2010). Aux États-Unis, la tique vectrice est *I. scapularis* dans l'est et le nord du pays, alors qu'en Californie, il s'agit *d'I. pacificus* (Stuen et *al*., 2013). En Europe, la tique vectrice est principalement *I. ricinus* que l'on retrouve depuis l'Europe de l'Ouest jusqu'en Asie (Strle, 2004 ; Stuen et *al*., 2013). De plus, la présence d'ADN d*'A. phagocytophilum* a été mis en évidence dans les tiques *I. trianguliceps* au Royaume Uni et *I. persulcatus* en Chine, d'autres espèces tels que *Haemaphysalis punctata, Rh. sanguineus, Amblyomma americanum, Dermacentor variabilis* et *D. occidentalis* ont été également signalées (Stuen, 2007 ; Woldehiwet, 2010 ; Stuen et *al*., 2013). Cependant, le rôle de ces tiques dans la transmission et la constitution de réservoir de la bactérie n'est pas encore connu (Naranjo *et al.*, 2006).
Chez la tique, *A. phagocytophilum* se transmet uniquement de façon transtadiale (Stuen et *al*., 2013). La possibilité d'une transmission intrastadiale par les tiques mâles n'a pas été rapportée (de la Fuente et *al*., 2010). De plus, des études expérimentales ont montré que les stades qui sont essentiellement transmetteurs d'une infection sont les stades nymphaux et adultes (Amiel et *al.*, 2004 ; Woldehiwet, 2010 ; Stuen et *al*., 2013). D'autres publications suggèrent que cette bactérie peut être également transmise par des diptères hématophages (*Tabanidés, Stomoxidés*), cependant, leur importance épidémiologique semble mineure (Pitel et *al.*, 2008).

2.3 Facteurs de risque et prévalences

Les infections à *Anaplasma* sont très largement distribuées à travers le monde. En tant que maladies vectorielles, elles présentent une certaine saisonnalité liée notamment à l'abondance des vecteurs. Les saisons préférentielles varient selon la région et les conditions bioclimatiques au cours de l'année (Morel, 2000 ; Amiel et *al*., 2004). La conduite d'élevage constitue en outre un facteur de risque important selon que le contact avec le vecteur est favorisé, ou que les contacts entre animaux cibles et réservoirs potentiels sont fréquents. En terme de marqueurs de risque, certains facteurs favorisant la réceptivité doivent être considérés, tels que la race du

bovin, sa sensibilité et l'âge (Morel, 2000; Stuen, 2007). En ce qui concerne la race, les bovins de race autochtone ou locale sont habituellement plus résistants, alors que ceux des races améliorées sont beaucoup plus sensibles. Pour l'âge, les veaux résistent naturellement à l'anaplasmose jusqu'à l'âge de 1 an, puis la sensibilité augmente avec l'âge (Camus et Uilenberg, 2010). Des études de séroprévalence réalisées dans différentes régions du monde chez le bovin sont résumées dans le tableau ci-après.

Tableau 5: Séroprévalence *à Anaplasma spp* chez le bovin

Année	Pays	*Anaplasma spp*	Technique	Prévalence %	Référence
2000	USA	*A.phagocytophilum*	ELISA IFAT	12 4	Magnarelli et *al.*, 2002
2000	Afrique du Sud	*A. marginale*	cELISA	87	Mtshali et *al.*, 2004
2002	Turquie	*A.phagocytophilum*	IFAT	10.13	Gokce et *al.*, 2008
2002	Soudan	*A. marginale*	iELISA	10.7	Salih *et al.*, 2009
2003	Guatemala	*A.marginale* *A.phagocytophilum*	cELISA IFAT	87.5 52	Teglas et *al.*, 2005
2004	Mexique	*A. marginale*	CAT	69.75	Rodriguez-Vivas *et al.*, 2004
2004	Italie	*A.phagocytophilum*	IFAT	16.78	Ebani *et al.*, 2008
2005	Brésil	*A. marginale*	iELISA cELISA	98.9 97	Barros *et al.*, 2005
2005	Maroc	*A. marginale*	cELISA	22.8	Ait Hamou et *al.*, 2012a
2005	Maroc	*A. marginale*	cELISA	16.5	Ait Hamou et *al.*, 2012b
2005	Mozambique	*A. marginale*	CAT	63	Alfredo et *al.*, 2005
2005	Italie	*A.phagocytophilum*	IFAT	26	de la Fuente et *al.*, 2005b
2006	Espagne	*A.phagocytophilum*	IFAT	3.07	Amusategui *et al.*, 2006
2006	Kenya	*A. marginale*	ELISA	58	Gachohi et *al.*, 2010
2008	Brésil	*A. marginale*	cELISA	37.2	Oliveira et *al.*, 2011
2010	Pakistan	*A. marginale*	cELISA	31.05	Atif *et al.*, 2013
2010	Belgique	*A.phagocytophilum*	IFAT	30.8 77 56.9	Lempereur et *al.*, 2012
2011	Mozambique	*A. marginale*	iELISA	76.5	Tembue et *al.*, 2011b

En Algérie, l'anaplasmose à *A. marginale* a été connue depuis les travaux de Sergent et collaborateurs à l'Institut Pasteur (1922-1945). Ces auteurs y ont recensé, sur une période de 22 ans, 10.6% de cas d'anaplasmose bovine sur les 3.875 cas de piroplasmoses diagnostiquées (Sergent *et al.*, 1945). Une étude de prévalence plus récente a été conduite dans la région est d'Algérie par Ziam et Benaouf (2002). L'étude a révélé que sur les 44 bovins examinés par la méthode de frottis sanguin, 7.4% étaient positifs à *A. marginale* (Ziam et Benaouf, 2004). Pour l'anaplasmose à *A. phagocytophilum*, aucune étude de prévalence chez le bovin n'a été conduite à ce jour. Néanmoins, une étude de séroprévalence d'*A. phagocytophilum* chez le chien a été réalisée par Azzag et collaborateurs (2012). Cette étude a révélé 60% de positivité chez des chiens de fourrière et de 35 % chez des chiens de propriétaires (Azzag, 2012).

3. Pathologie

Malgré leur parenté génétique, il existe une grande différence dans les processus pathogéniques impliqués et les réponses immunitaires engendrées par ces deux rickettsies.

3.1 Signes cliniques et pathogénie

a) Anaplasma marginale

La maladie se manifeste par de la fièvre, de l'anémie, une perte de poids, des avortements, de la faiblesse, de l'ictère, une perte d'appétit, de la constipation, de la dépression, chute de la production laitière, de la déshydratation et une respiration laborieuse ; la mort peut survenir chez les animaux âgés de plus de 2 ans. Chez les veaux âgés de moins de 1 an, la maladie est généralement bénigne (Kocan et *al.*, 2003 ; Kocan et *al.*, 2010). La létalité va de 5 à 40%, mais elle peut atteindre environ 70% lors d'une épidémie (Richey et Palmer, 1990 ; De Waals, 2000 ; Aubry et Geale, 2011).

L'hémolyse intravasculaire est très faible au cours de l'infection, d'où l'absence de l'hémoglobinémie et de l'hémoglobinurie (Kocan et *al.*, 2000). En effet, l'anémie observée est due à une phagocytose des hématies, particulièrement dans la rate, qui transforme l'hémoglobine en bilirubine conjuguée facilement éliminée par la bile. Cette anémie est progressive, d'abord normocytique, devient macrocytique sous l'effet d'une hyperplasie compensatrice de la moelle osseuse, avec production de cellules immatures. Dans la forme aigue à anémie grave, l'hématocrite tombe à 10 % de sa valeur 4 à 5 jours après le début de la bactériémie (Morel, 2000). L'anaplasmose clinique se présente donc comme une anémie fébrile lente, rarement suraigüe, le plus souvent aigue ou chronique, par phagocytose continue avec activation compensatoire de l'hématopoïèse. L'ictère et l'hémoglobinurie sont inconstants et

tardifs, ou le plus souvent absents (Morel, 2000). Les animaux qui survivent à l'infection primaire développent une infection subclinique, caractérisée par la persistance sur une longue durée de temps d'une faible rickettsiémie (French *et al.*, 1998 ; French et *al*., 1999 ; Kocan et *al.*, 2010). Comme pour la babésiose bovine, l'état de « portage asymptomatique » est entretenu par l'exposition à une faible infestation par des tiques infectées (Morel, 2000).

Les anomalies biologiques observées chez les bovins infectés, en plus de la forte diminution du nombre des érythrocytes (jusqu'à moins de 2 millions / mm^3), sont de l'anisocytose, de la poïkilocytose, de la polychromasie, et l'apparition de nombreux globules rouges immatures et de plaquettes. Dans la phase aigue de la maladie, on a une augmentation des taux de la phosphatase alcaline et de la bilirubine, et en particulier celui de l'azote non-protéique (Camus et Uilenberg, 2010).

À l'autopsie, le foie est brun jaune, hypertrophié et friable. La vésicule biliaire est très distendue. On retrouve des pétéchies sur toutes les séreuses et une pâleur généralisée de la carcasse pouvant être masquée par l'ictère (Jammes, 2009).

b) *Anaplasma phagocytophilum*

La maladie se manifeste par des symptômes qui sont peu spécifiques mais incluent le plus souvent une forte hyperthermie (41,8°C en moyenne) et une diminution de la production laitière (Woldehiwet, 2010). D'autres manifestations peuvent être associées, comme une baisse d'appétit et une asthénie. Des œdèmes des pâturons sont souvent considérés comme pathognomoniques mais inconstants (Gharbi et Uilenberg, 2004 ; Joncourt, 2007).

La maladie est rarement mortelle, sauf si elle est compliquée par d'autres infections, qui sont très fréquentes (Stuen, 2007). En effet, l'infection à *A. phagocytophilum* est immunodépressive, elle provoque une baisse des défenses immunitaires, probablement en raison du parasitisme obligatoire des globules blancs et de leur destruction massive (leucopénie-thrombopénie), favorisant ainsi les infections secondaires (Woldehiwet, 2010) notamment la pyohémie à tiques à *Staphylococcus aureus* qui est très fréquente chez les veaux et la pneumonie à *Pasteurella sp*.

Une autre complication très fréquente est l'avortement des vaches durant le dernier tiers de gestation (Stuen, 2007 ; Woldehiwet, 2010). La sévérité de l'infection est influencée par divers facteurs, tels que le variant en cause, le statut immunitaire de l'individu et l'âge (Stuen, 2007).

Les anomalies hématologiques sont principalement une sévère leucopénie caractérisée par une lymphopénie, une neutropénie et une éosinopénie. La lignée rouge peut aussi être atteinte avec une légère anémie. Les modifications biochimiques sont caractérisées principalement par une

diminution de l'activité de la phosphatase alcaline, une augmentation de la bilirubine, de l'urée et de la créatinine (Gokce et Woldehiwet, 1999 ; Woldehiwet, 2010).

3.2 Immunologie

3.2.1 Réponse immunitaire

a) Réponse immunitaire contre *A. marginale*

Les corps initiaux intra-érythrocytaires provoquent des modifications structurelles et biochimiques de la membrane plasmatique des érythrocytes. Les érythrocytes ainsi modifiés induisent la production d'autoanticorps qui, à leur tour, stimulent l'érythrophagocytose (Giardina et *al*., 1993). Palmer et McGuire (1984) ont démontré que, outre les auto-anticorps, il y a production des anticorps actifs contre les antigènes d'*A. marginale* ; ils ont par ailleurs identifié six antigènes majeurs de la membrane externe. Ces antigènes sont notamment MSP-1a, MSP-1b, MSP-2, MSP-3, MSP-4, et MSP-5 (Musoke et *al.*, 1996 ; Brown, 2012). Les travaux réalisés à ce jour impliquent, sans ambiguïté, une réaction immunitaire humorale dans l'anaplasmose. De plus, le fait qu'*A. marginale* n'infecte pas les cellules qui expriment les molécules de CMH, il a été présumé que les lymphocytes T CD4+ sont essentiels à la protection contre l'infection, d'une part, par la production d'IFN-γ qui active les fonctions microbicides des macrophages ; d'autre part, elles interviennent pour la commutation isotypique des lymphocytes B et la maturation de l'affinité des IgG (Abbott et *al.*, 2004 ; Brown, 2012).

b) Réponse immunitaire contre *A. phagocytophilum*

Les mécanismes immunitaires qui permettent le contrôle de l'infection contre *A. phagocytophilum* ne sont pas encore complètement compris (Woldehiwet, 2010). Néanmoins, des études expérimentales réalisées chez homme (Dumler et *al.*, 2000), les ovins ainsi que les souris d'expérimentation inoculées (Martin *et al.*, 2000) ont montré la prédominance de la réponse immunitaire cellulaire T CD4+ type Th1 et qui est associée à des concentrations sériques élevées en INF-γ et IL-10 (Woldehiwet, 2010 ; Brown, 2012). La sécrétion d'autres chimiokines a été également rapportée, notamment de l'IL-8 qui attire les neutrophiles sur le site de l'infection, et permet ainsi la propagation de la bactérie (Baggiolini et *al.*, 1994). Plusieurs études ont montré que l'INF-γ joue un rôle crucial dans le contrôle de la bactériémie par l'activation des fonctions microbicides des macrophages, mais également, de fait de ses propriétés pro-inflammatoires, cette cytokine engendre des lésions tissulaires qui sont à l'origine d'une partie des symptômes observés (Rebaudet et Brouqui, 2008 ; Rikihisa, 2011).

3.2.2 Mécanismes d'échappement immunitaire

a) Évasion de la réponse immunitaire innée

Les deux pathogènes sont dépourvus des peptidoglycanes et des lipopolysaccharides (Lin et Rikihisa, 2003 ; Rebaudet et Brouqui, 2008 ; Brown, 2012), qui sont deux composantes principales exprimées par la plupart des bactéries gram négatif et qui activent les cellules phagocytaires via leurs récepteurs TLR (Toll-like Receptors). Ainsi, l'absence de ces molécules permet à ces deux bactéries de s'échapper aux composantes de l'immunité innée et sont par conséquent capables de pénétrer et de coloniser leurs cellules cibles (Brown, 2012).

A. marginale infecte une cellule non-phagocytaire, l'érythrocyte, qui manque des mécanismes de défense innés. *A. phagocytophilum* se développe dans les polynucléaires neutrophiles et pour survivre, elle doit s'échapper à leurs activités bactéricides (Brown, 2012). Pour cela, elle inhibe l'activation de la NADPH oxydase et la fusion phagosome-lysosome (Mott et Rikihisa, 2000 ; Carlyon et Fikrig, 2003 ; Rikihisa et *al*., 2010). D'autre part, elle est capable d'allonger la durée de vie des neutrophiles en retardant la survenue de l'apoptose, lui permettant ainsi de maximiser sa multiplication et sa propagation (Yoshiie et *al*., 2000 ; Rikihisa et *al*., 2010). De plus, la pérennisation d'*A. phagocytophilum* est liée aux propriétés de sa protéine de virulence Apt A (*A. phagocytophilum* toxin A) qui active la protéine kinase des mammifères Erk1/2. Cette activation agit sur la protéine de filament intermédiaire de type III, la vimentine, en provoquant sa réorganisation autour des inclusions bactériennes. Cette modification favorise également la survie intracellulaire des bactéries (Sukumaran et *al*., 2011).

Enfin, *A. marginale* et *A. phagocytophilum* possèdent des gènes codant pour les systèmes de sécrétions type IV (T4SS) (Rikihisa et *al*., 2010). Chez *A. phagocytophilum,* T4SS est un facteur de virulence permettant de délivrer des protéines effectrices dans le cytoplasme des neutrophiles, notamment la protéine AnkA et la proteine Ats-1 (Anaplasma translocated substrate 1). Ces deux effecteurs ont des mécanismes de signalisation distincts et semblent jouer un rôle dans l'attachement et l'invasion des cellules hôtes (Park et *al*., 2004 ; Rikihisa, 2011).

b) Évasion de la réponse immunitaire adaptative

- *Les variations antigéniques*

La persistance de l'infection est due en grande partie aux variations antigéniques, par des mécanismes de conversion génique, des antigènes immunodominants MSP2 et MSP3, chez *A. marginale*, et MSP2/p44, chez *A. phagocytophilum*, aboutissant à l'émergence de nouveaux variants permettant ainsi une évasion de la réponse immunitaire déjà existante (Brown, 2012 ; Woldehiwet, 2010). Ce phénomène a été très clairement mis en évidence pour *A. marginale* avec les antigènes de surface MSP2. En effet, à chaque épisode bactériémique correspondent

de nouveaux variants antigéniques MSP2 qui disparaissent ensuite à la faveur du contrôle de l'infection par l'immunité spécifique, avant que la bactérie n'échappe à nouveau au système immunitaire par l'émergence de nouveaux variants MSP2. L'immunité reposerait sur une réponse lymphocytaire B spécifique d'une zone de la protéine MSP2 codée par une région hypervariable des gènes msp2. Le fait que les MSP2 soient disposées de manière multimérique à la surface des bactéries, que certains variants puissent réapparaître et perdurer de manière récurrente sans être éliminés par la réponse immunitaire et que certaines zones périphériques de la protéine puissent constituer des épitopes reconnus par les récepteurs des lymphocytes TCD4+, vient encore un peu plus complexifier ces mécanismes (Rebaudet et Brouqui, 2008 ; Brown, 2012).

- *Immunosuppression*

L'infection par *A. phagocytophilum* est caractérisée par une immunosuppression généralisée, qui se manifeste par une leucopénie sévère due à une lymphocytopenie précoce, prolongée par une neutropénie et une thrombocytopénie (Woldehiwet, 1991). Les mécanismes causant cette immunosuppression sont probablement liés à la diminution du nombre de cellules blanches circulantes, mais également, à l'altération de certaines de leurs fonctions. Tout ceci conduit à une immunodépression favorisant les infections concomitantes (Woldehiwet, 2010 ; Kocan et *al.*, 2010). Contrairement à *A. phagocytophilum*, l'infection par *A. marginale* n'entraine par une immunosuppression généralisée et la diminution du nombre des leucocytes circulants n'a pas été rapportée (Brown, 2012).

4. Diagnostic

4.1 Diagnostic clinique et épidémiologique

Le diagnostic clinique est suspecté sur des éléments épidémiologiques (saisons et zones d'activité des tiques) et des symptômes (syndromes pyrétique et hémolytique) (Morel, 2000). Le diagnostic différentiel se pose principalement avec la babésiose bovine qui se manifeste le plus souvent par de l'hémoglobinurie (Camus et Uilenberg, 2010).

4.2 Diagnostic de laboratoire

La confirmation de la maladie requiert la réalisation de divers examens spécifiques : le frottis sanguin, la sérologie et l'amplification génique (PCR).

4.2.1 Le frottis sanguin

Il consiste en une analyse morphologique des cellules sanguines, préalablement étalées sur une lame en verre et colorées par la méthode de May-Grünwald Giemsa (Amiel et *al.*, 2004). Il est important que les étalements soient bien préparés et qu'ils soient exempts d'impuretés. Ils doivent être préférentiellement préparés à partir de sang pris à la veine jugulaire ou au niveau d'autres gros vaisseaux (OIE, 2008). Le pourcentage des cellules infectées varie avec le stade et la sévérité de la maladie. Pour *A. marginale*, un maximum de parasitémie de 70 % peut se produire (Kocan et *al.*, 2003). L'infection devient visible au microscope entre 2 et 6 semaines suivant la transmission (OIE, 2008). Pour *A. phagocytophilum*, les morulas peuvent être détectées dans les leucocytes 5 à 8 jours après l'infection et durant 6 à 14 jours (Pusterla et *al*., 1997). Les anaplasmes doivent être distinguées des artéfacts de coloration, des plaquettes superposées à un polynucléaire ou à un érythrocyte et des corps de Jolly (Camus et Uilenberg, 2010). Le frottis sanguin est une méthode simple, de réalisation rapide et peu coûteuse. C'est la plus utilisée pour identifier *Anaplasma* chez des animaux cliniquement affectés. Elle est caractérisée par une bonne spécificité, mais sa sensibilité reste insuffisante (Amiel *et al.*, 2004).

4.2.2 Culture et isolement

En général, la méthode de choix pour le diagnostic bactériologique est la mise en évidence de la bactérie en culture. Or, les anaplasmes ne poussent pas sur milieu gélosé (McDade et *al*., 1969 ; Oaks et *al*., 1977). Néanmoins, l'isolement et/ou la culture de ces bactéries sont possibles *in vitro* avec des granulocytes ou leurs précurseurs (Woldehiwet et Scott, 1982), plusieurs lignées de cellules sanguines humaines (HL-60, KG-1, THP-1) et des lignées de cellules adhérentes des tiques (IDE8, ISE6) (Goodman et *al.*, 1996 ; Munderloh et *al.*, 1996 ; Kocan et *al*., 2010). Mais, encore aujourd'hui, la culture reste difficile et peu de laboratoires possèdent l'équipement pour la réaliser (Goodman et *al.*, 1996). De plus, il faut plusieurs jours, voire semaines, avant de pouvoir identifier les bactéries en culture et une confirmation du diagnostic est nécessaire. Cette confirmation passe par une méthode de PCR et le séquençage de gènes spécifiques de la bactérie (Dumler et Brouqui, 2004).

4.2.3 Les tests sérologiques

Les infections à *Anaplasma* persistent généralement pendant toute la vie de l'animal. Cependant, sauf dans certains cas de recrudescence, Anaplasma ne peut être aisément détecté dans des étalements sanguins après l'épisode de bactériémie. Aussi un certain nombre

d'épreuves sérologiques ont été développées avec pour but la détection d'animaux infectés de manière permanente (OIE, 2008).

Parmi les tests sérologiques permettant la détection de l'infection à *A. marginale*, le test ELISA de compétition (cELISA) est le plus fréquemment utilisé en pratique (Kocan et *al.*, 2010 ; OIE, 2012). Ce test utilise un antigène recombinant appelé rMSP5 et l'anticorps monoclonal spécifique anti-MSP5. Il possède une spécificité et une sensibilité élevées (98% et 95% respectivement) (Aubry et Geale, 2011). Il permet la détection des bovins infectés dès le 16ème jour après l'inoculation expérimentale par piqure de tiques ou par injection de sang, il détecte des bovins qui ont été infectés 6 ans plus tôt (Knowles et *al.*, 1996). Malgré son inconvénient qui réside dans la possibilité de réactions sérologiques croisées avec d'autres *Anaplasma spp* tels que *A. centrale* et *A. phagocytophilum*, l'cELISA reste le test le plus couramment utilisé pour établir une infection à *A. marginale* (Aubry et Geale, 2011 ; OIE, 2012).

Pour déceler une infection à *A. phagocytophilum*, le test le plus couramment utilisé est l'IFAT. Il consiste à faire réagir le sérum du bovin après différentes dilutions sur une préparation de cellules infectées ; la fixation est révélée par un conjugué marqué par un fluorochrome. Les immunoglobulines de classe G (IgG) sont détectables à partir de 21 jours après la primo-infection et persistent environ 4 mois (Pitel et *al.*, 2008). L'inconvénient de ce test IFAT réside, comme pour le test cELISA, dans la possibilité de réactions croisées avec les autres *Anaplasma spp*, mais aussi la subjectivité dans l'évaluation du degré de fluorescence. Malgré ses inconvénients, cette technique fait toujours référence compte-tenu de sa grande sensibilité et sa bonne spécificité.

D'autres épreuves sérologiques ont été également développées, telles que l'épreuve d'agglutination sur carte, de fixation du complément (FC), d'ELISA indirect, de dot-ELISA et peuvent aussi être utilisées (OIE, 2008).

4.2.4 Méthodes de biologie moléculaire (PCR)

De nombreux tests de PCR visant à détecter *Anaplasma* via des amorces dérivées de différents gènes ont été développés, tels que la nested-PCR, PCR-ELISA, RT-PCR et PCR duplex. Les gènes les plus souvent recherchés sont : msp4, msp1α et msp1b pour *A. marginale* (Aubry et Geale, 2011) et *rrs* (ARN 16S), msp2 (p44), msp4 et anKA pour *A. phagocytophilum* (Rebaudet et Brouqui, 2008 ; Rymaszewska, 2011). Plus récemment, une RT-PCR duplex a été développée, ciblant le gène du l'ARN 16S pour une détection simultanée d'*A. marginale* et d'*A.*

phagocytophilum dans le sang bovin périphérique (Reinbold et *al.*, 2010 ; Aubry et Geale, 2011). Ces analyses sont réalisables à partir des prélèvements du sang total et du buffy coat, mais aussi sur des échantillons d'organes, dont la rate ou encore la moelle osseuse (Pitel et *al.*, 2008). Ces techniques sont très sensibles et spécifiques et permettent notamment l'identification des animaux porteurs chroniques. Elles sont en outre rapides et automatisables, mais demeurent coûteuses et l'absence de standardisation rend leur interprétation difficile (Rebaudet et Brouqui, 2008 ; Camus et Uilenberg, 2010).

5. Moyens de lutte

La lutte contre l'anaplasmose bovine repose sur le traitement et la mise en place de mesures de prophylaxie.

5.1 Traitement

Les anaplasmes étant des bactéries intracellulaires strictes, leur traitement repose sur la mise en place d'une antibiothérapie à visée intracellulaire. Le traitement le plus couramment utilisé repose sur l'usage des tétracyclines et notamment de l'oxytétracycline. Elle est alors administrée quotidiennement à la dose de 5 à 10mg/kg pendant 5 jours. Des formes retard sont aussi couramment utilisées en relais de l'oxytétracycline ordinaire. Un traitement symptomatique peut être instauré en fonction des signes cliniques observés (Camus et Uilenberg, 2010 ; Stuen et *al.*, 2013). L'efficacité des traitements dépend de la précocité du diagnostic et de l'administration rapide (au début de la maladie) de médicaments appropriés.

5.2 Prophylaxie

La prévention de la maladie se fait par le contrôle des tiques, comme toutes les maladies vectorielles et par l'immunisation des bovins susceptibles. De nombreux vaccins vivants sont utilisés dans différents pays pour protéger les bovins contre l'infection à *A. marginale*, mais aucun n'est parfait (Mchardy, 1984). Un vaccin contenant *A. centrale* vivant est le plus largement utilisé et donne une protection partielle lors d'une épreuve avec *A. marginale* virulent (Kocan et *al*., 2003). Les recherches entreprises ces dernières années ont largement contribué aux connaissances sur la composition antigénique d'*A.marginale* et le rôle des MSPs dans le développement d'une immunité protectrice. Cependant, jusqu'à présent aucun nouveau vaccin ciblant ces protéines n'a été développé (Kocan et *al*., 2003 ; de la Fuente et *al.*, 2010). De même, pour *A. phagocytophilum* aucun vaccin n'a été développé, bien que plusieurs cibles MSPs ont été caractérisées (de la Fuente et *al.*, 2010 ; Stuen et *al.*, 2013).

IV. Étude épidémiologique sur les tiques Ixodidés

Les tiques dures ou Ixodina sont des arthropodes hématophages obligatoires parasitant la quasi-totalité des vertébrés à travers le monde et pouvant piquer l'homme occasionnellement (Guiguen et Degeilh, 2001 ; Socolovschi et *al.*, 2008 ; Kiss et *al.*, 2012). Ce sont des ectoparasites qui ont une alternance de phases parasitaires sur hôte et de phases libres au sol (Pérez-Eid, 2007). Les tiques sont connues comme étant des parasites hématophages des animaux depuis l'antiquité. Cependant, la première démonstration de leur rôle vecteur est beaucoup plus tardive et date des travaux de Smith et Kilbourne (1893), qui ont démontré que *Boophilus annulatus* transmet *B. bigemina*, l'agent de la fièvre bovine texane (Tissot-Dupont et Raoult, 1993 ; Sonenshine et *al.*, 2002 ; Swanson et *al.*, 2006). Ensuite, ces ectoparasites ont été décrits comme vecteurs de nombreux autres pathogènes tels les protozoaires, les microorganismes, les spirochètes, les rickettsies et les virus dont la liste ne cesse de s'allonger (Jongejan et Uilenberg, 2004 ; Pérez-Eid, 2007 ; Bitam, 2012).

La connaissance de la biologie et de l'écologie des tiques permet de comprendre et de mieux cerner l'épidémiologie des maladies transmises comme l'anaplasmose et la babésiose, afin de dégager les principes de lutte les plus efficaces à mettre en œuvre.

1. Systématique et morphologie

1.1 Classification

Les tiques dures trouvent leur place dans l'embranchement des Arthropodes, classe des Arachnides, sous classe des Acariens, ordre des Ixodida (Morel, 2000). Dans la classification de Camicas et collaborateurs, (1998), la plus couramment utilisée (figure 6), les Ixodida sont subdivisés en trois sous-ordres (Pérez-Eid et Gilot, 1998 ; Pérez-Eid, 2007 ; Pfäffle et *al.*, 2013):

- Ixodina ou tiques dures, qui comportent approximativement 701 espèces, caractérisées par la présence d'une plaque dorsale dure ;
- Argasina ou tiques molles, comportant environ 191 espèces, qui présentent un tégument mou dépourvu de zones sclérifiées;
- Nuttalliellina représenté par une seule espèce décrite dans le sud de l'Afrique.

Les Ixodina, auxquelles nous nous intéressons, comportent deux familles : les *Ixodidae ou Prostriata* et les *Amblyommidae ou Metastriata*, qui sont bien différenciées morphologiquement et biologiquement (Pérez-Eid et Gilot, 1998).

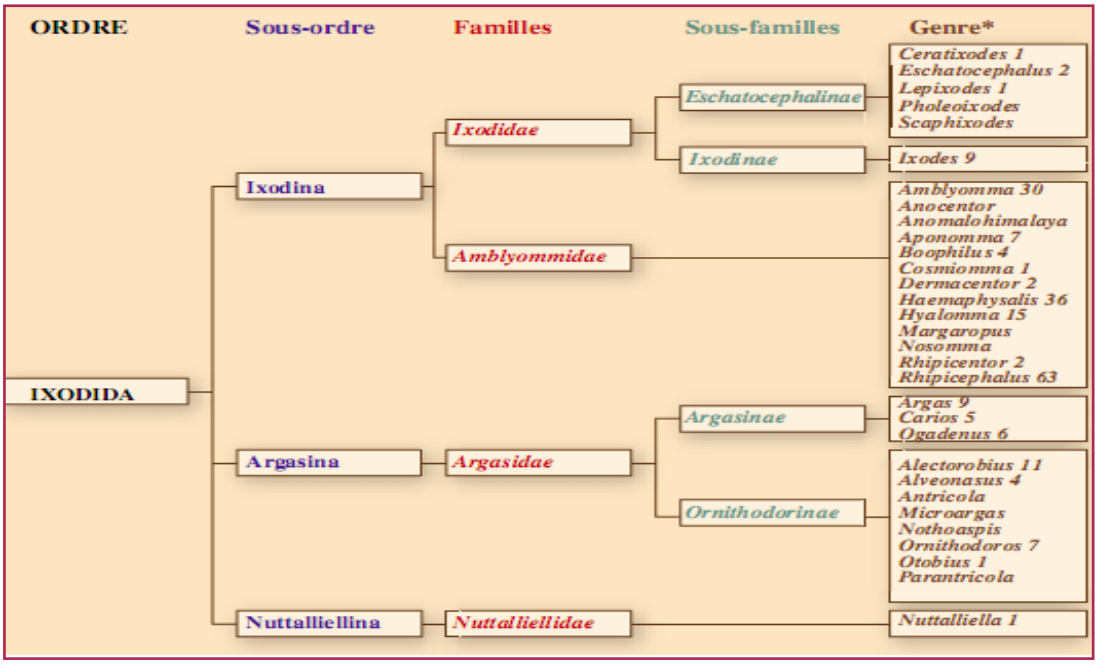


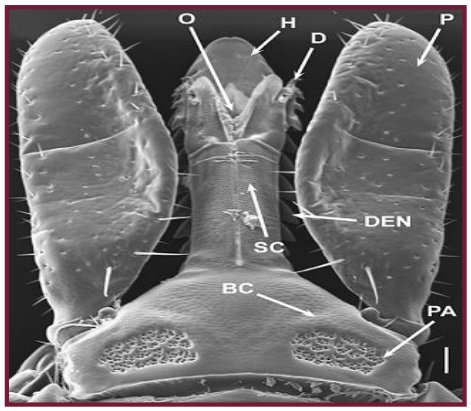
Figure 6: Classification des tiques d'après Camicas et collaborateurs1998 (cité par Socolovschi et *al.*, 2008).

Récemment, les techniques de biologie moléculaire avec notamment l'analyse comparative des séquences génomiques (particulièrement celle du gène codant pour la sous-unité de l'ARNr mitochondrial des 18S ARNr, ou celle de la sous-unité 12S), ont été utilisées en systématique et principalement dans l'analyse des relations phylogénétiques des tiques. À la lumière de ces résultats, certaines actualisations ont eu lieu, telle que le genre *Boophilus* qui est maintenant considéré comme un sous-genre du genre *Rhipicephalus*, alors que le genre *Aponomma* disparaît, une partie des espèces s'intégrant dans le nouveau genre *Bothriocroton* au sein de la nouvelle sous-famille des *Bothriocrotonina*e, l'autre partie s'intégrant dans le genre *Amblyomma* (Barker et Murrell, 2004 ; Socolovschi et *al.*, 2008).

1.2 Morphologie

Les tiques sont des acariens de grande taille (entre 2 et 30 mm selon la stase et la réplétion), ils présentent un corps globuleux composé de deux parties, le capitulum (gnathosoma) en avant et l'idiosome en arrière, formant la plus grande partie restante du corps (Guiguen et Degeilh, 2001; Anderson et Magnarelli, 2008). Au cours de leur développement, elles présentent quatre types morphologiques correspondant aux trois stases évolutives (larve, nymphe, imagos mâle ou femelle) (Morel, 2000). Leur morphologie respective présente des caractères distinctifs, que nous détaillons ci-après.

- La femelle à jeun : Le capitulum (figure 7) antérieur et terminal porte latéralement sur sa base (basis capituli) une paire de palpes symétriques (organes sensoriels) et axialement, les chélicères (organes coupants) en position dorsale, l'hypostome (organe de l'ancrage) en position ventrale (Sonenshine et *al.*, 2002 ; Socolovschi *et al.*, 2008). La face dorsale de la basis capituli porte deux aires poreuses qui jouent un rôle au cours de la ponte en coordination avec l'organe de Géné (Morel, 2000 ; Sonenshine et *al.*, 2002**)**. Le capitulum est, du fait qu'il échappe à la déformation consécutive au gorgement, très utilisé en systématique. Ainsi particulièrement utilisés le rapport longueur/largeur du capitulum (tiques à rostre long ou à rostre court) et la forme de la basis capituli (rectangulaire, hexagonale, trapézoïdale) (Pérez-Eid, 2007).

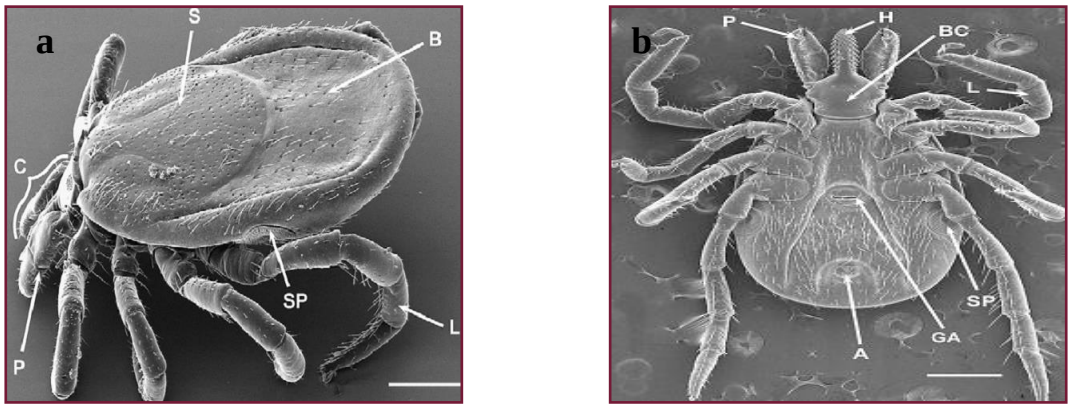


Légende : BC : basis capituli, **D** : doigts des chélicères, **DEN** : denticules de la surface externe du hypostome, **H** : surface interne du hypostome, **O :** ouverture du canal de nourriture, **P** : palpe, **PA** : aires poreuses, **SC** : axe d'une chélicère. Barre de mesure = 500 µm.

Figure 7 : Face dorsale du capitulum d'une femelle adulte, *Ixodes scapularis*, par microscopie électronique à balayage (Anderson et Magnarelli, 2008).

L'idiosome (figure 8) porte sur sa face dorsale un écusson chitinisé, le scutum, qui recouvre uniquement la partie antérieure chez la femelle (également chez les formes immatures) lui permettant de décupler son volume lors du repas, pourvu de sillons ; couleur unie ou avec dépôts d'email coloré chez certains genres (*Amblyomma et Dermacentor*), on peut y observer également des ocelles (yeux) sur les bords latéraux, proéminents ou aplatis (Pérez-Eid, 2007 ; Anderson et Magnarelli, 2008). Le reste du tégument constitue l'alloscutum, comportant des sillons longitudinaux, qui postérieurement dessinent des festons (Sonenshine et *al.*, 2002 ; Barré et Uilenberg, 2010). La face ventrale de l'idiosome porte les quatre paires de coxae sclérifiées, situées latéralement et antérieurement, sur lesquelles sont insérées les quatre pattes terminées par une ventouse et deux griffes; les coxae peuvent porter 1 ou 2 épines ou aucune selon les genres. D'ailleurs, leur forme ainsi que celles de leurs épines sont des caractères extrêmement utiles en systématique (Morel, 2000 ; Pérez-Eid, 2007). En position ventro-latérale, en arrière

des coxae 4 sont déposés une paire de stigmates respiratoires, leur forme est utile dans la diagnose de certaines espèces (Sonenshine et *al.*, 2002 ; Pérez-Eid, 2007). L'uropore (orifice anal) est situé postérieurement alors que le gonopore (orifice génital) est en position antérieure (Barré et Uilenberg, 2010). L'uropore est contourné par un sillon anal semi-circulaire en avant chez les Ixodidés (*Prostriata*) et en arrière chez la plupart des Amblyommidés (*Metastriata*), il manque chez les *Boophilus* (Pérez-Eid, 2007).



Légende : A : anus, **B** : corps (idiosoma), **BC**: basis capituli, **C**: rostre, **GA** : orifice génital, **H** : surface interne du hypostome, **L** : patte, **P** : palpe, **S** : scutum, **SP** : plaque stigmatique. Barre de mesure = 500 µm.

Figure 8 : Morphologie générale d'une femelle adulte, *Ixodes scapularis*, en vue dorsale (a) et ventrale (b), par microscopie électronique à balayage (Anderson et Magnarelli, 2008).

- Le mâle : Il se distingue de la femelle par un scutum rigide (appelé conscutum) qui occupe toute la face dorsale (Anderson et Magnarelli, 2008). La face ventrale de l'idiosome porte des plaques ou écusson (Barré et Uilenberg, 2010).Chez les Ixodidés mâles, ces plaques sont au nombre de quatre, deux impaires (plaque centrale et plaque prégénitale) et deux paires symétriques (plaques adanales et plaques épimérales).Tandis que chez la plupart des mâles Amblyommidés, elles sont moins développées, au nombre de quatre mais toutes paires (une paire d'adanales, une paire de subadanales et 2 paires d'accessoires) (Pérez-Eid, 2007). Les aires poreuses sont absentes; le gonopore est operculé. Il est de taille inferieure chez la femelle (Morel, 2000 ; Barré et Uilenberg, 2010).

- La nymphe : Sa morphologie est analogue à celle de la femelle, compte tenu de l'absence du gonopore et des aires poreuses. De plus, la nymphe est plus petite de taille, allant de 1 à 1.5 mm (Morel, 2000).

- La larve : Elle est de même morphologie générale que la nymphe, mais ne possède que trois paires de pattes, les stigmates sont absents (respirant directement par la cuticule) et sa taille va de 0.5 à 1mm (Morel, 2000; Barré et Uilenberg, 2010).

2. Biologie

2.1 Cycle de vie des tiques

Le cycle évolutif des tiques dures comporte 3 stades de développement actifs, encore appelés stases: larvaire, nymphale et adulte (voir figure 10) (Jongejan et Uilenberg, 1994). Chaque stase est séparée par un repas sanguin qui peut durer plusieurs jours et qui est suivi d'une mue (Umemiya-Shirafuji *et al.,* 2012). Les œufs éclosent après une embryogénèse de 20 à 50 jours (Pérez-Eid et Gilot, 1998). Les larves, après avoir éliminé tous les déchets résultant de l'embryogénèse, partent en quête d'un hôte pour prendre leur repas, ou entrent en diapause, pour ne reprendre leur cycle de vie que lorsque les conditions sont favorables (Socolovschi et *al.,* 2008). Après un repas de 3 à 12 jours ou plus selon l'espèce et les conditions ambiantes, elles se détachent et tombent au sol pour se métamorphoser en nymphe après 2 à 8 semaines en moyenne (Socolovschi *et al.,* 2008). Les nymphes ont le même comportement. La métamorphose en adultes est en général plus longue, jusqu'à 20 à 25 semaines dans les conditions les plus défavorables (Pérez-Eid et Gilot, 1998 ; Morel, 2000). Au stade adulte, seule la femelle prend un vrai repas sanguin nécessaire pour assurer la ponte, il est plus important en volume et plus long en durée que les stases précédentes (Pérez-Eid et Gilot, 1998 ; Socolovschi et *al.,* 2008). Les mâles, quant à eux, ne s'alimentent pas chez les Ixodidés ou dans le cas des Amblyommidés, prennent un repas très réduit pour assurer la spermatogenèse (Sonenshine et *al.*, 2002 ; Stich et *al.,* 2008).

Chez les tiques, les phéromones jouent un rôle essentiel dans leur comportement et facilitent la recherche de l'hôte et du partenaire reproductif. Parmi elles, il existe des phéromones "de rassemblement" et des phéromones sexuelles qui favorisent la rencontre entre les deux sexes et stimulent la reproduction (Pérez-Eid, 2007). L'accouplement a lieu le plus souvent sur l'hôte, rarement au sol (figure 9) (Pérez-Eid et Gilot, 1998). Les femelles fécondées pondent leurs œufs dans un environnement protégé où elles ne seront pas exposées à la dessiccation. Elles pondent de 1 000 à 30 000 œufs selon l'espèce et/ou le volume sanguin pris lors du repas, ensuite elles meurent (Morel, 2000; Socolovschi et *al.,* 2008).

Légende : La plus petite tique est le mâle s'accouplant avec une femelle. Le mâle introduit ses pièces buccales dans les voies génitales de la femelle ou il dépose un spermatophore. Barre de mesure = 500 µm

Figure 9 : Accouplement chez un mâle et une femelle, *Ixodes scapularis,* par microscopie électronique à balayage (Anderson et Magnarelli, 2008).

Considérant le nombre des hôtes nécessaires au cycle de développement, on distingue 3 types de cycles:

- Cycle triphasique (trixène) : le cycle comporte trois hôtes successifs, un par stase. II y a trois phases parasitaires séparées par deux phases à terre pour les mues. C'est le cycle typique, plus de 80% des Ixodina dans le monde ont ce type de cycle **(**Sonenshine *et al.,* 2002 ; Socolovschi, 2008).
- Cycle diphasique (dixène): les tiques effectuent leur cycle sur deux hôtes: les larves et les nymphes évoluent sur le premier, l'adulte chez le second, c'est le cas de *Rh. bursa* et certaines espèces de *Hyalomma* (Guiguen et Degeilh, 2001 ; Pérez-Eid, 2007).
- Cycle monophasique (monoxène) : il se déroule en entier sur un seul hôte. C'est le cas des cinq espèces de *Boophilus* et de *H. scupense* (Pérez-Eid, 2007 ; Stich et *al.,* 2008).

En fonction de la nature des hôtes, on classe les tiques en trois catégories :

- Tiques télotropes : les préimagos ont pour hôtes, différents vertébrés disponibles, alors que les adultes se gorgent sur les grands mammifères seulement (Morel, 2000). Les tiques concernées par ce type sont toutes les espèces des *Ixodidae*, et parmi les *Amblyommidae,* les genres *Amblyomma* et *Haemaphysalis* (Pérez-Eid, 2007).
- Tiques ditropes : il n'y a que deux groupes d'hôtes distincts, les préimagos se portent sur les petits mammifères, les reptiles et les oiseaux, alors que les adultes ne se trouvent que sur les grands mammifères (Morel, 2000). Ce type s'observe chez certains genres d'*Amblyommidae*, tels que *Dermacentor, Rhipicephalus* et *Hyalomma* (Pérez-Eid, 2007).

- Tiques monotropes : dont le tropisme ne s'exerce qu'envers un unique groupe d'hôtes, tels les *Boophilus* étroitement liées aux bovins (Barré et Uilenberg, 2010).

La durée du cycle est très variable, elle est étroitement liée aux conditions climatiques, qui peuvent allonger les diapauses ou retarder les pontes, mais également de la disponibilité des hôtes. Elle est au minimum de 3 à 6 mois et peut atteindre 1 an voire 4 ans (Moulinier, 2002 ; Socolovschi, 2008).

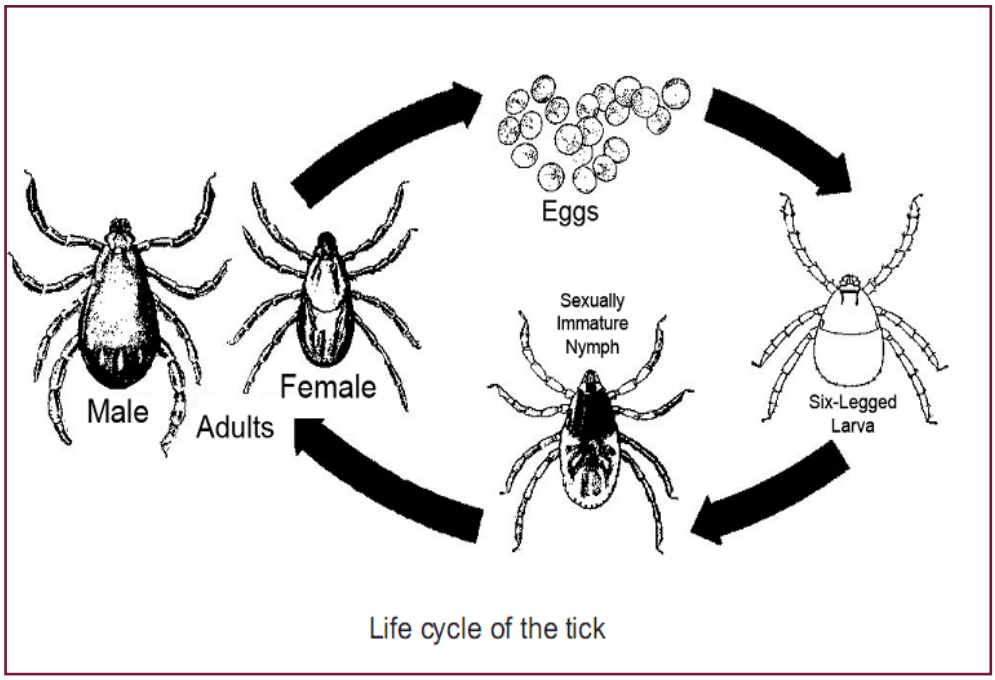


Figure 10: Cycle de vie des tiques (Williams, 2010)

2.2 Écologie des tiques

Les tiques vivent dans un environnement où leur vie est influencée par les conditions climatiques, la végétation et les interrelations qu'elles entretiennent avec les autres êtres vivants, animaux, parasites et microorganismes. L'ensemble de ces éléments forme un écosystème particulier. Ainsi, toute modification d'un des éléments de l'écosystème influence à des degrés variables, la vie, voire la survie des tiques (Socolovschi, 2008). Les tiques sont, selon les espèces et les stases, endophiles, exophiles ou cryptophiles. Les exophiles vivent dans des biotopes ouverts tels que prairies, forêts, pâturages et steppes. Les endophiles vivent dans des habitats bien abrités et protégés comme des terriers, des nids et des constructions (maisons, étables). Le terme cryptophile, créé par Morel, s'applique aux espèces qui, au sein d'un biotope ouvert, s'abritent dans un microbiotope restreint, comme une haie ou un talus abrité (Pérez-Eid et Gilot, 1998 ; Guiguen et Degeilh, 2001).

La distribution et le cycle de vie des tiques dépendent de facteurs intrinsèques, correspondant à leurs propriétés biologiques qui déterminent leurs réactions aux conditions extérieures, mais surtout de facteurs extrinsèques abiotiques, plus particulièrement la température et l'humidité relative (Pérez-Eid, 2007). En effet, les durées des différentes phases du cycle de vie (ovogenèse, embryogenèse, mues, affût de l'hôte…) sont toutes conditionnées par ces facteurs climatiques. De même, cette durée du cycle est dépendante de plusieurs autres facteurs tels que la disponibilité, la densité et la nature des hôtes dans leur biotope (Bouattour, 2009).

Autre la durée des cycles, ces facteurs climatiques sont des éléments majeurs influençant la distribution spatiale des différentes espèces, les variations saisonnières de leur activités et leur comportement (Socolovschi, 2008 ; Estrada-Peña et *al.,* 2012). Ainsi on distingue, des conditions macroclimatiques (à l'échelle de régions), qui limitent la distribution des différentes espèces, directement ou en influant sur le type de végétation utilisé par les tiques, c'est pourquoi, chaque espèce présente une distribution géographique particulière, et les maladies transmises, particulièrement lorsque les tiques sont vecteurs et réservoirs de pathogènes, sont donc des maladies géographiques, et les facteurs microclimatiques (à l'échelle du micro-habitat, la plus petite surface individualisable où vivent les tiques) représentent les conditions environnementales influençant directement la vie des tiques (Guiguen et Degeilh, 2001; Socolovschi, 2008 ; Bouattour, 2009). Les radiations solaires apparaissent ainsi essentielles dans l'activité quotidienne de certaines espèces, par exemple dans la recherche de l'hôte ou d'un endroit abrité lorsqu'elles quittent un hôte. Notons également, que le froid, la chaleur et/ou la sécheresse, selon les espèces sont fatales à certaines tiques (Socolovschi, 2008).

2.3 Repas sanguin et transmission des agents pathogènes

Dans le biotope, les tiques sont attirées vers l'hôte par la chaleur dégagée, le gaz carbonique émis et les vibrations des pieds sur le sol lors de la marche (Anderson et Magnarelli, 2008). La chaleur peut modifier leur comportement et augmenter leur agressivité (Socolovschi, 2008).

Le site de fixation des tiques dépend, pour des groupes d'hôtes donnés, des espèces et parfois selon les stades au sein d'une même espèce de tique (Pérez-Eid, 2007). Les raisons du choix ne sont pas clairement démontrées, même si on a pu évoquer le choix des tissus les plus vascularisés et les plus fins (Socolovschi, 2008). En règle générale, chez les ongulés, les sites de fixation sont en fonction du type de rostre. Celles qui ont un rostre long (*Ixodes, Hyalomma)* se fixent préférentiellement sur les parties déclives, telles que fanon, ventre, mais surtout au niveau des ars, aine, mamelles, testicules et marges de l'anus. Celles qui ont un rostre court

(Rhipicephalus, Dermacentor, Haemaphysalis), se fixent préférentiellement sur la tête (l'intérieur du cornet auriculaire, chignon), l'encolure, marges de l'anus et sur le toupillon de la queue (Barré et Uilenberg, 2010).Les tiques de petite taille (*Boophilus*, larves et nymphes d'*Amblyomma*) se fixent en général sur la tête et l'encolure (Morel, 2000).

Une fois l'endroit choisi, la tique perce la peau grâce à la fois à une action chimique des enzymes de sa salive, et une action mécanique liée à l'enfoncement des chélicères et l'hypostome. Il se crée alors une véritable plaie, lac sanguin ou « feeding pool » où vont affluer sang, lymphe, cellules de l'inflammation et éventuellement les agents pathogènes présents dans le sang, la lymphe ou la peau (Pérez-Eid, 2007 ; Socolovschi, 2008). Le repas sanguin des *Ixodida* se déroule en deux phases, une phase de repas lent (3-4j) suivie par une phase d'engorgement rapide (1-3j) où les tiques, particulièrement les femelles voient leur poids se multiplier de 100 à 120 fois (figure 11) (Socolovschi, 2008 ; Anderson et Magnarelli, 2008). Durant le repas, il se succède une alternance absorption de sang et émission de salive. La salive de la tique est de composition complexe, outre sa production de cément qui permet son ancrage solide à l'hôte, elle contient des substances anticoagulantes, vasoactives et cytolytiques. À la fin de la réplétion, la tique dégage ces chélicères par rétraction, puis l'hypostome, le cément est laissé en place, d'où une réaction locale durable (Morel, 2000; Pérez-Eid, 2007; Socolovschi, 2008 ; Anderson et Magnarelli, 2008).

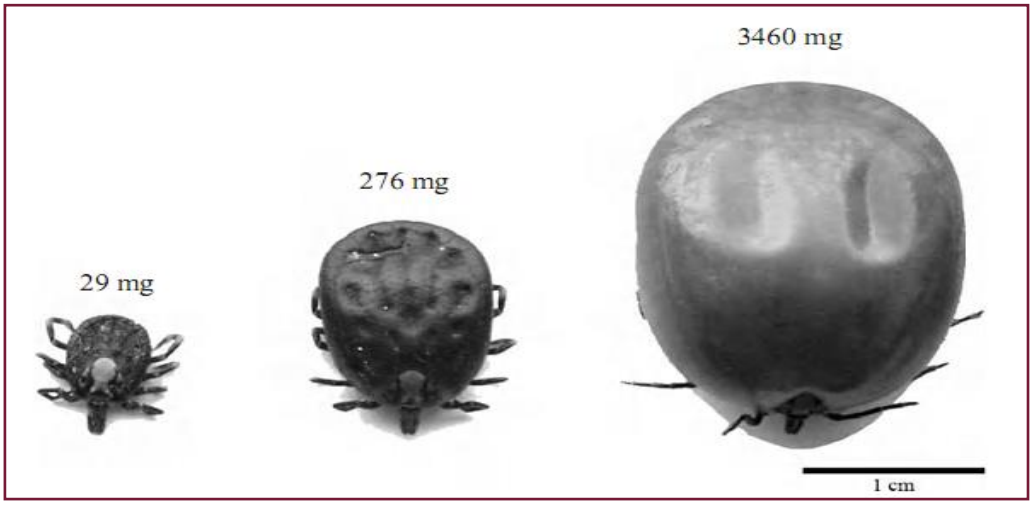


Figure 11 : Représentation chez une tique *Amblyomma* femelle de trois phases d'alimentation: à jeun (29mg), partiellement gorgée (276mg) et entièrement gorgée (3460mg) (Kaufman, 2010)

Lors de chaque repas sanguin, la tique est susceptible à la fois d'acquérir et/ou de transmettre les agents pathogènes à son hôte vertébré via la salive. La majorité de ces pathogènes sont transmis biologiquement par la tique, ce qui signifie, qu'ils infectent également la tique, chez

laquelle ils se multiplient et/ou se développent avant d'être transmis à d'autres hôtes vertébrés (Stich *et al.*, 2008). Entre tiques, cette transmission peut se faire selon diverses modalités (figure 12). La transmission horizontale, qui peut être soit transtadiale, lorsque l'infection est contractée par les immatures (larves, nymphes) et transmise par le stade suivant, ou intrastadiale, lorsque l'infection est à la fois contractée puis transmise par le même stade lors de son éventuel repas sur un hôte sain. La transmission transovarienne ou verticale, au cours de laquelle les pathogènes sont transmis d'un parent à sa descendance, en totalité ou pour partie. Elle est le fait des femelles dont les ovaires sont infectés, ou des mâles qui transmettent un spermatophore infesté (Pérez-Eid, 2007 ; Stich et *al.*, 2008). Une autre modalité de transmission, est la transmission par co-repas ou « cofeeding », c'est lorsque une ou plusieurs tiques prennent leur repas au voisinage d'une tique infectée, sans que la présence des germes soit nécessaire dans le sang circulant de l'hôte (Pérez-Eid, 2007).

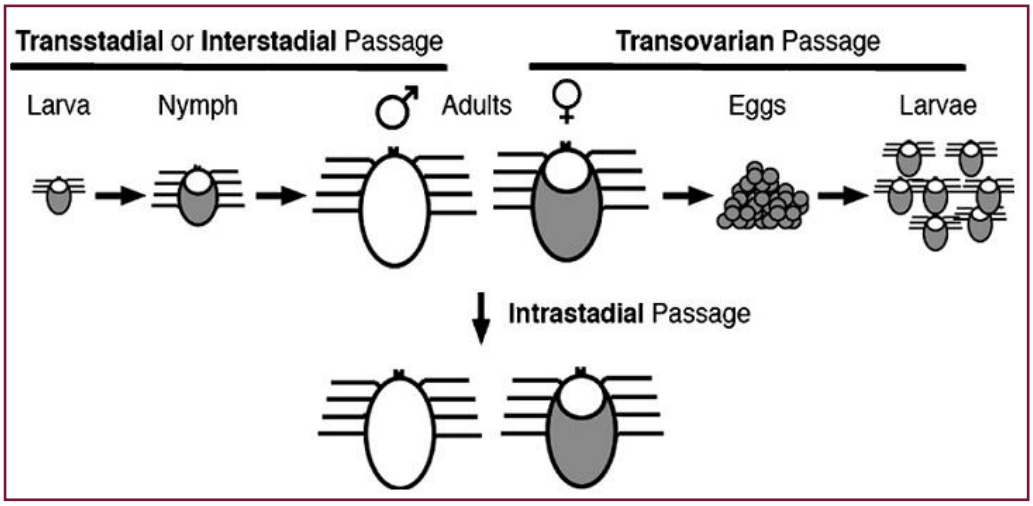


Figure 12: Modalités de transmission des agents pathogènes entre tiques (Stich *et al.*, 2008)

3. Importance et distribution

Selon la FAO (2004), plus de 80% du cheptel bovin mondial est exposé à l'infestation par les tiques, avec un impact estimé de 7.3 US $/ an/ tête (Mondal et *al.*, 2013). Leur effet est direct sur les hôtes qu'elles parasitent, entre autres, la spoliation sanguine, les lésions cutanées et l'altération des cuirs, les abcès et l'action irritante ou immunosuppressive de leur salive (Jongejan et Uilenberg, 2004). Mais leur grande importance réside dans leur rôle vectoriel (Mondal et *al.*, 2013). En effet, les tiques transmettent une large variété d'agents pathogènes (protozoaires, bactéries et virus), que n'importe quel autre arthropode vecteur. Elles sont considérées parmi les vecteurs les plus importants qui affectent le bétail, les animaux de compagnie et l'homme. Elles sont ainsi responsables de maladies graves qui ont un impact

sanitaire et économique très important tels que l'anaplasmose et la babésiose bovine (Jongejan et Uilenberg, 2004 ; Merino et *al.,* 2013). Leur distribution à travers le monde est très vaste, elle s'étend des zones glacées aux zones désertiques les plus inhospitalières, et des régions basses de plaines à celles situées en altitude, à condition que des hôtes vertébrés s'y trouvent (Pérez-Eid et Gilot, 1998). Le tableau suivant résume les principales espèces de tiques d'importance majeure, les maladies transmises ainsi que leur répartition géographique.

Tableau 6 : Liste non exhaustive de quelques espèces de tiques tropicales et méditerranéennes parasites du bétail, d'importance vétérinaire (Barré et Uilenberg, 2010)

Espèces	Maladies transmises	Répartition géographique
Amblyomma *gemma*	Cowdriose	Afrique orientale
A. hebraeum	Cowdriose	Afrique australe
A. lepidum	Cowdriose	Afrique orientale
A. pomposum	Cowdriose	Tiques des montagnes de l'Afrique australe, orientale et centrale
A. variegatum	Cowdriose, associée à une dermatophilose sévère	Afrique sub-saharienne, Madagascar et Caraïbe.
A. maculatum	Vecteur expérimentale efficace et potentiel de la cowdriose	USA australe, Amérique centrale, nord sud-américain
Boophilus *annulatus*	Anaplasmose et babésiose bovine	Bassin méditerranéen, parties nord d'Afrique Subsaharienne, Mexique
B. decoloratus	Anaplasmose bovine, babésiose bovine (*B. bigemina)*	Afrique subsaharienne
B. geigyi	Babésiose bovine, probablement l'anaplasmose bovine	Afrique occidentale
B. microplus	Babésiose bovine, anaplasmose bovine	Asie méridionale; introduite dans la pluparts des régions tropicales.
Dermacentor *marginatus*	Piroplasmose équine	beaucoup de régions d'Europe et d'Asie
D. nitens	Piroplasmose équine	Amérique tropicale
Haemaphysalis *longicornis*	Theiériose bovine orientale	l'Asie orientale et méridionale, Australie, région pacifique
Hyalomma *a. anato-licum*	Theiériose bovine tropicale, theiériose ovine bénigne	grandes régions d'Asie, nord-est d'Afrique
H. d. detritum	Theiériose bovine tropicale	Bassin méditerranéen
H. m. marginatum	Arbovirose	Bassin méditerranéen
Ixodes *holocyclus*	Paralysie à tique	Australie
I. persulcatus	Borréliose de lyme, arbovirose (encéphalite)	Europe oriental, Asie tempérée
I. ricinus	Babésiose bovine, fièvre des pâtures, ehrlichiose équine, borréliose de lyme, arbovirose	Bassin méditerranéen, Europe tempérée
I. rubicundus	Paralysie à tique	Afrique australe

Rhipicephalus *appendiculatus*	Theiléiriose bovine, arbovirose.	Afrique orientale et australe.
Rh. bursa	Babésiose, anaplasmose, piroplasmose équine	Bassin méditerranéen, Moyen-Orient
Rh. e. evertsi	Babésiose, anaplasmose, piroplasmose équine, paralysie à tique	Afrique subsaharienne
Rh. zambeziensis	Theiléiriose bovine	Afrique australe orientale

Etat des connaissances sur les espèces d'Ixodida parasitant les bovins en Algérie :

En Algérie, les premières investigations concernant les tiques des bovins et leur distribution géographique ont été conduite à partir de 1921, sur une période de 30 ans, par l'équipe de Sergent et collaborateurs. Ces auteurs y ont recensé la présence de 8 espèces appartenant à 5 genres, et ont révélé l'implication de trois vecteurs : *Rh. annulatus, Rh. bursa* dans la transmission des babésioses et *H. detritum* dans la transmission de la theiléiriose (Sergent et *al.*, 1945). Une autre étude plus récente effectuée à Tiaret par Boulkaboul (2003), a révélé la présence sur les bovins de 13 espèces, dans six genres dont la majorité appartenait aux genres *Hyalomma* et *Rhipicephalus*. Enfin, dans la région de Taher (Jijel) du littoral algérien, Benchikh-Elfegoun et collaborateurs (2007) ont identifié la présence sur les bovins de 5 espèces avec une nette prédominance de *Rh. annulatus*, suivie successivement de *Rh. bursa*, *Rh. turanicus, H. lusitanicum* et *H. detritum*. Aucune espèce du genre *Amblyomma* n'a été signalée jusqu'à présent en Algérie. Le tableau suivant résume les principales tiques identifiées chez les bovins en Algérie.

Tableau 7: Les espèces de tiques identifiées chez les bovins en Algérie

Genres	Espèces	Références
Hyalomma	*lusitanicum*	Sergent et *al.*, 1945; Dib et *al*., 2002 ; Boulkaboul, 2003; Benchikh-Elfegoun et *al.*, 2007
	excavatum	Boulkaboul, 2003
	m. marginatum	Sergent et *al.*, 1945; Dib et *al.*, 2002 ;Boulkaboul, 2003
	detritum	Sergent et *al.*, 1945; Aissaoui et *al.*, 2002; Dib et *al.*, 2002 ; Boulkaboul, 2003; Benchikh-Elfegoun et *al.*, 2007
	impeltatum	Boulkaboul, 2003
	marginatum rufipes	Boulkaboul, 2003

	aegyptium	Sergent et *al.*, 1945; Boulkaboul, 2003
Rhipicephalus	*bursa*	Sergent et *al.*, 1945; Aissaoui et *al.*, 2002; Dib et *al.*, 2002 ; Boulkaboul, 2003 ; Benchikh-Elfegoun et *al.*, 2007
	turanicus	Boulkaboul, 2003; Benchikh-Elfegoun et *al.*, 2007
	sanguineus	Sergent et *al.*, 1945; Dib et *al.*, 2002 ; Boulkaboul, 2003
Boophilus	*annulatus*	Sergent et *al.*, 1945;Boutaleb, 1982 ; Dib et *al.*, 2002 ; Boulkaboul, 2003 ; Benchikh-Elfegoun et *al.*, 2007
Haemaphysalis	*punctata*	Sergent et *al.*, 1945; Boulkaboul, 2003
Dermacentor	*marginatus*	Boulkaboul, 2003
Ixodes	*ricinus*	Sergent et *al.*, 1945; Dib et *al.*, 2002 ; Boulkaboul, 2003

4. Collecte et identification

La collecte sur l'hôte, pour la plupart des espèces endophiles, est le moyen le plus sûr, voir le seul, de les trouver. En général, sur le terrain, lorsque les animaux doivent être observés, il faut veiller à une normalisation du travail pour une bonne efficacité. C'est la décompte des tiques au niveau de sites électifs de fixation qui est le plus souvent pratiqué, d'où l'intérêt de la connaissance de ces sites (Pérez-Eid, 2007). Dans le biotope, la technique la plus couramment utilisée pour la collection des tiques est celle du drapeau (« flagging » ou « dragging »). Elle se pratique à l'aide d'une pièce de tissu trainée sur la végétation, et les tiques qui s'y trouvent, à l'affût d'un hôte, s'accrochent. Cette technique est adaptée pour les tiques exophiles présentant une stratégie de recherche d'hôte «en embuscade» sur la végétation (Socolovschi, 2008 ; Estrada-Peña et *al.*, 2013). D'autres techniques telles que, les pièges à CO_2 ou l'utilisation d'animaux appâts, peuvent être employées (Pérez-Eid, 2007).

Les tiques doivent être conservées dans de l'alcool, dont le degré peut varier de 70° à 90°, ou mieux l'alcool glycériné, du fait que l'alcool pur entraine un durcissement des tissus avec le temps, de même que pour la conservation dans le formol qui est utile pour l'observation d'email coloré (Pérez-Eid, 2007). Pour l'isolement des agents infectieux et leur mise en culture, les tiques doivent être maintenues vivantes entre 20 et 25°C à 85% d'humidité (conditions optimales pour la mue et la ponte, variables selon les espèces), ou placées en tubes dans de l'azote liquide à -170°C. Pour une détection par amplification génique, les tiques peuvent être également conservées à – 20° C ou dans de l'alcool à 70° (Morel, 2000 ; Pérez-Eid, 2007 ; Socolovschi, 2008).

L'identification des tiques est principalement basée sur leur morphologie, en utilisant des clés d'identification, qui décrivent les différentes stases et les différences entres les espèces qui sont étroitement liées (Estrada-Peña et *al*., 2013). Plusieurs clés taxonomiques de détermination, adaptées aux différentes régions du monde, ont été publiées. Cependant même pour un entomologiste expérimenté, l'identification morphologique est parfois difficile, voire impossible pour certains stades (larves, œufs ainsi que certaines femelles d'espèces proches) (Socolovschi, 2008). Ces dernières années, les outils moléculaires développés pour préciser les relations phylogéniques entre les espèces de tiques, ont été utilisés ponctuellement pour identifier les tiques par l'analyse des séquences de certains gènes (comme celui codant la fraction 12S de l'ADN ribosomal), cependant, la fiabilité de ces outils reste à vérifier (Socolovschi, 2008 ; Estrada-Peña et *al*., 2013).

5. Moyens de lutte

La lutte à grande échelle a pour but de cibler l'infestation des animaux de rente et ses conséquences économiques (Socolovschi, 2008). Elle est pratiquée par diverses stratégies impliquant divers systèmes de production (Mondal, et *al*. 2013). Cependant, l'application des traitements acaricides sur les animaux, dont le but est de tuer ou d'éloigner les tiques, est la méthode la plus largement employée (Parizi et *al.*, 2012 ; Mondal et *al.*, 2013).

Les premiers acaricides utilisés ont été les dérivés arsenicaux (Barré et Uilenberg, 2010). Leur forte toxicité et l'apparition des phénomènes de résistance, ont conduit les organochlorés (DDT, lindane..) à prendre le relais, eux même supplémentés par les organophosphorés (diazinon, malathion..) et carbamates, qui ont été abandonnés par la suite et remplacés par les pyréthroides de synthèses (deltaméthrine, perméthrine…), utilisés aujourd'hui en bains et en *pour-on* tout comme les inhibiteurs de croissance (fluazuron), l'amitraz et certaines lactones macrocycliques (ivermectine, moxidectine…). Ces derniers sont parfois utilisés en injection (Pérez-Eid, 2007 ; George et *al*., 2008 ; Mondal et *al*., 2013). Les acaricides peuvent également être appliqués dans les habitats des tiques (étables, pigeonniers, niches...) ou sur la végétation (l'épandage d'acaricides), mais rarement réalisable pour des raisons pratiques ou écologiques (Socolovschi, 2008 ; Dantas-Torres et *al*., 2012 ; Mondal et *al*., 2013). Des connaissances approfondies sur la biologie et l'écologie des espèces contre lesquelles on veut diriger la lutte permettent de mieux optimiser l'utilisation d'acaricides (Pérez-Eid, 2007). Cependant, même avec une lutte stratégique, beaucoup de contraintes d'utilisation se posent tels que, les problèmes de résidus, aussi bien chez l'animal et ses produits dérivés que dans l'environnement, et surtout l'apparition

de phénomènes de résistance chez un nombre croissant de tiques et vis-à-vis d'un nombre croissant de molécules chimiques (Parizi et *al.*, 2012 ; Mondal et *al.*, 2013).

D'autres méthodes ont été développées, mais qui se pratiquent toujours en association avec la lutte chimique. Ce sont, la lutte zootechnique (élevage hors sol, retrait du bétail par rotation des pâturages…), la sélection de races résistantes et la lutte par modifications (mécaniques ou chimiques) de l'habitat et de la végétation (Pérez-Eid, 2007; Socolovschi, 2008). Par la suite, sont apparus les moyens de lutte biologique, qui peuvent être envisagés par l'utilisation des parasitoïdes, la stérilisation des mâles, les prédateurs et les biopesticides. Cependant, elles restent encore peu probantes et rarement mises en pratique (Pérez-Eid, 2007).

Une autre alternative, qui est très prometteuse, est l'utilisation des vaccins anti-tiques (Jongejan et Uilenberg, 2004). Le concept fait appel à la réaction immunitaire des hôtes contre toute protéine des tiques pouvant jouer le rôle d'un antigène (salive, épithélium intestinal, cellules d'autres organes…) (Pérez-Eid, 2007). Aujourd'hui deux vaccins sont commercialisés, Tick GARD (en Australie) et Gavac (en Amérique latine), contenant un antigène constitué de glycoprotéine de surface des cellules intestinales de *Rh. (Boophilus) microplus*, produit par technique recombinante et dénommé Bm86 (Willadsen, 2006 ; de la Fuente et *al.*, 2007 ; Parizi et *al.*, 2012 ; Guerrero et *al.*, 2012). Ces vaccins contrôlent surtout les infestations par *Rh. (Boophilus) microplus*, mais également les infestations par *Rh. (Boophilus) annulatus* (efficacité proche de 100 %). Il y aurait également une protection partielle contre *H. anatolicum* et *H. dromedarii*, *Rh. appendiculatus* et *A. variegatum* (Willadsen, 2006 ; Mondal et *al*., 2013). Ils réduisent le nombre de tiques femelles engorgées, leur poids et la capacité de reproduction (Kiss et *al*., 2012 ; Merino et *al*., 2013). Plusieurs études ont rapporté que la vaccination contre les tiques réduit sensiblement l'utilisation intensive d'acaricides, tout en préservant la contamination de l'environnement et la résistance des tiques contre les acaricides les plus utilisés (de la Fuente et *al.*, 2007 ; Parizi et *al.*, 2012). De plus, la vaccination contre les tiques peut aussi prévenir ou réduire la transmission des pathogènes par une diminution des populations des tiques et de leur capacité vectorielle, comme cela a été attesté pour l'anaplasmose et la babésiose bovine (Merino et *al*., 2013).

Enfin, ces dernières années des études sont également menées sur les effets répulsifs de certaines plantes, sous forme d'extraits ou d'huiles essentielles. Cependant, beaucoup de recherches sont en cours pour valider l'efficacité de ces approches phytothérapeutiques (Pérez-Eid, 2007).

Partie

Expérimentale

I. Objectifs et but de l'étude

La babésiose et l'anaplasmose représentent l'une des contraintes parmi les plus importantes dans le développement du secteur de l'élevage bovin en Afrique du Nord, l'Algérie est y fait partie. Leur épidémiologie est régie par des interactions complexes impliquant l'agent pathogène, les vecteurs (tiques), l'hôte vertébré et l'environnement. Malgré leur importance, ces maladies ont été jusqu'à ce jour très peu étudiées dans le contexte algérien et les données sur la prévalence de ces deux maladies sont particulièrement rares voire absentes pour certaines espèces, telle que *A. phagocytophilum*.

Le présent travail s'est donné comme objectif général d'apporter une contribution originale à la connaissance des espèces circulantes de *Babesia* et d'*Anaplasma* chez le bovin dans la région d'Alger ainsi que des mécanismes et facteurs de risque de transmission de ces deux maladies afin d'en améliorer la prévention et le contrôle.

Les objectifs spécifiques assignés à cette thèse sont :

i) Étudier les prévalences d'*A. marginale*, *A. phagocytophilum*, *B. bigemina* et *B. bovis* dans les fermes bovines de la région d'Alger.
ii) Mettre en évidence les co-infections à *Babesia spp* et *Anaplasma spp*.
iii) Déterminer les indicateurs ou facteurs de risque susceptibles de favoriser la transmission de ces deux maladies.
iv) Étudier les altérations du profil hématologique et biochimique lors d'infections naturelles par la babésiose et l'anaplasmose bovine.
v) Identifier et recenser les différentes espèces de tiques (Ixodina) récoltées.
vi) Étudier la relation entre la présence de tiques et la prévalence des hémopathogènes identifiés chez le bovin.
vii) Estimer les états épidémiologiques de la babésiose et de l'anaplasmose dans la région étudiée.

II. Matériel et méthodes

II. 1. Description de la région étudiée

La wilaya d'Alger qui comporte 57 communes et 13 daïras, s'allonge en bordure de la Méditerranée sur une longueur de 90 Km et une largeur pouvant varier de 7 à 25 Km. La wilaya occupe une position centrale au Nord de l'Algérie, elle est limitée géographiquement par la mer méditerranée au Nord, la wilaya de Blida au Sud, la wilaya de Tipaza à l'Ouest jusqu'à l'Oued Mazafran et enfin, par la wilaya de Boumerdès à l'Est jusqu'à la commune de Reghaia. Son relief se caractérise par trois sous zones agroécologiques (AGE) homogènes longitudinales qui sont :

- Le Sahel : en forme de sommet plat, il constitue une région de collines aux formes douces, d'altitudes variables, généralement plus de 200 m à l'Ouest de la baie d'Alger avec un point culminant de 407m à Bouzaréah.
- Le Littoral : dominé par le Sahel, avec un relief peu prononcé et une pente générale orientée vers le Nord. On peut distinguer le Littoral Est et le Littoral Ouest.
- La Mitidja : est située au sud d'Alger, d'une altitude variant de 50 m à 100 m. Elle est constituée d'alluvions formant des sols de bonne fertilité. La basse Mitidja, à l'Est d'Alger, est traversée par les Oueds Hamiz et Réghaia.

La région d'Alger bénéficie d'un climat de type méditerranéen doux ou modéré, subhumide, il est d'amplitude thermique faible. La température moyenne annuelle varie entre 16 et 18°C alors que les températures minimale et maximale sont de 12°C en hiver et 36°C en été. Les précipitations pluviales varient entre 670 à 800 mm/an avec un dépassement de 1000 mm/an pour les mois de novembre, décembre et janvier. Les deux contraintes climatiques sont constituées par les vents d'Ouest dominants qui nécessitent des brise-vents et la grêle qui se manifeste en moyenne 12 jours/an sur le Sahel. Il est à noter que le sirocco peut durer jusqu'à 20 jours par an en moyenne(Annuaire Statistique Alger, 2012).

La saison hivernale s'étend d'octobre à avril, et la saison estivale de juin à septembre. La région est traversée principalement par les vents d'Ouest dominants.

La végétation est caractérisée par une couverture forestière abondante constituée en majeure partie des formations de pin d'Alep et de chênes lièges (BNEDER, 2008).

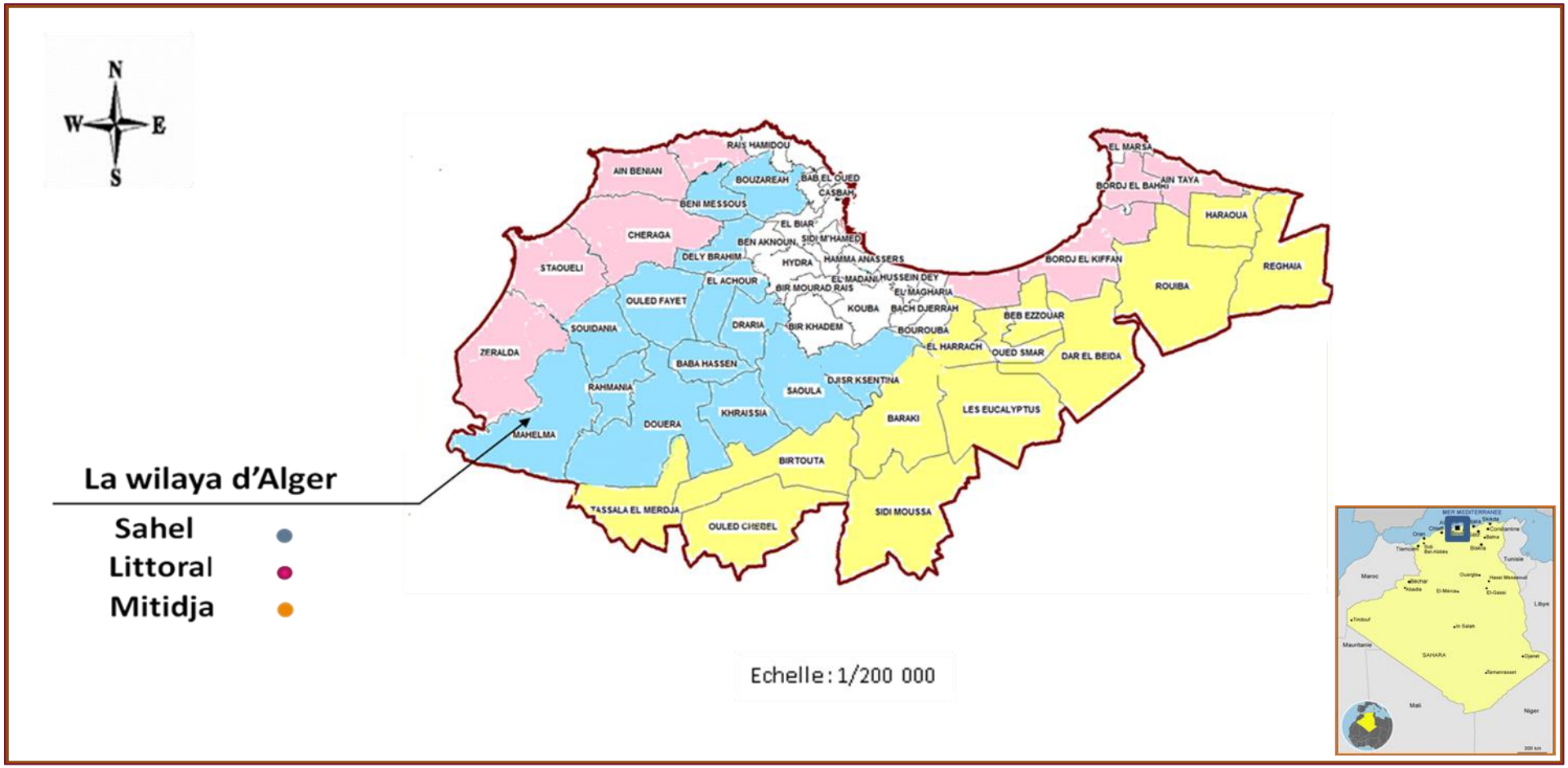


Figure 1: Situation géographique de la région d'étude

II. 2. Description de l'élevage bovin

La région étudiée dispose de 1281 éleveurs détenant 13 115 têtes de bovins dont 7 514 têtes de vaches laitières (DSA, 2013). L'espèce bovine est subdivisée en trois catégories :

- Le BLM (bovin laitier moderne), composé principalement de races européennes notamment la Montbéliarde, la Holstein, la Fleckvieh et la Brune des Alpes. Ce cheptel est orienté vers la production laitière. Il présente un effectif de 91% (DSA, 2013);
- Le BLA (bovin laitier amélioré), constitué des populations issues de croisement anarchique entre les races importées et les races locales ainsi que les races importées entre elles-mêmes. Il représente un effectif de 7% (DSA, 2013);
- Le BLL (bovin laitier local), constitué de la race locale qui regroupe sous la dénomination « Brune de l'Atlas »,4 rameaux importants (la Guelmoise, la Cherfa, la Chelifienne et la Setifienne). Il représente un effectif de 2%. Cette race est surtout retrouvée sur les lieux de sa prédilection qui sont les montagnes et les piémonts (DSA, 2013).

Le mode d'élevage est généralement de type semi-intensif. Les animaux sont nourris au foin, au son et à l'herbe pendant la saison de pâturage. Celle-ci va de mars à décembre avec des variations suivant les conditions climatiques. L'association de l'élevage des bovins à celui des ovins et des caprins est fréquente dans cette région.

II. 3. Plan d'échantillonnage et enquête épidémiologique

III. 3.1 Méthode d'échantillonnage

L'étude épidémiologique réalisée est de type transversale (a cross-sectional study), elle a eu lieu durant la période allant de mars à octobre 2013, sur deux-cent (n=200) bovins issus de vingt-quatre fermes (n=24) sélectionnées au hasard.

Si on se réfère au chiffre de la Direction des services agricoles de 2013, le taux d'échantillonnage réalisé a été d'environ 1,87% pour les fermes bovines (n=1281) et d'environ 1,52% pour les bovins (n=13115).

L'échantillonnage a été réalisé en deux étapes ; nous avons d'abord effectué un choix aléatoire (tirage au sort) des fermes à partir d'une liste des éleveurs bovins de la région (issue de la campagne de vaccination antirabique et anti-fièvre aphteuse en 2011). Le but était d'avoir une répartition homogène des élevages sélectionnés sur la zone d'étude. Par la suite, le nombre de bovins à prélever dans chaque ferme a été défini en fonction du nombre total de bovins présents

dans celle-ci: soit la ferme comprenait moins de 10 bovins et, dans ce cas tous les bovins étaient prélevés, soit la ferme contenait plus de 10 bovins et, dans ce cas, au moins 10 individus étaient prélevés. L'objectif était d'avoir un échantillon représentant au moins 10% de l'ensemble des individus présents dans les fermes visitées (Ghalmi et *al*., 2012).

Le choix des bovins prélevés au sein de chaque ferme a été réalisé au hasard. À l'exception des veaux âgés de moins de quatre mois qui ont été écartés de l'étude afin d'éviter une éventuelle détection d'anticorps colostraux (Swai et *al.*, 2005, Gachohi et *al.*, 2010).

III. 3.2 Enquête épidémiologique descriptive

1. Établissement de questionnaire épidémiologique

Une fiche de renseignement (annexe 1) mentionnant les caractéristiques des animaux (âge, sexe, race, origine, état d'embonpoint…) a été établie pour chaque bovin prélevé. De plus, un examen clinique a été réalisé sur chaque animal prélevé, qui a consisté à prendre sa température rectale et de noter d'éventuels symptômes cliniques évoquant la babésiose ou l'anaplasmose (fièvre, anémie, ictère, etc...).

Une enquête épidémiologique descriptive a été réalisée au moyen d'un questionnaire (annexe 2) adressé aux éleveurs des fermes prélevées. Des informations relatives notamment aux conditions et aux pratiques d'élevage ont été recueillies, telle la pratique de pâturage et/ou de stabulation, l'état d'hygiène de la ferme, les mesures de traitement et de prévention entreprises contre ces maladies et l'infestation par les tiques.

2. Description du cheptel prélevé

Les élevages prélevés ont été essentiellement constitués de bovins de races croisées (55%) et de races importées (37%), avec quelques individus de races locales (8%). L'échantillon comprenait 167 femelles et 33 mâles. Les animaux ont été répartis en trois classes d'âge : 4 à 12 mois (17.5%), 13 à 24 mois (24.5 %) et plus de 25 mois (58%).

Nos prélèvements ont concerné 15 communes réparties dans les 3 zones agroécologiques (AGE) de la région d'Alger. Le tableau ci-après reprend le nombre des fermes prélevées par commune et par zone AGE.

Tableau 1: Nombre de fermes prélevées par zones AGE et par commune

Région AGE	Commune	Nbr de fermes prélevées	Nbr de bovins prélevés
Sahel	Ouled Fayet	3	23
	Khraicia	1	10
	Souidania	1	10
	Draria	3	20
	Béni Messous	2	13
	Sous-total	***10***	***76***
Littoral	Cheraga	2	18
	Ain Taya	2	9
	Zeralda	2	19
	Ain Benian	1	6
	Sous-total	***7***	***52***
Mitidja	Rouiba	2	18
	Sidi Moussa	1	10
	Reghaia	1	12
	Eucalyptus	1	9
	Birtouta	1	13
	Dar El Beida	1	10
	Sous-total	***7***	***72***
	Total	**24**	**200**

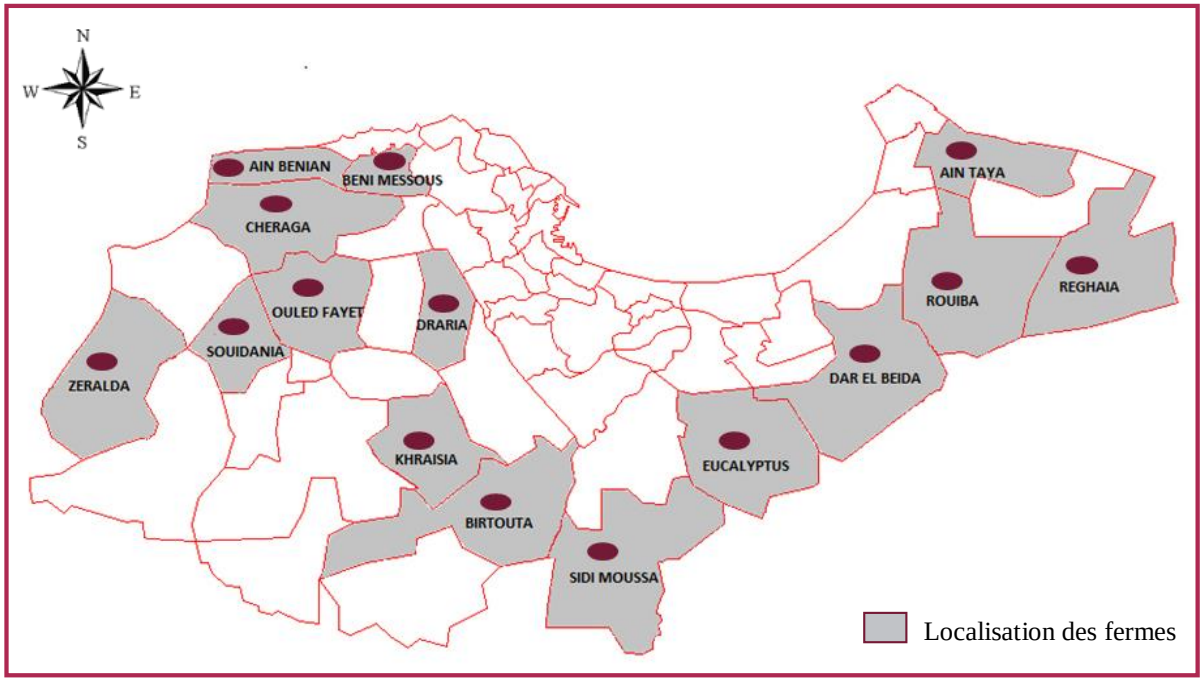


Figure 2: Carte de localisation des fermes prélevées

II. 4. Nature et préparation des prélèvements

II. 4.1 Nature des prélèvements

Pour les prélèvements sanguins, nous avons ponctionné soit à partir de la veine jugulaire soit dans la veine coccygienne (caudale). Du sang a été recueilli dans trois tubes de système vacutainer différents (5 ml dans chaque tube). Deux tubes secs (système vacutainer sous vide réf : 454092) pour la collecte de sérum et un tube EDTA (système vacutainer avec présence d'acide tétra-acétique éthylène diamine réf : 454036) pour la collecte du sang total. Sur chaque animal, un frottis sanguin mince a été confectionné sur place à partir des capillaires de la face interne du pavillon de l'oreille.

Remarque : nous avons choisi l'EDTA comme anticoagulant pour la récolte de sang total étant donné ses propriétés antioxydantes sur les membranes érythrocytaires permettant ainsi une meilleure optimisation de la conservation du sang (Gharbi et *al.*, 2012).

II. 4.2 Préparation des prélèvements

Les tubes de prélèvements et les lames ont été étiquetés selon un code faisant ressortir le numéro d'identification de l'animal, le nom de l'éleveur et la localisation de l'élevage. Les échantillons ont été transportés et acheminés vers le laboratoire de parasitologie-mycologie de l'ENSV dans une glacière.

Au niveau du laboratoire, les prélèvements ont été préparés comme suit :

- Le sang des tubes EDTA : quelques gouttes de sang pour l'examen hématologique (FNS) réalisé au laboratoire de biochimie de l'ENSV et une goutte de sang pour réaliser un 2ème frottis mince de sang veineux. Le reste du sang a subi une centrifugation de 3500 g pendant 30 min et a servi pour récupérer la couche érythrocytaire et leucocytaire ou « *Buffy Coat* » dont le principe est le suivant : après centrifugation du sang, trois couches caractéristiques apparaissent dans le tube. Les érythrocytes dans le fond du tube, la couche leucocytaire ou « *Buffy Coat* » (en couronne argentée) à l'interface entre les globules rouges et le plasma et enfin le surnageant plasmatique. Le plasma est éliminé alors que les leucocytes et les érythrocytes ont été transvasés séparément dans des eppendorf puis congelés à -20°Cet seront utilisés pour une extraction ultérieure d'ADN.
- Le sang dans les tubes sec a été centrifugé à 3 000 t/min pendant 10 min. Les sérums ont été récupérés puis transvasés dans des tubes eppendorf, stockés à -20°C et destinés aux études biochimiques et sérologiques.

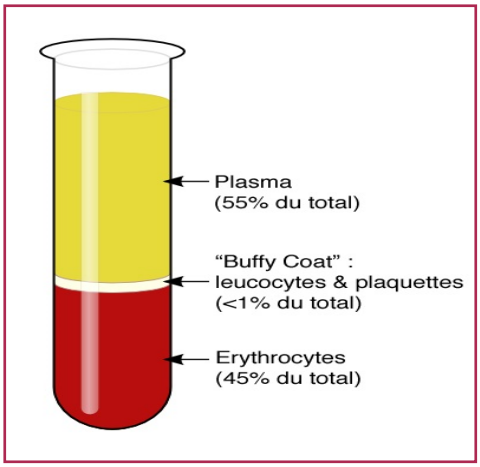


Figure 3: Les trois couches caractéristiques du sang total après centrifugation

II. 5. Analyses de laboratoire

II. 5.3 Technique du frottis sanguin

Au total, pour chaque bovin, 2 frottis sanguins minces ont été réalisés, un frottis à partir du sang capillaire pour la détection de *B. bovis* qui s'accumule dans les capillaires, mais également pour la détection des autres pathogènes, qui sont uniformément distribués dans tous les vaisseaux (OIE, 2010 ; OIE, 2012). Un 2ème frottis à partir du sang veineux a été réalisé soigneusement au niveau de laboratoire de parasitologie.

Les étalements ont été réalisés selon la méthode décrite par Itard (2000) qui consiste à déposer une goutte de sang près de l'extrémité de la lame, une 2ème lame est approchée et placée devant la goutte de sang, sous un angle de 30 à 45°. La goutte de sang va s'étendre le long de son bord par capillarité, puis déplacée d'un mouvement uniforme vers l'avant en glissant sur la 1ére lame.

Les étalements de sang sont séchés à l'air, fixés dans du méthanol absolu pendant 5 min, et colorés par le **May-Grünwald Giemsa** ou **MGG** (méthode de coloration panoptique qui permet de colorer les éléments basophiles en bleu, les éléments éosinophiles en rouge et les éléments azurophiles en violet pourpre) selon le protocole décrit par Itard (2000) : Tout d'abord, on recouvre le frottis avec le colorant May-Grünwald et on le laisse agir pendant 3 min. On ajoute sur l'étalement autant de gouttes d'eau distillée et on laisse agir 1 min. Ensuite, on jette le colorant et on recouvre la lame d'une solution de Giemsa diluée dans de l'eau distillée (10 gouttes de Giemsa dans 15 ml d'eau distillé). Enfin, on jette le colorant puis on rince la lame à l'eau du robinet pendant quelques secondes et on la laisse sécher par égouttage en position verticale.

La fixation et la coloration des lames ont été réalisées le jour même de leurs confections pour une meilleure sensibilité de la méthode (Uilenberg, 2004 ; OIE, 2008).

Tous les étalements colorés ont été par la suite examinés attentivement au microscope optique (Leica) sous huile à immersion en utilisant l'objectif x100. Les pathogènes ont été identifiés selon les critères morphologiques décrits par les différentes publications de l'OIE (2010 ; 2012). Tous les frottis positifs ont été confirmés au laboratoire de parasitologie de la faculté de Médecine Vétérinaire de Liège, Belgique.

II. 5.4 **Analyses sérologiques**

Les tests sérologiques ont été réalisés au sein du Laboratoire Central Vétérinaire (LCV) de l'Institut National de Médecine Vétérinaire d'Alger.

Après décongélation des sérums à température ambiante, nous avons procédé aux analyses sérologiques des 200 sérums en utilisant des kits commerciaux pour la détection des anticorps spécifiques d'*A. marginale*, d'*A. phagocytophilum*, de *B. bigemina* et de *B. bovis.*

i) Pour la détection d'*Anaplasma marginale*

Nous avons utilisé un test commercial ELISA-c (Anaplasma Antibody Test Kit, cELISA, VMRD, Pullman, Washington, USA), basé sur un antigène de surface majeur recombiné rMSP5 et l'anticorps monoclonal spécifique anti-MSP-5. Il s'agit du test sérologique recommandé par l'OIE (2008, 2012). Pour analyser 200 sérums, nous avons utilisé trois microplaques de 96-puits fixés avec l'antigène rMSP5, en suivant les instructions du fabricant, les contrôles positifs et négatifs ont été fournis par le fabricant.

Nous avons procédé comme suit : les sérums à tester et les sérums témoins non dilués ont été incubés dans la plaque absorption/transfert à 23°C pendant 30 min, puis transférés par puits à la plaque fixée avec l'antigène rMSP5 et incubés à 23°C pendant 60 min. Par la suite, la microplaque a été lavée avec du tampon de lavage dilué. L'anticorps monoclonal, dilué et conjugué à la peroxydase, a été additionné ensuite incubé à 23°C durant 20 min. Un deuxième lavage a été fait avec du tampon de lavage dilué. La réaction immuno-enzymatique a été révélée par addition et incubation pendant 20 min d'une solution contenant le substrat. La réaction est arrêtée par l'addition de solution stop.

La densité optique a été déterminée au moyen d'un lecteur ELISA (Immunoskan ELISA, BDSL) à la longueur d'onde de 620 nm. Les densités optiques (DO) obtenues ont été converties

en pourcentages d'inhibition (PI), calculés selon une formule indiqué par le fabricant. Le seuil de positivité (*cut off*) est déterminé, également par le fabricant, à 30%, ainsi les échantillons dont le pourcentage est inférieur à 30% sont négatifs et ceux dont le pourcentage est supérieur à 30% sont positifs.

ii) Pour la détection d'*Anaplasma phagocytophilum*

La technique Indirect Fluorescence Antibody Test (IFAT) a été utilisée pour la mise en évidence des anticorps dirigés contre *A. phagocytophilum*. Les sérums ont été analysés avec des lames commerciales MegaScreen FLUOANAPLASMA ph. (MegaCorDiagnostik, Autriche).

Nous avons procédé comme suit : Les sérums à tester et les témoins (négatifs et positifs) fournis par le fabricant ont été dilués dans du PBS (phosphate buffered saline à 7,2 pH) à un titre de 1/50, dilution retenue par le fabricant comme seuil de positivité pour la détermination de la prévalence de l'infection. Ces sérums ont été par la suite distribués sur les puits ou "spots" coatés d'antigènes (neutrophiles infectés par les inclusions caractéristiques d'*A. phagocytophilum*). Sur chaque lame, deux "spots" ont été réservés aux contrôles positif et négatif. Après 30 min d'incubation à 37°C en chambre humide, les lames ont été lavées avec du tampon PBS et séchées. Le conjugué (anti Cattle-FITC Conjugate) a été distribué sur chaque "spot". Après incubation, rinçage et séchage; les lames ont été montées avec du fluoprep (Monting fluid, BioMerieux) et observées au microscope à fluorescence (Axioskop) au grossissement x100 sous huile à immersion.

L'intensité de la fluorescence de chaque sérum a été comparée aux témoins positif et négatif de la lame. Un sérum est considéré comme positif lorsqu'on observe les morulas vertes fluorescentes. Pour le criblage, les lames ont été classées par catégories, en fonction du nombre de morulas et de l'intensité de la fluorescence (tableau 2). Tous les sérums positifs à la dilution de 1/50 ont été ré-analysés pour déterminer leur titre en anticorps jusqu'à un titre de 1/100.

Tableau 2: Barème de lecture des lames IFAT (MegaCorDiagnostik, Autriche)

Résultats	Signification
0	Contrôle négatif
+	Bactéries visibles mais pas de fluorescence
++	Fluorescence présente mais modérée
+++	Fluorescence intense
++++	Fluorescence très intense

iii) Pour la détection de *Babesia bigemina*

La technique IFAT a également été utilisée pour la détection des anticorps spécifiques de *B.bigemina*. Nous avons utilisé les lames commerciales MegaScreen FLUOBABESIA bigemina (MegaCorDiagnostik, Autriche). Le principe de la technique est tout à fait le même que celui décrit précédemment pour *A. phagocytophilum.*

Les sérums et les témoins (négatifs et positifs) sont dilués dans du PBS à une dilution de 1/80 (dilution retenue par le fabricant comme seuil de positivité pour la détermination de la prévalence de l'infection) ont été incubés pendant 30 min à 37°C en présence des particules antigéniques correspondantes (érythrocytes infectés par les inclusions caractéristiques de *B.bigemina*) fixées sur les puits des lames à IFAT. Les complexes immuns ainsi formés ont été révélés grâce à l'addition d'anticorps dirigés contre les immunoglobulines bovines marquées à l'isothiocyanate de fluorescéine (anti Cattle-FITC Conjugate). Les lames ont été ensuite examinées au microscope à fluorescence au grossissement x100 sous huile à immersion. La lecture a été faite de la même manière que pour *A. phagocytophilum*. Pour le criblage, les lames ont été classées par catégories en fonction du nombre de parasite et de l'intensité de la fluorescence (tableau 2). Pour déterminer le titre en anticorps des sérums positifs, une gamme de dilution a été testée de 100 jusqu'à 400.

iv) Pour la détection de *Babesia bovis*

Pour *B. bovis,* on a utilisé un kit IFAT commercial (VMRD Pullman, Washington, USA). Chaque lame IFAT renfermait 12 puits coatés avec des globules rouges parasités par *B. bovis.*

Les lames ont été d'abord incubées avec du PBS-BSA 1% (BSA = albumine sérique bovine) pendant 30 min à 37°C en chambre humide. Le BSA est utilisé pour le blocage des sites non spécifiques. Les sérums à tester et les témoins négatifs et positifs ont été dilués dans du PBS à une dilution de 1/40. Pour la suite, le même protocole a été appliqué comme décrit pour *A. phagocytophilum* et *B. bigemina*. Pour déterminer les titres en anticorps, les sérums positifs ont été dilués jusqu'à un titre de 1/400.

Remarque : afin d'organiser la lecture et de faciliter l'exploitation des résultats, un plan des lames a été prédéfini, mentionnant l'agent pathogène, la date, la dilution des sérums, l'origine de chaque sérum et la conclusion. Un nombre de six lames (soit un nombre de 60 sérums) a été examiné par jour.

II. 6. Analyses hématologiques et biochimiques

Dans le but d'apprécier les altérations du profil hématologique et biochimique lors d'infections naturelles par les babésioses bovines à *B. bigemina* et *B. bovis*, et de l'anaplasmose bovine à *A. phagocytophilum* et *A. marginale*, 70 bovins sur un total de 200 étudiés ont été sélectionnés au hasard et ont fait l'objet d'analyses hématologiques et biochimiques.

- Analyses hématologiques :

La numération sanguine (FNS) a été effectuée grâce à un Coulter (Horiba Medical) situé au niveau du laboratoire de biochimie de l'ENSV, le jour même de la réalisation des prélèvements (tubes EDTA). Ainsi, nous avons déterminé le nombre des hématies (GR), des leucocytes ou globules blancs (GB) et des plaquettes (PLA), le taux d'hématocrite (Ht), de l'hémoglobinémie (Hb), du volume globulaire moyen (VGM), de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) et de la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH).

- Analyses biochimiques :

Les paramètres dosés sont l'urée, la créatinine, la créatinine kinase (CK), Alanine aminotransférase (ALAT), aspartate aminotransférase (ASAT), gamma-glutamyltransferase (GGT) et la bilirubine. Ces paramètres ont été mesurés dans le sérum.

L'ALT et la CK étant instables à -20°C, les sérums ont été conservés à +4°C jusqu'au moment de l'analyse réalisée dans un délai de 7 jours, toujours au niveau du laboratoire de Biochimie de l'ENSV. Pour les autres paramètres, leur activité est stable à -20°C, de ce fait, ils peuvent être conservés pendant plusieurs mois sans que leur activité ne soit altérée. Les sérums ont été donc conservés à -20°C jusqu'au moment de leur analyse effectuée au service de biochimie de l'hôpital de Thenia.

Le principe réactionnel, le Kit ainsi que l'automate utilisé pour le dosage de chaque paramètre hématologique et biochimique sont décrits en annexe 5.

En fonction des résultats sérologiques, les animaux ont été répartis en trois lots, un premier lot regroupant les animaux sains et séronégatifs (groupe de contrôle), un deuxième lot constitué d'animaux séropositifs mais ne présentant pas de signes cliniques (groupe de cas chronique), et un dernier lot composé d'animaux malades, séropositifs et présentant des signes cliniques (groupe de cas clinique).

II. 7. Récolte et identification des tiques

Tous les bovins prélevés ont été examinés pour la présence de tiques. Celles-ci ont été récoltées sur l'animal vigile de façon mécanique sans qu'aucune substance (éther, acaricide, etc...) ne soit préalablement appliquée sur le parasite. Les tiques récoltées ont été alors conservées individuellement pour chaque animal dans des tubes identifiés remplis d'éthanol à 70°. Une fois au laboratoire de parasitologie de l'ENSV, chaque tique a été observée sous la loupe binoculaire (OPTIKA) pour la diagnose. L'identification des spécimens a été réalisée au niveau du genre et de l'espèce selon les clés taxonomiques élaborées par Sergent et *al.* (1945), Walker et *al.* (2003) et Meddour-Bouderda et Meddour (2006).

II. 8. Codage et saisie des données

Les données collectées sur place (fiches des renseignements et questionnaires) et les résultats des analyses ont été saisis, au fur et à mesure de l'étude, à l'aide d'un système de gestion de base de données (Microsoft Excel 2013).

II. 9. Analyses statistiques

Les prévalences calculées ont été estimées à 95% d'intervalle de confiance. Les différences statistiques dans les proportions ont été comparées en utilisant le test du Chi2 (Yates corrected) ou dans certains cas en utilisant le test de Fisher exact. Les différences observées ont été considérées comme significatives quand la valeur de *P* était inférieure à 0,05. Les analyses statistiques ont été menées grâce aux logiciels consultés en ligne: http://www.OutildecalculdeKhicarré(Chicarré%3bChideuxouX²).html et http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/?module= tests/fisher, pour le calcul de Chi2 et de Fisher exact respectivement.

L'association entre la séropositivité aux agents infectieux étudiés et la présence de signes cliniques et/ou présence de tiques a été mesurée par l'odds ratio (OR) avec calcul d'un intervalle de confiance de 95% (IC) en utilisant le site http://www.medcalc.org/calc/odds ratio.php.

Les comparaisons des méthodes avec le calcul de la spécificité, la sensibilité, l'exactitude et du Kappa de Cohen ont été réalisées grâce à l'utilisation du Win Episcope 2.0 (disponible en ligne : http://www.clive.ed.ac.uk/winepiscope).

Le kappa de Cohen (k) est un coefficient destiné à mesurer l'accord entre deux variables qualitatives ayant les mêmes modalités. Classiquement, il est utilisé afin de mesurer le degré de concordance entre les stades attribués par deux juges. Il peut également être appliqué afin de

mesurer un accord intra-observateur. Il a été calculé et évalué comme décrit auparavant (Kirkwood et Sterne, 2003).

Le coefficient *k* est toujours compris entre -1 et 1 (accord maximal). Habituellement, on utilise le « barème » suivant pour interpréter la valeur *k* obtenue :

- < 0 Grand désaccord
- 0.00 – 0.20 Accord très faible
- 0.21 – 0.40 Accord faible
- 0.41 – 0.60 Accord moyen
- 0.61 – 0.80 Accord satisfaisant
- 0.81 – 1.00 Accord excellent

Le test de Mc Nemar a été appliqué aux résultats des tests d'analyses et les valeurs p ont été calculées en utilisant ce site http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv /?module=tests/macnemar. Le test a été considéré comme significativement différent du test de référence lorsque P <0,05 (Kirkwood et Sterne, 2003).

Enfin, les moyennes ± déviation standard ont été calculées pour chaque paramètre hématologique et biochimique étudié. Les comparaisons de moyennes ont été effectuées par le test du Wilcoxon par rapport au groupe contrôle. Les différences ont été considérées comme significatives lorsque P < 0,05.

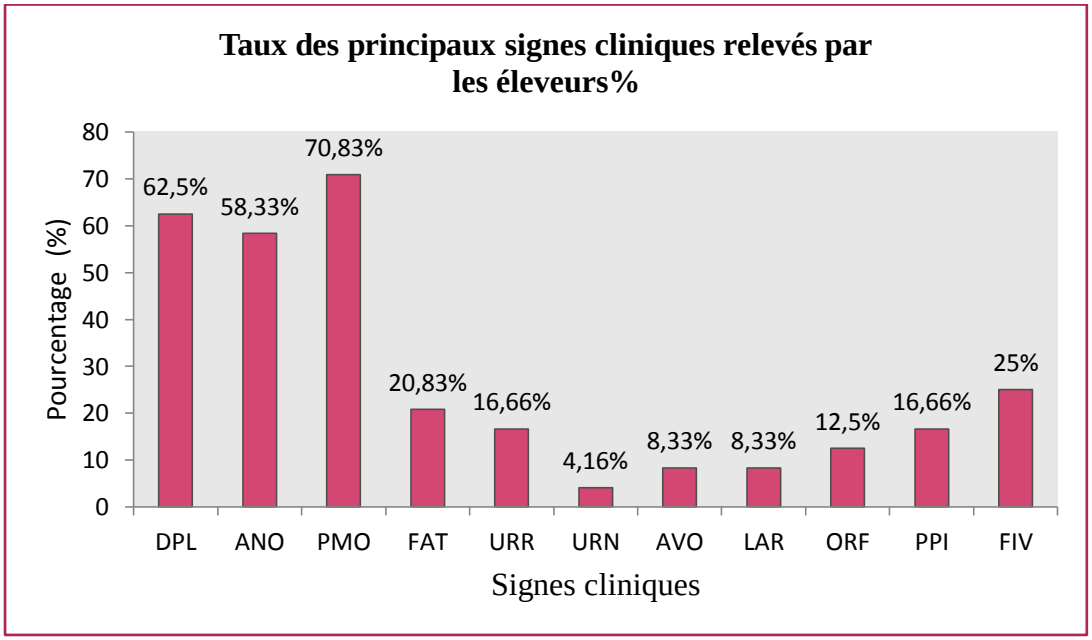
III. Résultats

III. 1. Enquête descriptive

L'enquête menée auprès de 24 éleveurs bovins a révélé que ces derniers semblent ne pas différencier entre les babésioses, anaplasmose et theiléiriose. Ils les nomment d'ailleurs sans distinction *«bousseffayer»*.

Au total, 20 éleveurs (83,33%) déclarent que leurs animaux ont déjà été confrontés à des signes cliniques compatibles avec ceux observés lors d'une babésiose, anaplasmose ou theiléiriose.

Dans l'énumération des signes cliniques observés, les éleveurs interrogés citaient généralement 3 à 5 symptômes. Cependant, la chute de la production laitière, l'anorexie et la pâleur des muqueuses oculaires étaient les signes les plus fréquemment relevés et sont considérés comme les « *signes d'appel* », qui les motivent le plus souvent à contacter leurs vétérinaires traitants (figure 4).



Légende : DPL= Diminution de la production laitière, ANO= Anorexie, PMO= Pâleur des muqueuses oculaires, FAT= Fatigue, URR= Urine rouge, URN= Urine noire, AVO= Avortement, LAR= Larmoiement, ORF= Oreille froides, PPI= Poils piquantes, FIV= Fièvre.

Figure 4: Différents signes cliniques relevés par les éleveurs

Pour la prise en charge thérapeutique, 41,66% des éleveurs appliquent un traitement spécifique en cas de maladie (dès l'apparition de signes cliniques), 33,33% adoptent des traitements traditionnels suivis ou non par un traitement spécifique (tableau 3). Le traitement traditionnel

est basé sur l'utilisation de douche froide qui consiste à une aspersion du corps de l'animal fiévreux avec de l'eau froide à raison de 2 à 3 fois par jour, saignée an niveau des oreilles et l'administration de préparations orales à base d'épices et de plantes. Parmi ces plantes, celle connue sous le nom scientifique de *« Rhamnus alatermus* », appelée couramment « imliless », est le plus souvent utilisée.

Tableau 3: Type de traitement utilisé contre les piroplasmoses et anaplasmose bovines

Type de traitement	Nbr	%
Traitement spécifique	10	41,66
Traitement traditionnel	1	4,16
Traitement traditionnel + spécifique	7	29,16
Pas de traitement	2	8,33
Pas de réponse	4	16,66
Total	24	100%

Dans la lutte contre les tiques, l'enquête a révélé que seulement 16.66% des éleveurs traitaient systématiquement contre les tiques, 66,66% le font occasionnellement en cas de nécessité (présence de tiques sur les animaux) et 16,66% n'emploient jamais de traitements acaricides (tableau 4). De tous les éleveurs qui traitent contre les tiques, 85% ciblent uniquement les animaux, 15% visent à la fois les animaux et l'étable. De plus, la période des traitements, l'intervalle entre eux et la nature des produits acaricides utilisés varient considérablement entre les exploitations.

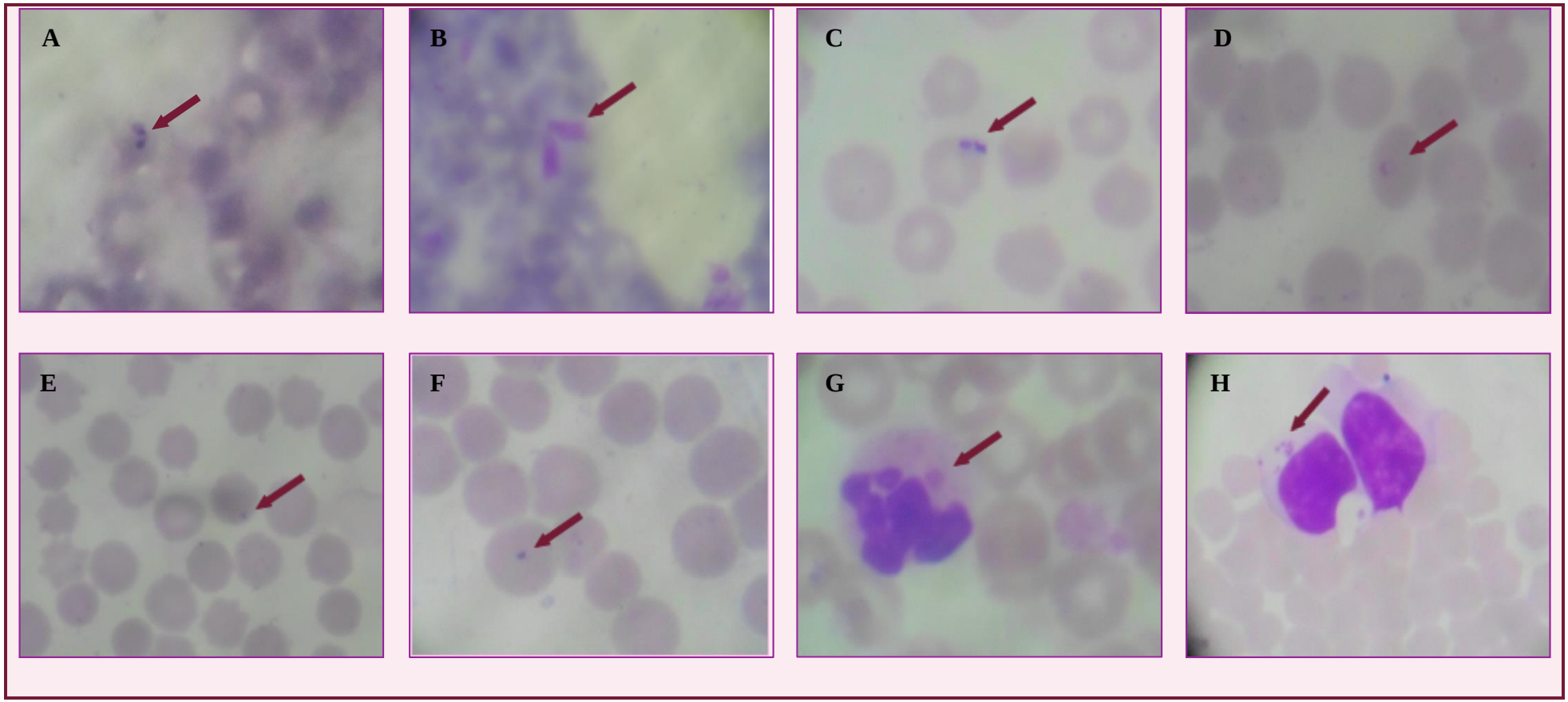
Tableau 4: Fréquence de traitement contre les tiques

Traitement contre les tiques	Nbr	%
Systématique	4	16,66
Occasionnel	16	66,66
Absent	4	16,66
Total	24	100%

III. 2. Description morphologique des espèces de *Babesia* et d'*Anaplasma* identifiées sur frottis sanguins colorés au MGG

La recherche en microscopie photonique, sous huile à immersion en utilisant un oculaire x8 et un objectif x100, sur des lames préparées, a permis de mettre en évidence différentes espèces de *Babesia* et d'*Anaplasma* identifiées par leur aspect morphologique. Les espèces identifiées sont les suivantes :

- ***B. bovis*** identifiée sous forme de paires de mérozoites situées en angle obtus l'un par rapport à l'autre et localisées au centre de l'érythrocyte, de petite taille et qui varie approximativement entre 1 à 1,5 µm de long et 0,5 à 1,0 µm de large (figure 5A).
- ***B. divergens*** identifiée est de morphologie similaire à *B. bovis*. Il s'agit aussi d'un petit parasite, cependant, les paires de mérozoïtes en angle obtus sont localisées au bord de l'érythrocyte (figure 5 C).
- ***B. bigemina*** identifiée s'est montrée en forme de poires bigéminées de grandes tailles et formant un angle aigu (figure 5 B). Des formes uniques ont été également décrites. Elles mesurent approximativement de 3 à 3,5 µm de long et 1 à 1,5 µm de large et les formes par paire ont souvent 2 points rouges discrets dans chaque parasite, contrairement à *B. bovis* et *B. divergens* qui n'en possèdent qu'un seul.
- Des formes circulaires correspondant à des **trophozoites** de *Babesia spp* ont été également observées (figure 5 D).
- ***A. marginale*** identifiée dans cette étude s'est présentée comme des éléments denses, ronds et fortement colorés dans les corps intra-érythrocytaires d'un diamètre d'environ 0,3 à 1 µm. La plupart de ces corps sont localisés sur ou proche du bord des érythrocytes (figure 5 E).
- ***A. centrale*** présente la même morphologie que celle d'*A. marginale*, mais elle occupe une position centrale (figure 5 F).
- ***A. phagocytophilum*** a été identifiée principalement dans les granulocytes neutrophiles, sous forme de morulas d'un diamètre compris entre 1,5 à 6 µm et située contre le noyau des cellules parasitées (figure 5 G).
- Les examens parasitologiques des frottis sanguins ont permis également de mettre en évidence la présence de ***Theileria spp***. En effet plusieurs schizontes ont été observés dans les leucocytes (figure 5 H).



Légende: A) *B. bovis*, B) *B. bigemina*, C) *B. divergens*, D) Trophozoite, E) *A. marginale*, F) *A. centrale*, G) *A. phagocytophilum*, H) *Theileria spp.*

Figure 5: Différentes espèces de *Babesia spp, Anaplasma spp et Theileria spp* identifiées sur frottis sanguins colorés au MGG, oculaire x8 et objectif x100 (photos zoomées) (Photos Personnelle, 2013)

III. 3. Étude de la prévalence des infections et des co-infections par *Babesia spp* et *Anaplasma spp*

Pour étudier la prévalence des infections par *Babesia* et *Anaplasma*, nous avons utilisé deux techniques différentes : le frottis sanguin (FS) qui est une technique de diagnostic directe permettant la mise en évidence de différents hémopathogènes dans le sang et la sérologie qui est une méthode de diagnostic indirecte utilisée pour la détection des anticorps spécifiques dirigés contre *Babesia spp* et *Anaplasma spp*.

III. 3.1 Étude de prévalence par frottis sanguin

1. Prévalence globale

Au total, 200 échantillons de sang de bovins ont été analysés. Les résultats ont révélé que 47 bovins étaient positifs pour *Babesia*, correspondant à une prévalence globale de 23,5% (IC 95% 17,5% - 29,5%) et 40 étaient positifs pour *Anaplasma*, soit une prévalence globale de 20% (IC 95% 14,34% - 25,66%) (figure 6).

Dans la présente étude, nous avons également mis en évidence la présence de *Theileria spp* chez 15 bovins, ce qui correspond à une prévalence de 7,5% (IC 95% 3,77% -11,22%) (figure 6).

Les prévalences de *Babesia* et *Anaplasma* ont été significativement plus élevées comparées à celle de *Theileria* ($p < 0,01$).

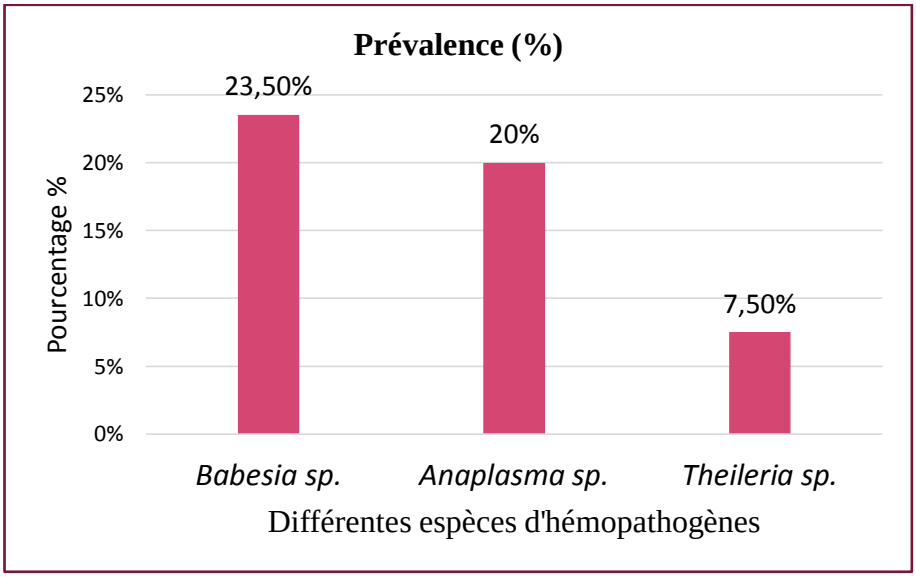


Figure 6: Prévalence de *Babesia*, *Anaplasma* et *Theileria* chez le bovin

2. Prévalence par espèce de *Babesia* et *Anaplasma* identifiée

L'examen parasitologique a mis en évidence trois espèces différentes de babésies (figure 7): *B. bovis* avec une prévalence de 17% (IC 95% 11,68% - 22,31%), *B. bigemina* avec une prévalence de 8% (IC 95% 4,16% - 11,84%) et enfin, *B. divergens* avec une prévalence de 6% (IC 95% 2,64% - 9,36%).

B. bovis a été l'espèce prédominante et une différence significative a été relevée entre les différentes espèces observées ($p < 0,01$).

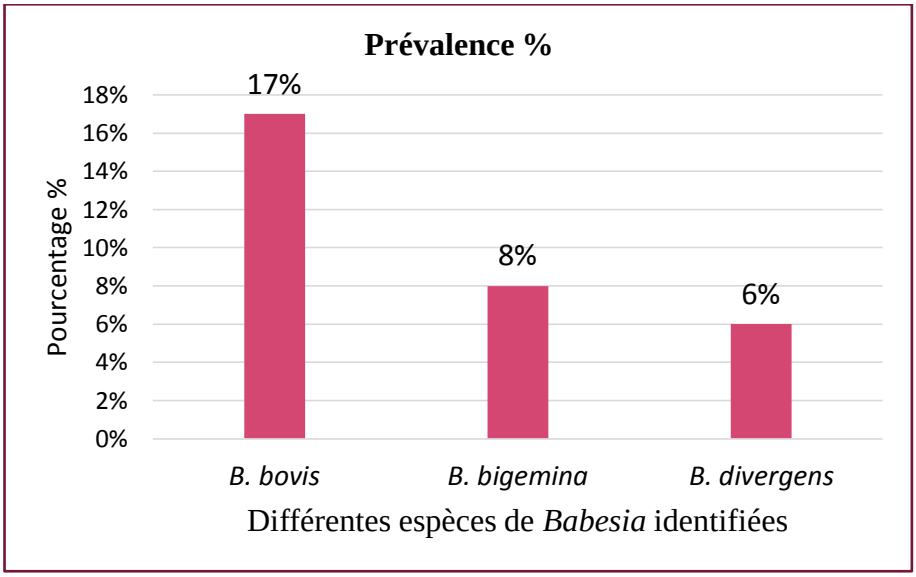


Figure 7: Prévalence des différentes espèces de *Babesia* identifiées

Pour le genre *Anaplasma*, les trois espèces identifiées ont montré les prévalences suivantes (figure 8): *A. marginale* 16% (IC 95% 10,41% -21,18%), *A. phagocytophilum* avec une prévalence de 5% (IC 95% 1,92% - 8,08%) et *A. centrale* avec un taux de 4.5% (IC 95% 1,57% - 7,43%).

L'analyse statistique a montré qu'*A. marginale* est l'espèce le plus souvent retrouvée ($p<0,01$).

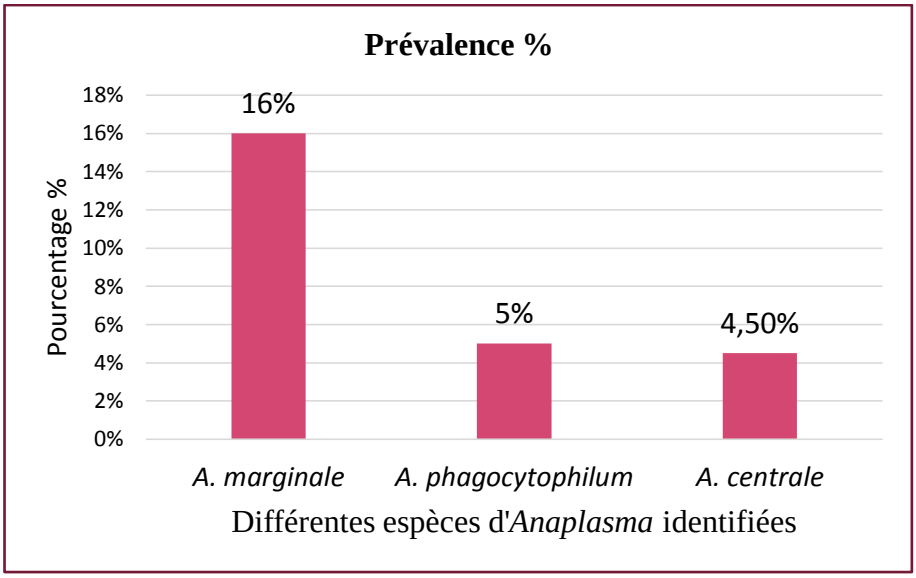


Figure 8: Prévalence des différentes espèces d'*Anaplasma* identifiée

3. Prévalence des co-infections

3.1 Infections mixtes avec différentes espèces de *Babesia*

Sur les 200 bovins examinés, seuls 13 bovins hébergeaient deux espèces ou plus appartenant au genre *Babesia* soit une prévalence de 6,5% (IC 95% 3,01% - 9,99%) (figure 9). Des infections mixtes, associant le plus souvent 2 espèces de babésies (5,5%), plus rarement les 3 espèces (1%) ont été observées.

21 animaux étaient mono-infectés par *B. bovis* soit une prévalence de 10,5% (IC 95% 6,16% - 14,84%), 5 par *B.bigemina* correspondant à un taux de 2,5% (IC 95% 0,29% - 4,71%) et enfin, 8 bovins n'étaient infectés que par *B. divergens*, soit une prévalence de 4% (IC 95% 1,23% - 6,77%) (figure 9).

En revanche, 153 (76,5%) bovins étaient complètement indemnes d'une infection par l'un ou l'autre des 3 espèces de *Babesia* retrouvées.

La figure ci-après illustre la répartition des prévalences des espèces de *Babesia* identifiées.

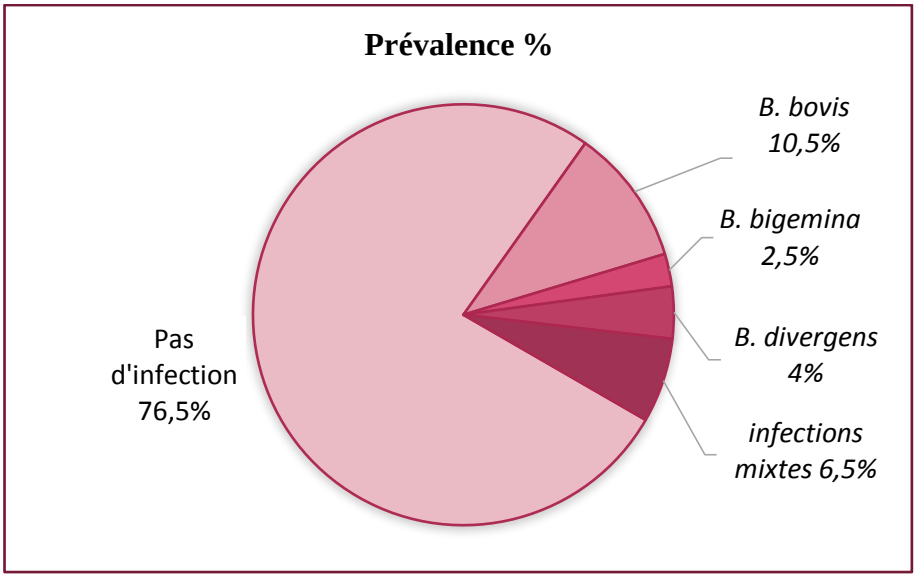


Figure 9: Répartition des prévalences (%) des espèces de *Babesia* identifiées en mono-infection et en infections mixtes

3.2 Infections mixtes avec différentes espèces d'*Anaplasma*

Au total, seuls 9 bovins ont été co-infectés par deux espèces ou plus appartenant au genre *Anaplasma*, ce qui donne une prévalence de 4,5% (IC 95% 1,57% - 7,43%) (figure 10). Ces co-infections associent le plus souvent 2 espèces d'*Anaplasma* (3,5%) et plus rarement les 3 espèces identifiées (1%).

Un nombre de 24 bovins étaient mono-infectés par *A. marginale* soit une prévalence de 12% (IC 95% 7,4% - 16,6%), 6 par *A. phagocytophilum* correspondant à un taux de 3% (IC 95% 0,59% - 5,41%) et enfin, seulement un bovin a présenté une mono-infection par *A. centrale*, soit une prévalence de 0,5% (IC 95% -0,5% - 1,5%) (figure 10).

Par ailleurs, 160 (80%) bovins étaient complètement indemnes d'une infection par l'une ou l'autre des 3 anaplasmes identifiées.

La figure ci-après présente la répartition des prévalences des espèces d'*Anaplasma* identifiées.

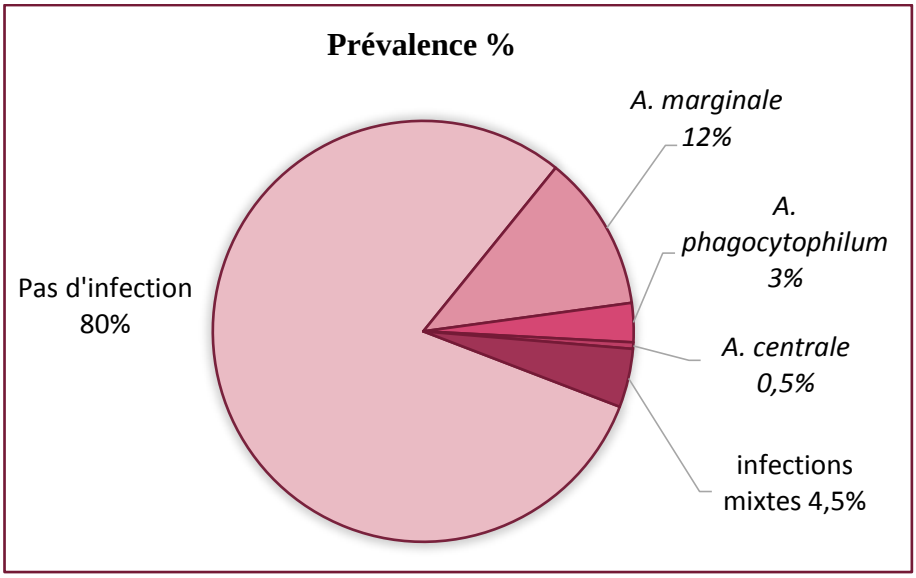


Figure 10: Répartition des prévalences (%) des espèces d'*Anaplasma* identifiées en mono-infection et en infections mixtes

3.3 Infections mixtes avec différentes espèces d'hémopathogènes identifiées

Des co-infections entre les différentes espèces de *Babesia*, *Anaplasma* et *Theileria spp* ont été détectées dans un total de 37 échantillons, soit une prévalence globale de 18,5% (IC95% 13,01% - 23,99%). Un nombre de 22 combinaisons entre les différentes espèces pathogènes a été mis en évidence, avec un maximum de 6 espèces détectées chez un même animal, associant *B.bovis-B.bigemina-A.marginale-A.centrale-A.phagocytophilum-Theileria spp*, avec une fréquence de 0,5% (IC 95% -0,5% - 1,5%). Les co-infections doubles ont été détectées chez un total de 19 bovins, soit une fréquence de 9,5% (IC 95% 5,35% - 13,56%). L'association double la plus fréquente était *B. bovis-B. bigemina* avec une prévalence de 2,5% (IC 95% 0,29% - 4,71%). Les co-infections multiples associant trois espèces ou plus ont été détectées chez un total de 18 bovins, correspondant à une prévalence de 9% (IC 95% 4,95% - 13,05%). L'association multiple la plus fréquente était entre *B. bovis-A. marginale-A. centrale* avec un pourcentage de 2% (IC 95% 0,02% - 3,98%).

Au total, 28 bovins, soit une fréquence de 14% (IC 95% 9,09% - 18,9%), ont présenté des mono-infections. En effet, *A. marginale* a eu la prévalence la plus élevée de 5% (IC 95% 1,92% - 8,08%), suivie par *B. bovis* 3,5% (IC 95% 0,9% - 6,1%), *B. bigemina* 1,5% (IC 95%-0,22% – 3,22%), *A. phagocytophilum* 1,5% (IC 95% 0,22% – 3,22%), *Theileria spp* 1,5% (IC 95%-0,22% – 3,22%) et *B. divergens* 1% (IC 95%-0,41% – 2,41%). *A. centrale* n'a pas été détectée en mono-infection.

Par ailleurs, 135 bovins (67,5%) ont été complètement indemnes d'une infection par l'un ou l'autre des 7 hémopathogènes identifiés.

Les résultats des co-infections et des mono-infections des différentes espèces identifiées ainsi que leurs fréquences sont repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5: Co-infections *Babesia-Anaplasma-Theileria*

Espèces de pathogènes identifiées	**Fréquence**	
	Nbr	**%**
Pas d'infection	135	67,5
B. bovis	7	3,5
B. bigemina	3	1,5
B. divergens	2	1
A. marginale	10	5
A. phagocytophilum	3	1,5
A. centrale	0	0
Theileria spp	3	1,5
B. bovis-B. bigemina	5	2,5
B. bovis-B. divergens	1	0,5
B. bovis-A. marginale	4	2
B. bovis-Theileria spp	2	1
B. bigemina-A. marginale	2	1
B. divergens-A. marginale	2	1
B. divergens-A. phagocytophilum	1	0,5
A. marginale-Theileria spp	2	1
B. bovis-B. bigemina-B. divergens	1	0,5
B. bovis-B. bigemina-A. marginale	1	0,5
B. bovis-B. bigemina-A. phagocytophilum	1	0,5
B. bovis-B. divergens-A. centrale	1	0,5
B. bovis- A. marginale- A. centrale	4	2
B. bovis- A. marginale-Theileria spp	2	1
B. bovis- A. phagocytophilum-Theileria spp	1	0,5
B. divergens-A. marginale-A. centrale	1	0,5
B. divergens-A. marginale- Theileria spp	1	0,5
B. bovis-B. bigemina-B. divergens-Theileria spp	1	0,5
B. bovis- A. marginale-A. centrale-A. phagocytophilum	1	0,5
B. divergens-A. centrale-A. phagocytophilum-Theileria spp	1	0,5
B. bovis-B. bigemina-A. marginale- A. phagocytophilum-Theileria spp	1	0,5
B.bovis-B.bigemina-A.marginale-A.centrale-A.phagocytophilum-Theileria spp	1	0,5
Total	**200**	**100**

4. Prévalence en fonction des signes cliniques

L'examen clinique effectué sur chaque bovin prélevé a révélé la présence de signes cliniques (tels que l'hyperthermie, l'anorexie, l'anémie, la chute de la production laitière, le larmoiement, les poils piqués,…) compatibles avec la babésiose et/ou l'anaplasmose chez un total de 20 bovins, soit une prévalence clinique de 10% (IC 95% 5,76% - 14,24%).

Chez les bovins présentant des signes cliniques compatibles avec la babésiose et l'anaplasmose, les prévalences de *B. bigemina* (45%) et de *B. bovis* (65%) se sont avérées significativement ($p < 0,01$ avec des OR de 20,22 et 14,06 respectivement) plus élevées que celle d'*A. marginale* (30%) ($p < 0,05$ avec un OR de 2,96) comparées aux bovins asymptomatiques. Par ailleurs, les prévalences de *B. divergens*, *A. centrale* et *A. phagocytophilum* ne semblent pas être associées à l'apparition de signes cliniques chez les bovins infectés ($p > 0,05$ avec des OR de 1,88, 0,9 et 1 respectivement). Le tableau ci-après résume ces données.

Tableau 6: Prévalences des différentes espèces de *Babesia* et *Anaplasma* en fonction des signes cliniques compatibles à ceux d'une babésiose et/ou anaplasmose bovine

Facteur	**Prévalence en % (IC 95%)**		
	B. bovis(%)	***B.bigemina***(%)	***B. divergens***(%)
Présence de SC (n=20)	65 43,67 – 86,33	45 22,75 – 67,25	10 -3,42 – 23,42
Absence de SC (n=180)	11,66 6,88 – 16,44	3,88 1,0 -6.76	5,55 2,14 – 8,96
Valeur de *P*	< 0,01 (TS)	< 0,01 (TS)	> 0,05 (NS)
Odd Ratio	14,06	20,22	1,88
IC (95%)	5,04 – 39,2	6,33 – 64,54	0,38 – 9,3
	A. marginale(%)	***A. centrale***(%)	***A.phagocytophilum***(%)
Présence SC (n=20)	30 9,51 – 50,49	5 -4,75 – 14,75	5 -4,75 – 14,75
Absence de SC (n=180)	14,44 9,2 – 19,86	4,44 1,37 – 7,51	5 1,75 – 8,25
valeur de *P*	< 0,05 (S)	> 0,05 (NS)	> 0,05 (NS)
Odd Ratio	2,96	0,9	1
IC (95%)	1,02 – 8,5	0,13 – 9,54	0,12 – 8,32

SC : signes cliniques ; TS : très significatif ; S : significatif ; NS : non significatif

5. Prévalence en fonction de la présence de tiques

L'étude des prévalences obtenues pour les différentes espèces de *Babesia* et d'*Anaplasma* en fonction de la présence ou absence des tiques est résumée dans le tableau 7.

D'une façon intéressante, un lien très significatif ($p < 0,01$) a été mis en évidence entre la présence des tiques et la prévalence de *B. bovis* (47,22%) (OR=7,73), *B. bigemina* (22,22%) (OR=5,57), *A. marginale* (44,44%) (OR=7,4) et *A. centrale* (13,88%) (OR=6,45). Pour *B. divergens* (13,88%), une association significative ($p < 0,05$) (OR=3,61) a aussi été retrouvée. Cependant, la relation entre les deux (*B. divergens* et la présence de tiques) semble assez faible comparée aux autres hémopathogènes identifiés.

Enfin, cette constatation n'est pas valable pour *A. phagocytophilum* ($p > 0,05$ et OR=2,03). En effet, la présence de tiques ne semble pas influencer la prévalence de l'infection.

Tableau 7: Prévalences des différentes espèces de *Babesia* et d'*Anaplasma* en fonction de la présence ou absence de tiques chez les bovins

Facteur	**Prévalence en % (IC 95%)**		
	B. bovis(%)	***B.bigemina***(%)	***B. divergens***(%)
Présence de tique (n=36)	47,22 30,58 – 63,86	22,22 8,36 – 36,08	13,88 2,36 – 25,40
Absence de tique (n=164)	10,36 5,60 – 15,12	4,87 1,51 – 8,23	4,26 1,11 – 7,41
Valeur de *P*	< 0,01 (TS)	< 0,01 (TS)	< 0,05 (S)
Odd Ratio	7,73	5,75	3,61
IC (95%)	3,39 – 17,65	1,93 – 16,07	1,07 – 12,13
	A.marginale(%)	***A. centrale***(%)	***A.phagocytophilum***(%)
Présence de tique (n=36)	44,44 27,88 – 61,0	13,88 2,36 – 25,40	8,33 -0,88 – 17,54
Absence de tique (n=164)	9,75 5,12 – 14,38	2,43 0,03 – 4,83	4,26 1,11 – 7,41
Valeur de *P*	< 0,01 (TS)	< 0,01 (TS)	> 0,05 (NS)
Odd Ratio	7,4	6,45	2,03
IC (95%)	3,2 – 17,06	1,63 – 25,38	0,5 – 8,29

TS : très significatif ; S : significatif ; NS : non significatif

III. 3.2 Étude de la séroprévalence de différents hémopathogènes et analyse des facteurs de risque potentiellement associés

Les séroprévalences de *B. bovis, B. bigemina, A. marginale et A. phagocytophilum* ainsi que des facteurs de risque potentiellement associés sont successivement étudiés dans cette partie.

1. Séroprévalence vis-à-vis de *B. bovis*

1.1 Séroprévalence globale

Parmi les 200 bovins examinés, 90 se sont montrés positifs en IFAT à un titre ≥ 1/40 correspondant à une séroprévalence globale de 45% (IC 95% 37,96% - 52,04%).

1.2 Séroprévalence en fonction des titres en anticorps

La distribution des fréquences des titres en anticorps pour les échantillons positifs a été analysée (figure 11). Les sérums ont été testés à des dilutions allant de 1/40 à 1/400.
Les résultats ont montré que sur les 90 sérums positifs à un titre ≥ 1/40, 25 sont restés positifs à une dilution de 1/100 (soit 12,5%), 10 à une dilution de 1/200 (soit 5%) et seulement 4 sérums sont restés positifs à une dilution de 1/400 (soit 2%).

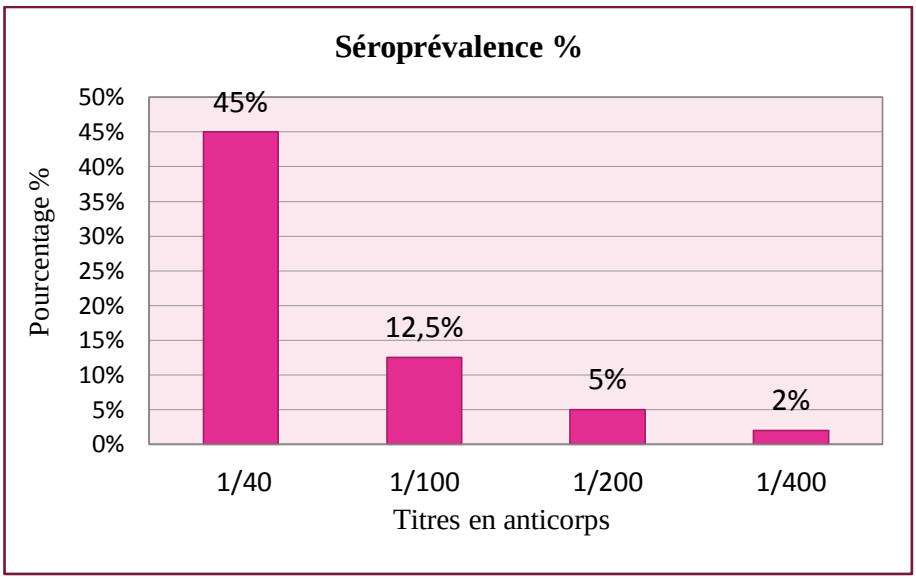


Figure 11: Variation de la séroprévalence vis-à-vis de *B. bovis* en fonction des titres en Ac

1.3 Étude des facteurs de risque

Cette étude, basée sur les résultats de l'étude de la séroprévalence, nous a permis d'identifier les facteurs de risque qui semblent augmenter le risque de la séropositivité vis-à-vis de *B. bovis.* Le tableau (8) résume tous les résultats obtenus de l'analyse des facteurs de risque présumés liés à l'infection par *B. bovis*.

L'analyse détaillée des résultats montre ce qui suit :

- La séroprévalence vis-à-vis de *B. bovis* n'a pas varié de façon statistiquement significative en fonction du sexe ($p > 0,05$).

- En revanche, une variation très significative a été observée selon la catégorie d'âge des animaux ($p < 0,01$). Les jeunes âgés de moins de 12 mois ont eu une séroprévalence de 14,29%, elle a été de 46,94% chez les animaux de 13 à 24 mois et de 53,45% chez les bovins âgés de plus de 25 mois. Ainsi, on constate que la proportion des bovins infectés augmente avec l'âge (figure 12 A).

- En outre, la séroprévalence a varié de façon significative en fonction des races considérées ($p < 0,01$). En effet, la race locale (56,25%) est la plus infectée, les races croisées montrent des fréquences d'infections intermédiaires (53,64%), alors que chez les races européennes, une séroprévalence nettement plus réduite (39,73%) est observée (figure 12 B).

- La séroprévalence a également varié selon l'origine des animaux ($p < 0,05$), les bovins importés ont été moins infectés (30,91%) que ceux nés au sein des exploitations ou achetés (50% et 52,94% respectivement) (figure 12 C).

- Lorsque l'on s'intéresse à la présence ou l'absence de signes cliniques pouvant être associés à la babésiose bovine, on note une différence significative ($p < 0,05$) entre la séroprévalence à *B. bovis* chez les bovins présentant des signes cliniques compatibles avec la babésiose (70%) comparés aux bovins sans aucun signe clinique évoquant une babésiose (42,2%).

- Les conditions et les pratiques d'élevage étaient globalement favorables à l'infection par *B. bovis.* En effet, la séroprévalence a varié de façon très significative en fonction de l'état d'hygiène de la ferme ($p < 0,01$). Ainsi, on constate que plus l'état d'hygiène de la ferme est bon, plus la séroprévalence est basse (figure 12 D).

- Le pâturage qui favorise le contact entre les animaux et les tiques vectrices, ne semble pas influencer significativement la séroprévalence vis-à-vis de *B. bovis* ($p > 0,05$). Par contre, et de façon intéressante, il y avait un lien très significatif ($p < 0,01$) entre la séroprévalence et la présence de tiques (figure 12 E). Il en est de même pour la lutte contre ces dernières ($p < 0,01$). En effet, les éleveurs qui traitent systématiquement contre les tiques, leurs animaux sont moins exposés à l'infection comparés à ceux qui traitent occasionnellement voire jamais.

- Si on considère la saison, on remarque qu'il y a une influence très significative sur la séroprévalence de *B. bovis* ($p < 0.01$). Le taux de l'infection est nettement plus élevé en été (78,05%), alors qu'en hiver et en automne, on trouve des séroprévalences plus faibles (32,5% et 31,67% respectivement) (figure 12 F).

- Enfin, aucune différence significative n'est mise en évidence entre les trois zones étudiées : le Littoral (34,62%), la Mitidja (41,67%) et le Sahel algérois (55,26%) ($p>0,05$). En revanche, certaines communes ont été plus infectées que d'autres. La commune de Draria, située dans le Sahel algérois, et les communes de Reghaia et de Dar El Beida, situées dans la Mitidja, ont montré les taux les plus élevés (85%, 66,67% et 60% respectivement).

Les résultats sérologiques obtenus en fonction des communes sont repris dans le tableau (9) et la figure (13).

Tableau 8: Analyse de certains facteurs de risque potentiels susceptibles d'influencer la séroprévalence de *B. bovis*

Variables	n	Séroprévalence (%) (IC 95%)	Valeur de *p*	Signification
Sexe				
Femelle	167	46,71 (38,99 – 54,43)	0,2	*NS*
Mâle	33	36,36 (19,62 – 53,11)		
Age (mois)				
< 12	35	14,29 (2,46 – 26,12)	0.0002	*TS*
13-24	49	46,94 (32,68 – 61,2)		
> 25	116	53,45 (44,19 – 62,71)		
Race				
Européenne	74	29,73 (19,10 – 40,36)	0.003	*TS*
Croisée	110	53,64 (44,13 – 63,15)		
Locale	16	56,25 (31,45 – 81,08)		
Origine				
Importé	55	30,91 (18,45 – 43,37)	0,04	*S*
Natif	128	50 (41,16 – 58,84)		
Acheté	17	52,94 (28,73 – 77,15)		
État de santé				
Présence de SC	20	70 (49,5 – 90,5)	0,017	*S*
Absence de SC	180	42,2 (34,9 – 49,6)		
État d'hygiène				
Bon	43	23,26 (10,37 – 36,14)	0,0000	*TS*
Moyen	98	39,8 (29,91 – 49,68)		
Mauvais	59	69,49 (57,5 – 81,48)		
Pâturage				
Oui	153	47,06 (38,99 – 55,13)	0,29	*NS*
Non	47	38,3 (24,12 – 52,48)		
Tiques				
Présence	36	72,22 (57,29 – 87,15)	0,0003	*TS*
Absence	164	29,02 (31,41 – 46,64)		
Contrôle des tiques				
Systématique	39	17,95 (5,66 – 30,24)	0,0008	*TS*
Occasionnel	128	51,56 (42,73 – 60,40)		
Absent	33	51,52 (34,12 – 68,91)		
Saison				
Automne	60	31,67 (19,66 – 43,68)	0,0000	*TS*
Été	41	78,05 (65,12 – 90,98)		
Hiver	40	32,50 (17,69 – 47,31)		
Printemps	59	44,07 (31,14 – 56,99)		
Zone AGE				
Littoral	52	34,62 (21,42 – 47,81)	0,054	*NS*
Mitidja	72	41,67 (30,05 – 53,29)		
Sahel	76	55,26 (43,86 – 66,67)		

SC : signes cliniques ; AGE : agroécologique
TS : très significatif (p < 0.01) ; *S* : significatif (p < 0,05) ; *NS* : non significatif (p > 0,05)

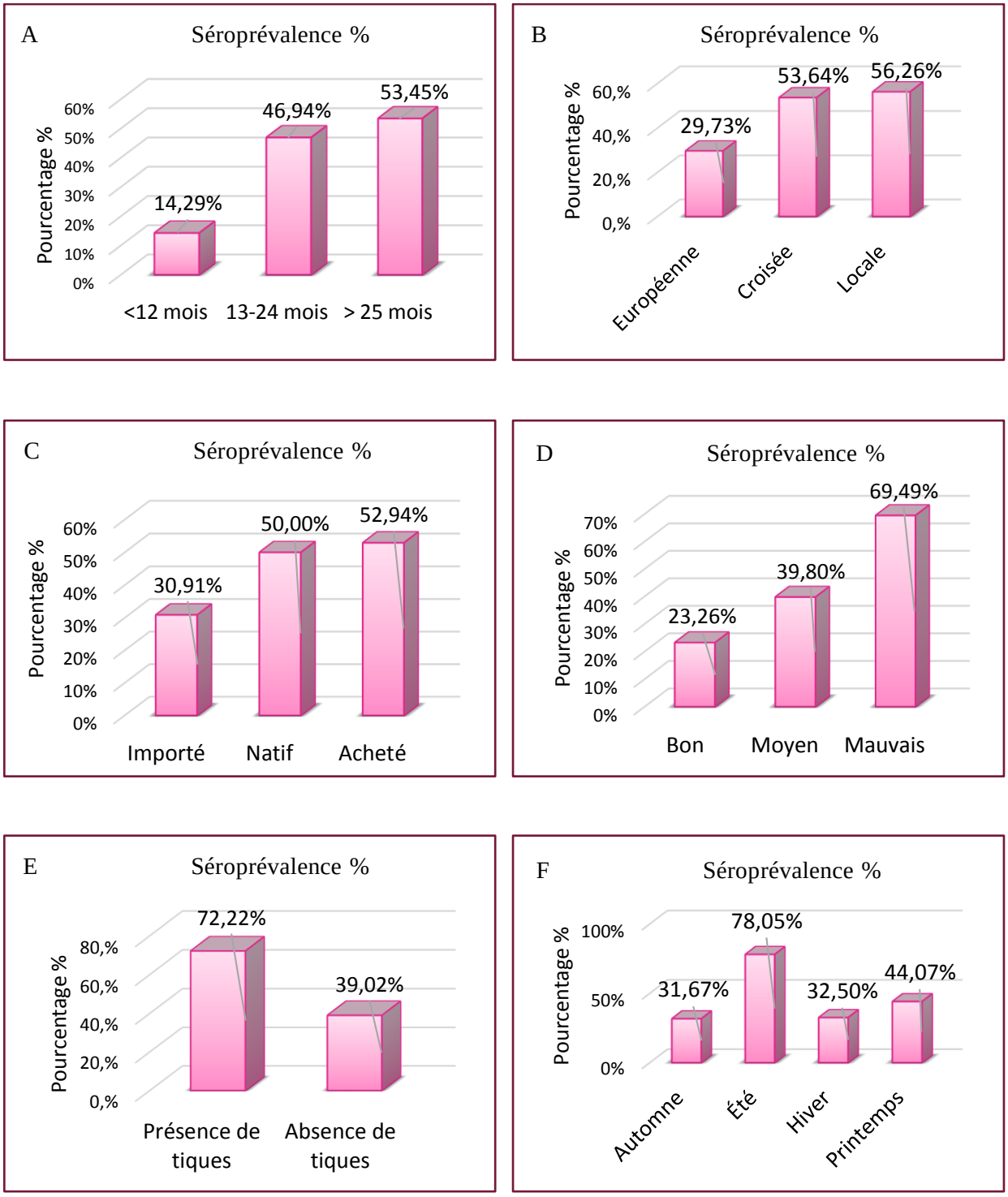


Figure 12: Variation de la séroprévalence vis-à-vis de *B. bovis* en fonction de l'âge (A), de la race (B), de l'origine du bovin (C), de l'état d'hygiène de la ferme (D), de la présence ou absence de tiques (E) et de la saison (F).

Tableau 9: Répartition des séroprévalence vis-à-vis de *B. bovis* en fonction des communes

Commune	**Nombre de positifs**	**Séroprévalence (%) (IC 95%)**
Sahel		
Ouled Fayet	11/23	47,83 (26,99 – 68,66)
Khraicia	4/10	40 (9,02 – 70,98)
Souidania	3/10	30 (1,02 – 58,98)
Draria	17/20	85 (69,03 – 100,97)
Béni Messous	7/13	53,85 (26,19 – 81,50)
P		*0,01 (S)*
Littoral		
Cheraga	6/18	33,33 (11,11 – 55,56)
Ain Taya	3/9	33,33 (1,91 – 64,76)
Zeralda	8/19	42,11 (19,45 – 64,76)
Ain Benian	1/6	16,67 (-13,76 – 47,10)
P		*0,7 (NS)*
Mitidja		
Rouiba	5/18	27,78 (6,66 – 48,89)
Sidi Moussa	4/10	40 (9,02 – 70,98)
Reghaia	8/12	66,67 (39,45 – 93,88)
Eucalyptus	2/9	22,22 (-5,49 – 49,94)
Birtouta	5/13	38,46 (11,48 – 65,45)
Dar El Beida	6/10	60 (29,02 – 90,98)
P		*0,1 (NS)*
Total	90/200	45 (37,96 - 52,04)

S : significatif (p < 0,05) ; *NS* : non significatif (p > 0,05)

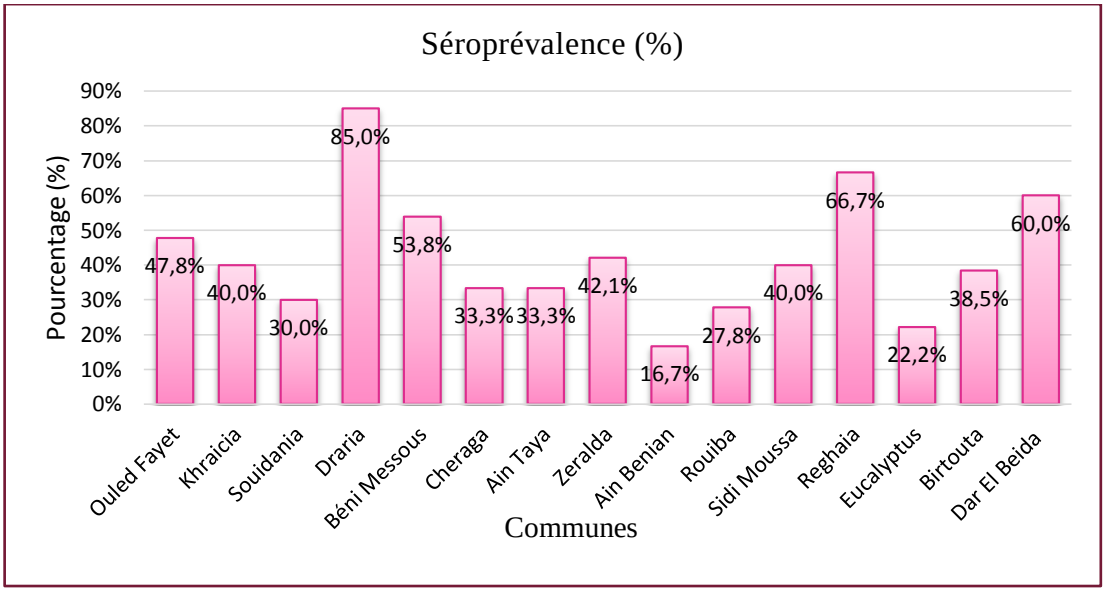


Figure 13: Distribution des bovins séropositifs vis-à-vis de *B. bovis* par commune

2. Séroprévalence vis-à-vis de *B. bigemina*

2.1 Séroprévalence globale

Au total, 64 bovins se sont révélés positifs à *B. bigemina* en IFAT à une dilution ≥ 1/80, ce qui correspond à une séroprévalence globale de 32% (IC 95% 25,4% - 38,6%).

2.2 Séroprévalence en fonction des titres en anticorps

La distribution des fréquences des titres en anticorps pour les échantillons positifs a été analysée (figure 14). Les sérums ont été testés à des dilutions allant de 1/80 à 1/400.
Les résultats ont montré que sur les 64 sérums positifs à un titre ≥ 1/80, 28 sont restés positifs à une dilution de 1/100 (soit 14%), 5 à une dilution de 1/200 (soit 2,5%) et seulement 2 sérums sont restés positifs à une dilution de 1/400 (soit 1%) (figure 14).

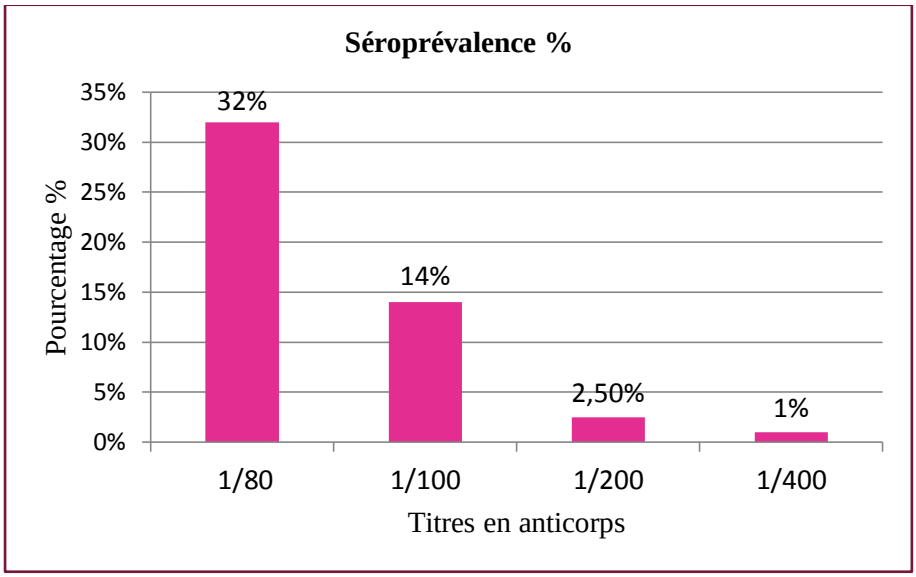


Figure 14: Variation de la séroprévalence vis-à-vis de *B.bigemina* en fonction des titres en Ac

2.3 Étude des facteurs de risque

Le tableau (10) reprend les données de l'analyse des facteurs de risque potentiels pouvant être liés à l'infection par *B. bigemina*.

L'analyse détaillée des résultats révèle ce qui suit :

- La séroprévalence vis-à-vis de *B. bigemina* n'a pas varié de façon statistiquement significative en fonction du sexe, de la race et de l'origine du bovin ($p > 0,05$).

- En revanche, la séroprévalence a augmenté significativement avec l'âge ($p < 0,05$) : les jeunes bovins de moins de 12 mois étaient les moins infectés (11,4%) que ceux de 13 à 24 mois (34,7%) ou encore de ceux de plus de 25 mois (37,1%) (figure 15 A).

- Il y'a une différence significative ($p < 0,05$) entre la séroprévalence à *B. bigemina* chez les bovins présentant des signes cliniques compatibles avec la babésiose (55%) comparés aux bovins sans aucun signe clinique évoquant une babésiose (29,4%).

- En outre, une variation très significative a été observée en fonction de l'état d'hygiène de la ferme ($p < 0,01$). En effet, les fermes dont l'hygiène est mauvaise ont été les plus exposées à l'infection, avec une séroprévalence de 47,5% contre 20,9% pour les fermes où l'hygiène était bonne (figure 15 B).

- Une différence significative a également été obtenue entre la séropositivité des bovins vis-à-vis de *B. bigemina* et la présence de tiques ($p < 0,05$). Ainsi, 50% des bovins ont été séropositifs en présence de tiques contre 28% en absence de celles-ci (figure 15 C). Leur contrôle, selon qu'il soit systématique, occasionnel ou absent, influence également sur cette séropositivité ($p < 0.05$).

- Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre la pratique du pâturage et la séroprévalence ($p>0,05$). Néanmoins, les bovins qui pâturent ont eu le taux de séroprévalence le plus élevé (32,7%) comparés à ceux qui ne pâturent pas (29,8%).

- Si on tient compte du facteur saison, on remarque qu'il existe une influence très significative sur la séroprévalence de *B. bigemina* ($p < 0.01$). Le taux de séroprévalence le plus élevé a été enregistré durant le printemps (40,7%), suivi par l'été (39%) et l'automne (33,3%). La plus faible séroprévalence a été enregistrée durant l'hiver (10%) (figure 15 D).

- Pour ce qui est de la zone prospectée, aucune différence significative n'est mise en évidence entre les trois zones étudiées : le Littoral (28,8%), la Mitidja (33,3%) et le Sahel algérois (32,9%) ($p > 0,05$). Par ailleurs, certaines communes ont été plus infectées que d'autres. Les communes de Reghaia et Sidi Moussa, situées dans la Mitidja et la commune de Beni Messous, située dans le Sahel algérois ont été les plus exposées à l'infection avec des séroprévalences de 66,67%, 50% et de 46,15% respectivement. Il convient aussi de signaler, qu'aucun cas positif n'a été enregistré dans la commune de Khraicia. Les résultats sérologiques obtenus par commune sont reportés dans le tableau (11) et la figure (16).

Tableau 10: Analyse de certains facteurs de risque potentiels susceptibles d'influencer la séroprévalence de *B. bigemina*

Variables	n	Séroprévalence (%) (IC 95%)	Valeur de *p*	Signification
Sexe				
Femelle	167	34,7 (27,4- 42,1)	0,06	***NS***
Mâle	33	18,2 (4,8 - 31,6)		
Age (mois)				
< 12	35	11,4 (0,7 – 22,2)		
13-24	49	34,7 (21,1 – 48,3)	0,01	***S***
> 25	116	37,1 (28,1 – 46)		
Race				
Européenne	74	32,4 21,5 – 43,3)		
Croisée	110	32,7 (23,8 – 41,7)	0,8	***NS***
Locale	16	25 (3,3 – 46,7)		
Origine				
Importé	55	32,7 (20,1 – 45,4)		
Natif	128	30,5 (22,3 – 38,6)	0,6	***NS***
Acheté	17	41,2 (17,3 – 65)		
État de santé				
Présence de SC	20	55 (32,8 – 77,2)	0,02	***S***
Absence de SC	180	29,4 (22,6 – 36,2)		
État d'hygiène				
Bon	43	20,9 (8,5 – 33,3)		
Moyen	98	27,6 (18,5 – 36,6)	0,007	***TS***
Mauvais	59	47,5 (34,5 – 60,5)		
Pâturage				
Oui	153	32,7 (25,1 – 40,3)	0,7	***NS***
Non	47	29,8 (16,4 – 43,1)		
Tiques				
Présence	36	50 (33,3 – 66,7)	0,01	***S***
Absence	164	28 (21 – 35,1)		
Contrôle des tiques				
Systématique	39	15,4 (3,8 – 26,9)		
Occasionnel	128	32,8 (24,5 – 41,1)	0,01	***S***
Absent	33	48,5 (31,1 – 65,9)		
Saison				
Automne	60	33,3 (21,2 – 45,5)		
Été	41	39 (23,8 – 54,3)	0,007	***TS***
Hiver	40	10 (0.5 – 19,5)		
Printemps	59	40,7 (27,9 – 53,5)		
Zone AGE				
Littoral	52	28,8 (16,3 – 41,4)		
Mitidja	72	33,3 (22,2 – 44,4)	0,8	***NS***
Sahel	76	32,9 (22,1 – 43,7)		

SC : signes cliniques ; AGE : agroécologique
TS : très significatif (p < 0.01) ; *S* : significatif (p < 0,05) ; *NS* : non significatif (p > 0,05)

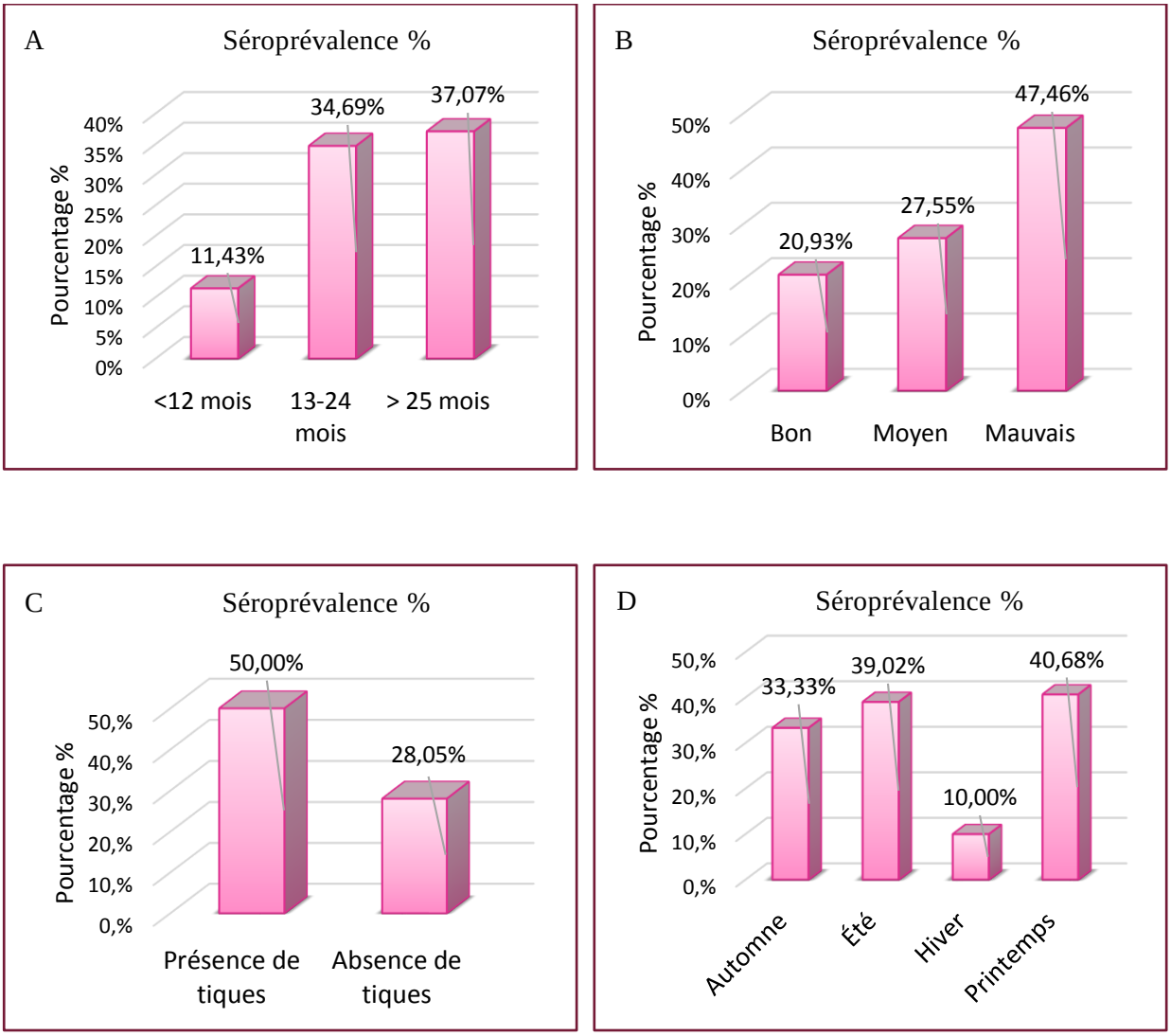


Figure 15: Séroprévalence vis-à-vis de *B. bigemina* en fonction de l'âge (A), de l'état d'hygiène de la ferme (B), de la présence ou de l'absence de tiques (C) et de la saison (D)

Tableau 11: Répartition des séroprévalences vis-à-vis de *B. bigemina* en fonction des communes

Commune	**Nombre de positifs**	**Séroprévalence (%) (IC 95%)**
Sahel		
Ouled Fayet	8/23	34,78 (14,92 – 54,64)
Khraicia	0/10	0,00 (0,00 – 0,00)
Souidania	3/10	30,00 (1,02 – 58,98)
Draria	8/20	40,00 (18 ,09 – 61,91)
Béni Messous	6/13	46,15 (18,50 – 73,81)
P		*0,1 (NS)*
Littoral		
Cheraga	5/18	27,78 (6,66 – 48,89)
Ain Taya	4/9	44,44 (11,32 – 77,57)
Zeralda	3/19	15,79 (-0,94 – 32,52)
Ain Benian	3/6	50,00 (9,18 – 90,82)
P		*0,2 (NS)*
Mitidja		
Rouiba	4/18	22,22 (2,62 – 41,82)
Sidi Moussa	5/10	50,00 (18,38 – 81,62)
Reghaia	8/12	66,67 (39,45 – 93,88)
Eucalyptus	4/9	44,44 (11,32 – 77,57)
Birtouta	2/13	15,38 (-4,63 – 35,40)
Dar El Beida	1/10	10,00 (-8,97 – 28, 97)
P		*0,2 (NS)*
Total	64/200	32 (25,4% - 38,6)

NS : non significatif (p > 0,05)

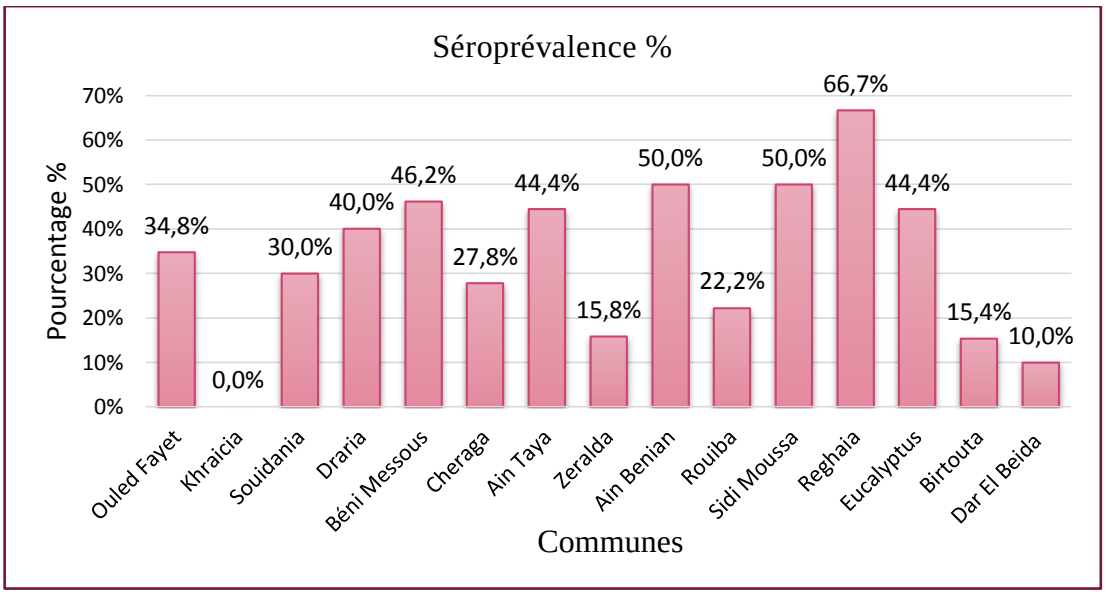


Figure 16: Distribution des bovins séropositifs vis-à-vis de *B. bigemina* par commune

3. Séroprévalence vis-à-vis d'*A. marginale*

3.1 Séroprévalence globale

Sur les 200 sérums bovins testés en cELISA, 87 étaient positifs vis-à-vis d*'A. marginale*, ce qui correspond à une séroprévalence globale de 43,5% (IC 95% 35,76% – 51,24%).

3.2 Séroprévalence en fonction des titres en anticorps

Les résultats ont été regroupés en 4 classes en fonction du pourcentage d'inhibition : en sérums faiblement positifs (> 30-50%), moyennement positifs (50-70%), fortement positifs (70-90%) et très fortement positifs (< 90%), voir tableau ci-après.

Tableau 12: Répartition des bovins séropositifs en fonction de leurs titres en Ac

% d'inhibition	Nombre de positifs	Séroprévalence (%)	IC (95%)
> 30-50 %	25	12,5	7,82 – 17,18
> 50-70 %	17	8,5	4,56 - 12,44
> 70-90 %	22	11	6,58 - 15,42
< 90 %	23	11,5	6,99 - 16,01
Total	87	43,5	35,76 – 51,24

3.3 Étude des facteurs de risque

Le tableau (13) présente l'association entre la présence des anticorps anti-*A. marginale* et les différents facteurs de risque potentiels considérés.

Le tableau (13) fait ressortir ce qui suit :

- Le sexe de l'animal n'a pas significativement influencé la séroprévalence d'*A. marginale* (p>0,05). En effet, les deux sexes semblent être infectés de façon identique.

- Par contre, nous avons remarqué que le taux de séropositivité augmentait significativement avec l'âge (p < 0,01). La séroprévalence s'est montrée nettement supérieure chez les animaux adultes. Elle a été de 51,72% chez les bovins âgés de plus de 25 mois et de 36,73% chez les animaux avec une tranche d'âge comprise entre 13 et 24 mois, contre 25,71% chez les jeunes animaux âgés de moins de 12 mois (figure 17 A).

- La séroprévalence a également varié en fonction des races considérées ($p < 0,05$). La race locale est la plus infectée (62,25%), suivie par les races croisées (49,09%). Les races européennes étaient les moins infectées (31,08%) (figure 17 B).

- La séroprévalence d'*A. marginale* a varié de façon significative ($p < 0,05$) en fonction de l'origine du bovin. Ainsi, les bovins nés à la ferme ou achetés (60,16% et 58,82% respectivement) semblent être les plus infectés que ceux issus de l'importation (36,36%) (figure 17 C).

- Si on analyse les bovins selon leur état de santé, on ne constate pas de différence significative ($p > 0,05$) entre la séropositivité vis-à-vis d*'A. marginale* chez les bovins présentant des signes cliniques pouvant être associés à l'anaplasmose bovine (45%) par rapport aux bovins sans aucun signe clinique évoquant une anaplasmose (43,3%).

- Pour le facteur état d'hygiène de la ferme, on a constaté que plus l'état d'hygiène de la ferme est bon plus le risque d'être séropositif diminue ($p < 0,01$). Par conséquent, les fermes dont l'hygiène est mauvaise ont relevé le taux de séropositivité le plus élevé (61,02%) (figure 17 D).

- Contrairement à *B. bovis* et *B. bigemina*, la pratique du pâturage semble influencer significativement la séroprévalence d'*A. marginale* ($p < 0,01$). Les bovins qui pâturent ont présenté une séroprévalence de 49,67% contre 23,40% chez les animaux qui ne pâturent pas.

- Une différence très significative a été obtenue en fonction de la présence ou de l'absence de tiques ($p < 0,01$). En effet, 69,44% des bovins se sont montrés séropositifs en présence de tiques, alors que les animaux dépourvus de tique le sont à 42,68% (figure 17 E). La lutte contre les tiques selon qu'elle soit appliquée systématiquement, occasionnellement ou jamais a influencé également cette séropositivité ($p < 0,05$).

- Il s'avère aussi que, la saison influence significativement la séroprévalence d'*A. marginale* ($p<0,01$). La comparaison entres les 4 saisons montre des taux de séroprévalence qui sont, selon un ordre de fréquence décroissant, de 58,54%, 56,67%, 37,5% et de 23,73% respectivement pour l'été, l'automne, l'hiver et le printemps. La distribution saisonnière des taux de séroprévalence est illustrée dans la figure (17 F).

- Enfin, aucune différence significative ($p > 0,05$) entre les trois zones étudiées n'a été observée : le Littoral (42,31%), la Mitidja (44,44%) et le Sahel algérois (43,42%). Par contre,

si on considère la séroprévalence en fonction des communes investiguées, on note qu'il y a des communes plus exposées que d'autres ($p < 0.01$). Citons l'exemple de la commune de Dar El Beida située dans la Mitidja, la commune de Zeralda dans le Littoral algérois et celle d'Ouled Fayet située dans le Sahel algérois qui ont présenté les taux les plus élevés de l'infection (90%, 78,95% et 73,91% respectivement).

Les résultats sérologiques par commune sont reportés dans le tableau (14) et la figure (18).

Tableau 13: Analyse de certains facteurs de risque potentiels susceptibles d'influencer la séroprévalence d'*A. marginale*

Variables	n	Séroprévalence (%) (IC 95%)	Valeur de *P*	Signification
Sexe				
Femelle	167	45,51 (37,80 – 53,22)	0,19	*NS*
Mâle	33	33,33 (16,92 – 49,75)		
Age (mois)				
< 12	35	25,71 (10,94 – 40,49)		
13-24	49	36,73 (22,96 – 50,51)	0,013	*S*
> 25	116	51,72 (42,44 – 61,00)		
Race				
Européenne	74	31,08 (20,32 – 41,84)		
Croisée	110	49,09 (39,56 – 58,62)	0,015	*S*
Locale	16	62,50 (38,29 – 86,71)		
Origine				
Importé	55	36,36 (23,39 – 49,34)		
Natif	128	60,16 (51,50 – 68,81)	0,011	*S*
Acheté	17	58,82 (34,95 – 82,70)		
État de santé				
Présence de SC	20	45 (22,8– 67,2)	0,8	*NS*
Absence de SC	180	43,3 (35,9 – 50,7)		
État d'hygiène				
Bon	43	34,88 (20,35 – 49,42)		
Moyen	98	36,73 (27,00 – 46,47)	0,005	*TS*
Mauvais	59	61,02 (48,32 – 73,72)		
Pâturage				
Oui	153	49,67 (41,59 – 57,76)	0,0015	*NS*
Non	47	23,40 (11,05 – 35,76)		
Tiques				
Présence	36	69,44 (54,09 – 84,80)	0,0005	*TS*
Absence	164	37,80 (30,23 – 45,38)		
Contrôle des tiques				
Systématique	39	30,77 (15,99 – 45,55)		
Occasionnel	128	51,56 (42,73 – 60,40)	0,008	*S*
Absent	33	27,27 (11,77 – 42,78)		
Saison				
Automne	60	56,67 (43,87 – 69,46)		
Été	41	58,54 (43,15 – 73,92)	0,0004	*TS*
Hiver	40	37,50 (22,19 – 52,81)		
Printemps	59	23,73 (12,65 – 34,81)		
Zone AGE				
Littoral	52	42,31 (28,61 – 56,01)		
Mitidja	72	44,44 (32,73 – 56,16)	0,9	*NS*
Sahel	76	43,42 (32,05 – 54,79)		

SC : signes cliniques ; AGE : agroécologique
TS : très significatif (p < 0.01) ; *S* : significatif (p < 0,05) ; *NS* : non significatif (p > 0,05)

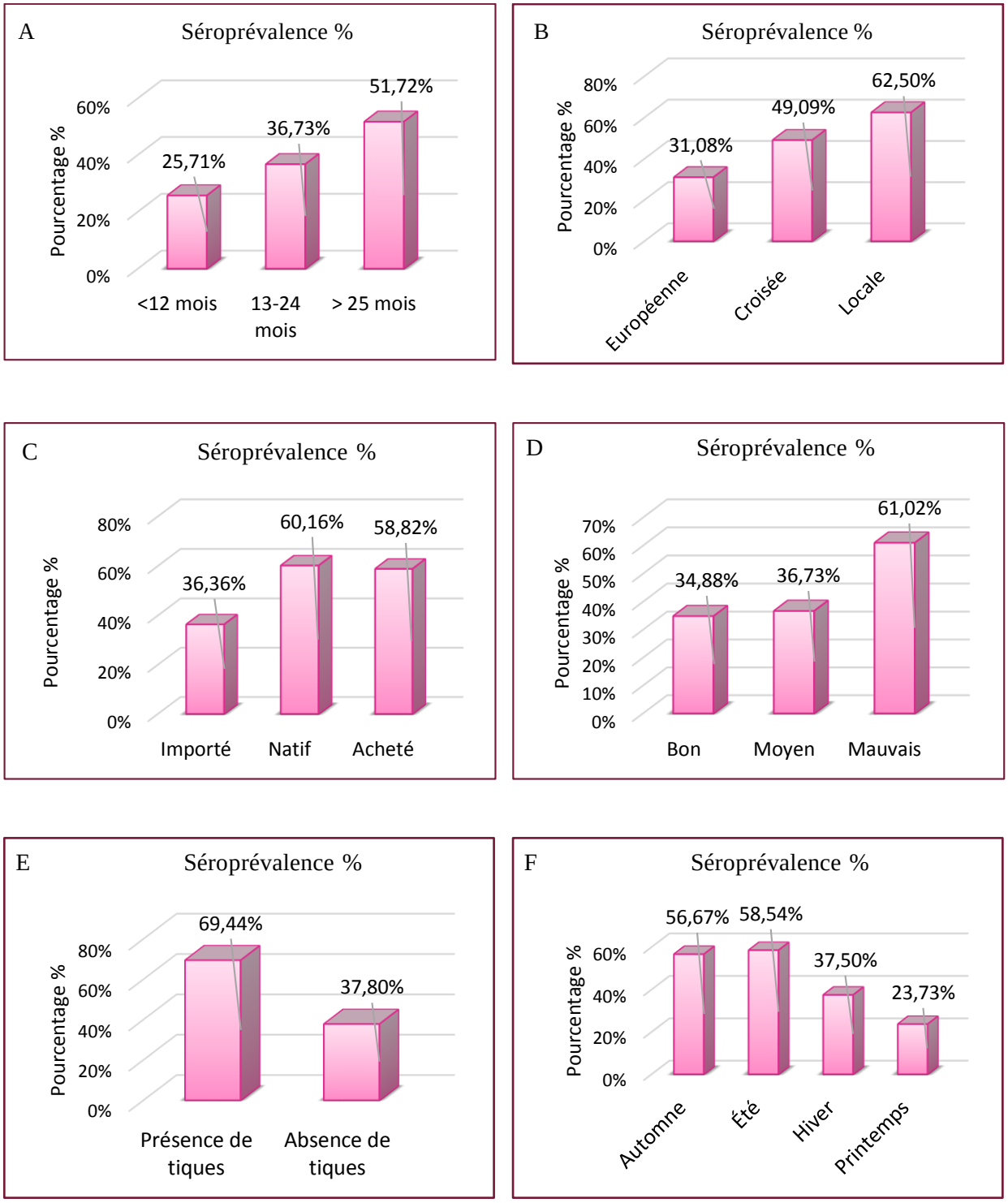


Figure 17: Variation de la séroprévalence d'*A. marginale* en fonction de l'âge (A), de la race (B), de l'origine du bovin (C), de l'état d'hygiène de la ferme (D), de la présence ou de l'absence de tiques (E) et de la saison (F)

Tableau 14: Répartition des séroprévalences *d'A. marginale* en fonction des communes

Commune	**Nombre de positifs**	**Séroprévalence (%) (IC 95%)**
Sahel		
Ouled Fayet	17/23	73,91 (55,60 – 92,23)
Khraicia	1/10	10,00 (-8,97 – 28,97)
Souidania	2/10	20,00 (-5,30 – 45,30)
Draria	8/20	40,00 (18 ,09 – 61,91)
Béni Messous	5/13	38,46 (11,48 – 65,45)
P		*0,003 (TS)*
Littoral		
Cheraga	3/18	16,67 (-0,90 – 34,23)
Ain Taya	1/9	11,11 (-9,84 – 32,06)
Zeralda	15/19	78,95 (60,24 – 97,65)
Ain Benian	3/6	50,00 (9,18 – 90,82)
P		*0,0001 (TS)*
Mitidja		
Rouiba	3/18	16,67 (-0,90 – 34,23)
Sidi Moussa	4/10	40,00 (9,02 – 70,98)
Reghaia	6/12	50,00 (21,13 – 78,87)
Eucalyptus	6/9	66,67 (35,24 – 98,09)
Birtouta	4/13	30,77 (5,17 – 56,37)
Dar El Beida	9/10	90,00 (71,03 – 108, 97)
P		*0,003 (TS)*
Total	87/200	43,5 (35,76 – 51,24)

TS : très significatif ($p < 0.01$)

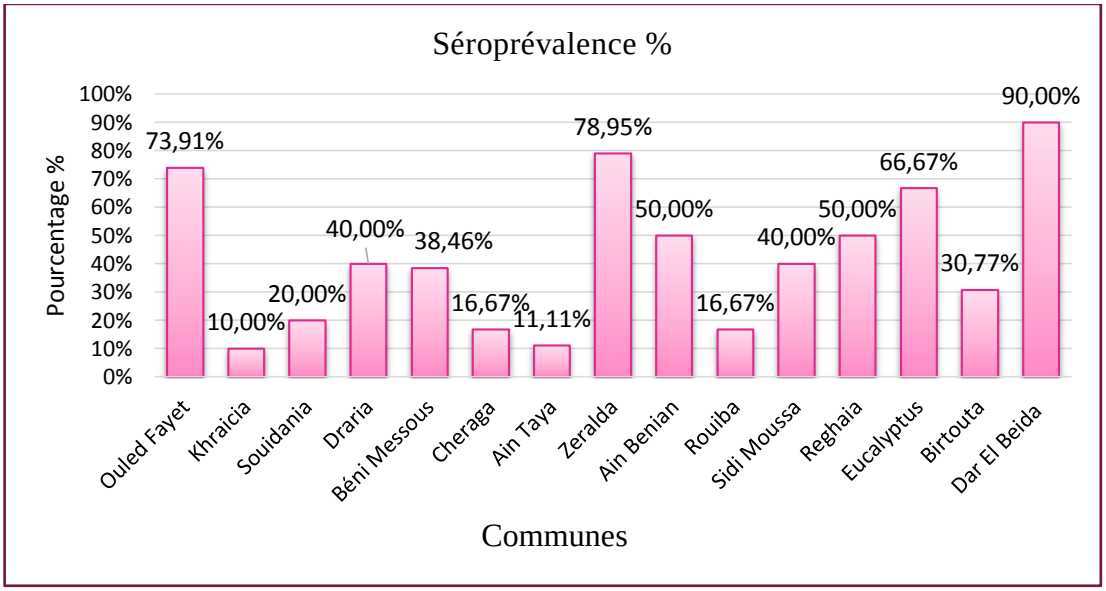


Figure 18: Distribution des bovins séropositifs vis-à-vis d'*A. marginale* par commune

4. Séroprévalence vis-à-vis d'*A. phagocytophilum*

4.1 Séroprévalence globale

Sur les 200 bovins examinés, 39 se sont montrés positifs en IFAT à un titre ≥ 1/50 vis-à-vis d'*A. phagocytophilum*, correspondant à une séroprévalence globale de 19,5% (IC 95% 13,90% - 25,10%).

4.2 Séroprévalence en fonction des titres en anticorps

Après dilution à 1/100, seuls 3 sérums se sont avérés positifs, ce qui correspond à une séroprévalence de 1,5% (IC 95% -0,22% - 3,22%) (figure 19).

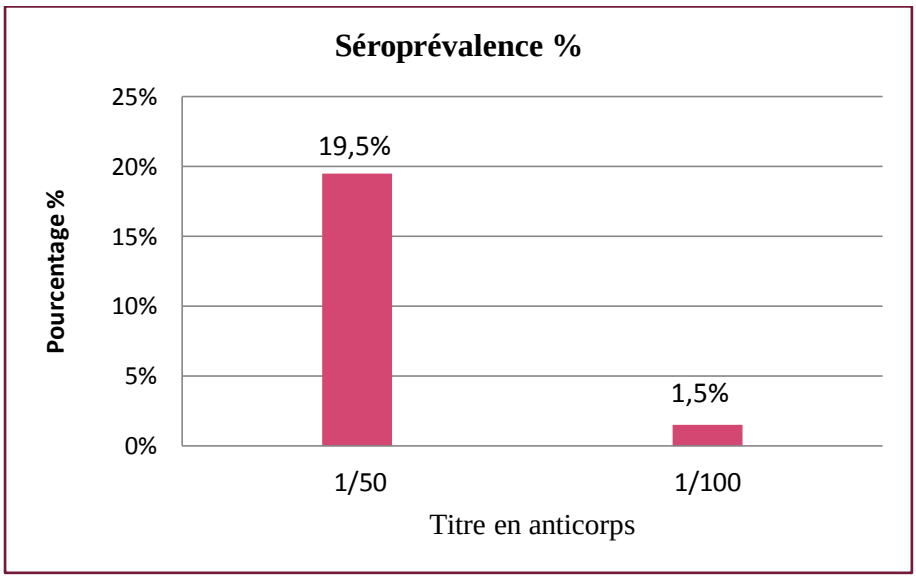


Figure 19: Variation de la séroprévalence d'*A. phagocytophilum* en fonction des titres en Ac

4.3 Étude des facteurs de risque

L'analyse des différents facteurs de risque pouvant influencer positivement ou négativement la séroprévalence d'*A. phagocytophilum* est résumée dans le tableau (15).

- Globalement, il s'est avéré que le sexe, la race, l'état de santé des bovins, l'état d'hygiène de la ferme, la présence ou l'absence de tiques ou encore leur contrôle n'ont pas d'influence significative sur la séropositivité vis-à-vis d'*A. phagocytophilum* ($p > 0,05$).

- En revanche, il existe une association significative entre la présence des anticorps anti-*A. phagocytophilum* et les trois classes d'âges pris en compte $p < 0,05$). Les bovins dont l'âge est supérieur à 25 mois semblent les plus exposés (25%) comparés à ceux dont l'âge est compris entre 13 et 24 mois (16,33%) et à ceux de moins de 12 mois (5,71%) (figure 20 A).

- L'origine du bovin influe également cette séroprévalence ($p < 0.05$). En effet, les bovins importés ont été les plus infectés (30,71%) comparés à ceux nés dans l'exploitation (15,63%). Les bovins achetés ont été les moins infectés (11,76%) (figure 20 B).

- Comme il a été déjà constaté pour *A. marginale,* la pratique du pâturage semble influencer la séroprévalence d'*A. phagocytophilum* ($p < 0,01$), mais pas dans le même sens. En effet, pour *A. phagocytophilum* les bovins qui pâturent ont présenté le taux de séroprévalence le plus faible (14,38%) comparés à ceux qui restent en stabulation permanente (36,17%) (figure 20 C).

- Si on considère le facteur saison, on remarque qu'il existe une relation significative entre la saison et la séroprévalence ($p < 0,01$). Le taux de l'infection varie de 32,5 % en hiver, 23,73% en printemps, 15% en automne. En été, il n'a été que de 7,32% (figure 20 D).

- Enfin, aucune différence significative n'a été constatée entre les trois zones étudiées : le Littoral (13,46%), la Mitidja (20,83%) et le Sahel algérois (22,37%) ($p > 0,05$). Par ailleurs, certaines communes ont été plus infectées que d'autres. En effet, la commune de Ain Taya, située dans le Littoral, celle de Rouiba, située dans la Mitidja et celles de Khraicia et de Souidania, situées dans le Sahel algérois, ont eu les taux les plus élevés (44,44%, 44,44%, 40% et de 40% respectivement). Il est à noter que la commune de Zeralda a été complétement indemne de l'infection par *A. phagocytophilum*.

Les résultats sérologiques obtenus par commune sont présentés dans le tableau (16) et la figure (21).

Tableau 15: Analyse de certains facteurs de risque potentiels susceptibles d'influencer la séroprévalence d'*A. phagocytophilum*

Variables	n	Séroprévalence (%) (IC 95%)	Valeur de *P*	Signification
Sexe				
Femelle	167	20,36 (14,13 – 26,59)	0,4	***NS***
Mâle	33	15,15 (2,67 – 27,63)		
Age (mois)				
< 12	35	5,71 (-2,13 – 13,56)		
13-24	49	16,33 (5,77 – 26,89)	0,03	***S***
> 25	116	25,00 (16,96 – 33,04)		
Race				
Européenne	74	22,97 (13,19 – 32,75)		
Croisée	110	19,09 (11,60 – 26,59)	0,3	***NS***
Locale	16	6,25 (-5,85 – 18,35)		
Origine				
Importé	55	30,91 (18,45 – 43,37)		
Natif	128	15,63 (9,21 – 22,04)	0,04	***S***
Acheté	17	11,76 (-3,86 – 27,39)		
État de santé				
Présence de SC	20	25 (5,6 – 44,4)	0,5	***NS***
Absence de SC	180	18,9 (13,1 – 24,7)		
État d'hygiène				
Bon	43	16,28 (5,02 – 27,54)		
Moyen	98	25,51 (16,70 – 34,32)	0,06	***NS***
Mauvais	59	21,21 (6,98 – 35,45)		
Pâturage				
Oui	153	14,38 (8,71 – 20,05)	0,001	***TS***
Non	47	36,17 (22,15 – 50,19)		
Tiques				
Présence	36	11,11 (0,64 – 21,59)	0,1	***NS***
Absence	164	21,34 (14,94 – 27,74)		
Contrôle des tiques				
Systématique	39	25,64 (11,66 – 39,63)		
Occasionnel	128	17,97 (11,18 – 24,76)	0,5	***NS***
Absent	33	18,18 (4,75 – 31,61)		
Saison				
Automne	60	15,00 (5,78 – 24,22)		
Été	41	7,32 (-0,82 – 15,45)	0,02	***S***
Hiver	40	32,50 (17,69 – 47,31)		
Printemps	59	23,73 (12,65 – 34,81)		
Zone AGE				
Littoral	52	13,46 (4,00 – 22,93)		
Mitidja	72	20,83 (11,26 – 30,41)	0,4	***NS***
Sahel	76	22,37 (12,81 – 31,93)		

SC : signes cliniques ; AGE : agroécologique
TS : très significatif (p < 0,01) ; *S* : significatif (p < 0,05) ; *NS* : non significatif (p > 0,05)

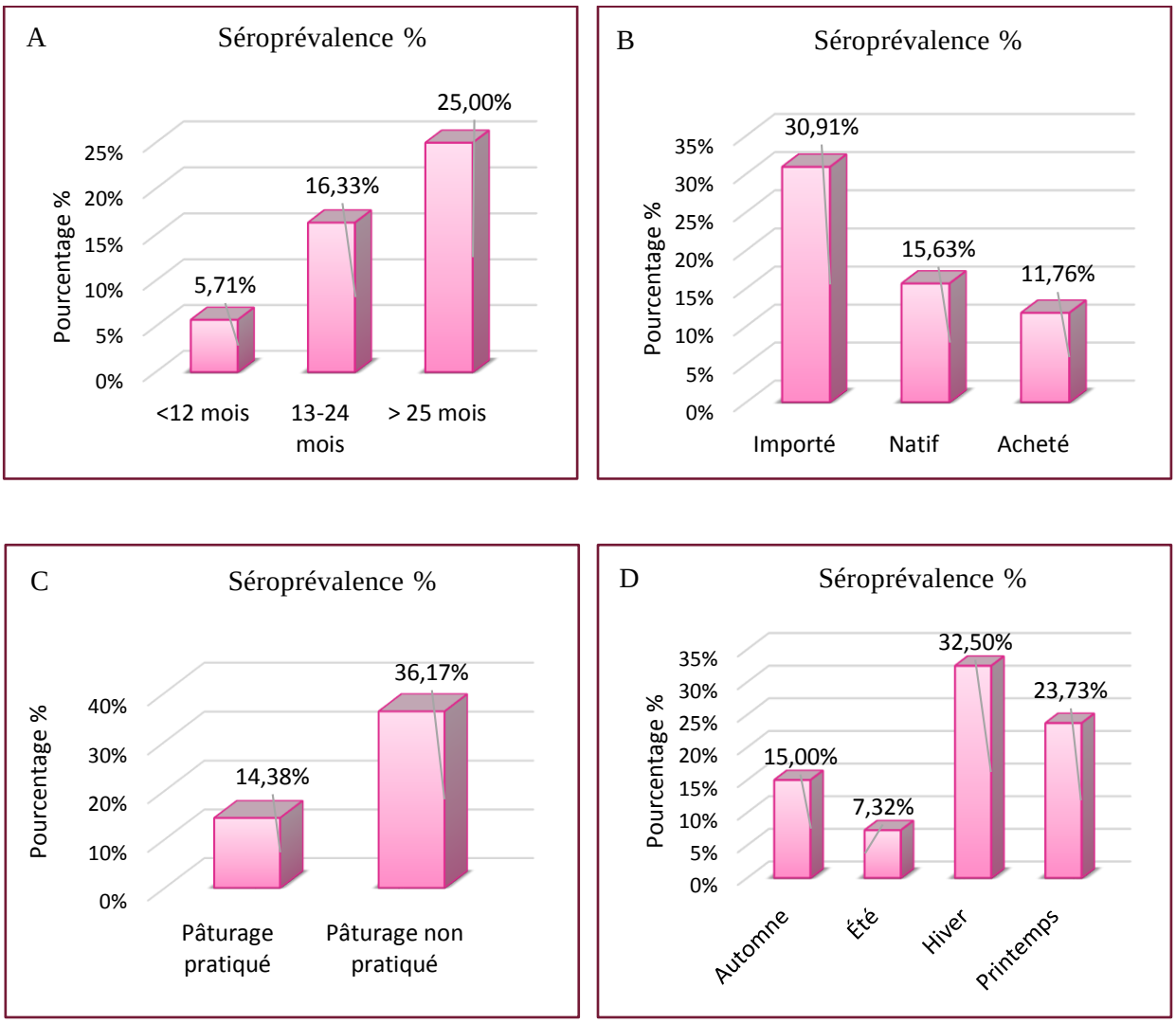


Figure 20: Variation de la séroprévalence d'*A. phagocytophilum* en fonction de l'âge (A), de l'origine du bovin (B), de la pratique ou non du pâturage (C) et de la saison (D)

Tableau 16: Séroprévalences *d'A. phagocytophilum* en fonction des communes

Commune	**Nombre de positifs**	**Séroprévalence (%) (IC95%)**
Sahel		
Ouled Fayet	2/23	8,70 (-3,06 – 20,45)
Khraicia	4/10	40,00 (9,02 – 70,98)
Souidania	4/10	40,00 (9,02 – 70,98)
Draria	5/20	25,00 (5,64 – 44,36)
Béni Messous	2/13	15,38 (-4,63 – 35,40)
P		*0,1 (NS)*
Littoral		
Cheraga	2/18	11,11 (-3,70 – 25,93)
Ain Taya	4/9	44,44 (11,32 – 77,57)
Zeralda	0/19	0,00 (0,00 – 0 ,00)
Ain Benian	1/6	16,76 (-13,76 – 47,10)
P		*0,008 (TS)*
Mitidja		
Rouiba	8/18	44,44 (21,02 – 67,87)
Sidi Moussa	1/10	10,00 (-8,97 – 28,97)
Reghaia	1/12	8,33 (-7,62 – 24,29)
Eucalyptus	2/9	22,22 (-5,49 – 49,94)
Birtouta	1/13	7,69 (-7,09 – 22,47)
Dar El Beida	2/10	20,00 (-5,30 – 45,30)
P		*0,1 (NS)*
Total	87/200	43,5 (35,76 – 51,24)

TS : très significatif (p < 0.01) ; *NS* : non significatif (p > 0,05)

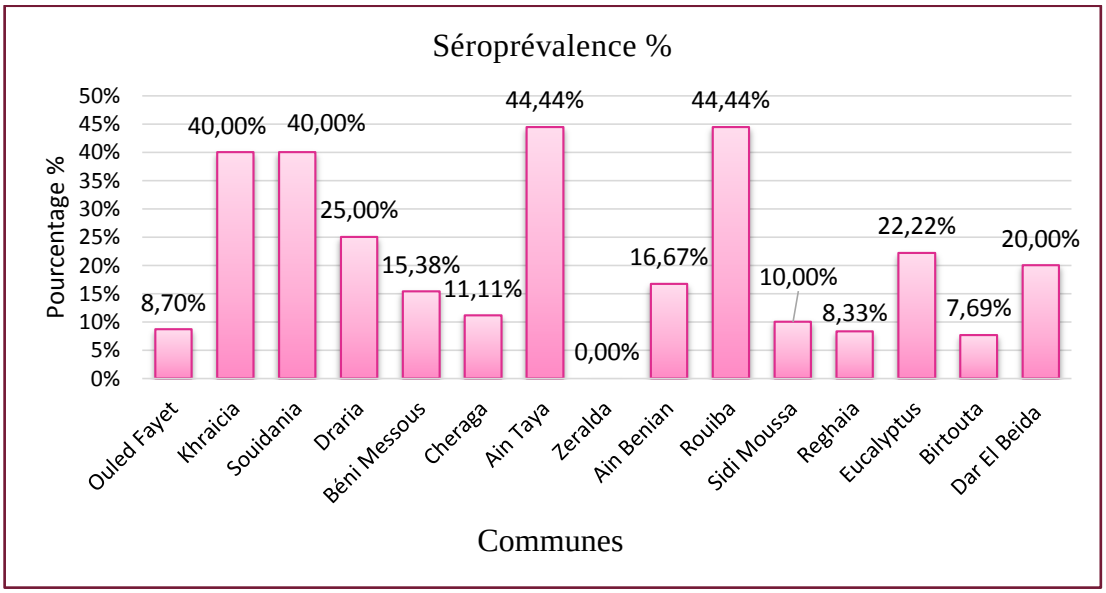


Figure 21: Distribution des bovins séropositifs d'*A. phagocytophilum* par commune

III. 3.3 Étude de la séroprévalence des co-infections et analyse des facteurs de risque potentiellement associés

1. Séroprévalence globale

Des co-infections par les 4 agents pathogènes ont été retrouvées chez un total de 92 bovins sur les 200 analysés, ce qui correspond à une séroprévalence globale de 46% (IC 95% 38,95% – 53,04%). Celles-ci associent le plus souvent 2 agents pathogènes (co-infection double) (32%). La co-infection double la plus fréquemment rencontrée est *B. bovis-A. marginale* avec un taux de 15,5%. Des co-infections triples ont également été relevées avec un taux de 13%. L'association triple la plus fréquente combinait *B. bovis-B. bigemina-A. marginale* avec un taux de 7%. Enfin, seuls 2 bovins étaient co-infectés par les 4 hémopathogènes retrouvés, soit un taux de co-infection de 1%.

Il est important d'indiquer que sur les 200 animaux analysés, 66 bovins ont présenté une mono-infection, ce qui représente un taux de 33%. La séroprévalence d'*A. marginale* était la plus élevée (11,5%) (IC 95% 6,99% - 16,01%), suivie par celle d'*A. phagocytophilum* avec 9% (IC 95% 4,95% - 13,05%), *B. bovis* 8,5% (IC 95% 4,56% - 12,44%) et *B. bigemina* 4% (IC 95% 1,23% - 6,77%).

Parmi les bovins analysés, 42 bovins (21%) ont été complètement indemnes d'une infection liée à l'un ou l'autre des 4 agents infectieux recherchés.

Les résultats des co-infections et mono-infections sont illustrés dans la figure (22) et le tableau (17).

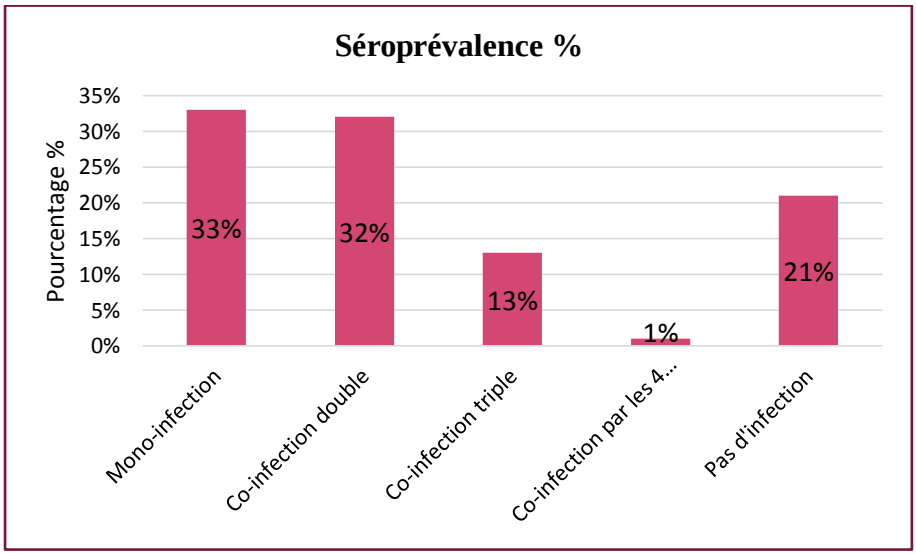


Figure 22: Fréquence des co-infections et mono-infections relevée chez les bovins

Tableau 17: Séroprévalence des co-infections et mono-infections par les 4 hémopathogènes étudiés

Agents pathogènes	**Mono-infections**	**Co-infections**		**Total**
		Doubles	**Multiples**	
Total	66 (33 %)	64 (32 %)	28 (14 %)	**158 (79 %)**
		B. bovis/B. bigemina : 12 (6 %)	*B. bovis/B. bigemina/ A. marginale* : 14 (7%)	
		B. bovis/A. marginale : 31 (15,5 %)	*B. bovis/B. bigemina/ A. phagocytophilum:* 10 (5%)	
		B. bovis/A.phagocytophilum : 4 (2 %)	*B. bovis/A. marginale/ A. phagocytophilum*: 0 (0%)	
		B. bigemina/A. marginale : 14 (7 %)	*B. bigemina/ A. marginale/ A. phagocytophilum*: 2 (1 %)	
		B. bigemina/A. phagocytophilum: 2 (1 %)	*B. bovis/ B. bigemina/ A. marginale/ A. phagocytophilum*: 2 (1 %)	
		A. marginale/A. phagocytophilum: 1 (0,5%)		
B. bovis	17 (8,5%)	47 (23,5 %)	26 (13 %)	90 (45%)
B. bigemina	8 (4 %)	28 (14 %)	28 (14 %)	64 (32%)
A. marginale	23(11,5%)	46 (23 %)	18 (9 %)	87 (43,5%)
A.phagocytophilum	18 (9 %)	7 (3,5 %)	14 (7 %)	39 (19,5%)
Pas d'infection	–	–	–	**42 (21%)**

2. Étude des facteurs de risque

L'étude de l'influence de certains facteurs de risque potentiels, sur la probabilité de présenter des co-infections doubles voire multiples (associant 3 ou 4 agents pathogènes), est reprise dans les tableaux (18) et (19) respectivement.

- Les co-infections doubles

L'analyse détaillée des résultats montre que le taux de co-infection associant *B. bovis-A. marginale* semble varier significativement en fonction de la race, de l'origine du bovin, de la pratique de pâturage, de la présence ou de l'absence de tiques et de leur contrôle ainsi qu'en fonction de la saison ($p < 0,05$) (voir figure 23).

Le taux de co-infection associant *B. bigemina-A. marginale* a également varié de façon significative en fonction de l'état d'hygiène de la ferme et de la saison ($p < 0,05$) (voir figure 24).

La co-infection associant *B. bigemina-A. phagocytophilum* a varié uniquement en fonction de l'origine du bovin ($p < 0,05$) (voir figure 25).

Enfin, les co-infections associant *B. bovis-B. bigemina*, *B. bovis-A. phagocytophilum* et *A. marginale-A. phagocytophilum* ne semblent pas être influencées par aucun des facteurs analysés ($p > 0,05$).

- Les co-infections multiples

Globalement, il y a un lien significatif ($p < 0,05$) entre le taux de co-infection associant *B. bovis-B. bigemina-A. marginale* et la pratique du pâturage ainsi qu'en fonction de la présence ou l'absence de tiques (voir figure 26).

Il y a également une variation significative entre le taux de co-infection associant *B. bovis-B. bigemina- A. phagocytophilum* et la pratique du pâturage ainsi que la saison ($p < 0,05$) (voir figure 27).

En revanche, aucune différence significative n'est constatée pour les co-infections associant *B. bigemina-A. marginale-A. phagocytophilum* et *B. bovis-B. bigemina-A. marginale-A. phagocytophilum* en fonction des différents facteurs de risque étudiés ($p > 0,05$).

Tableau 18: Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une co-infection double

Agents pathogènes	**Infections doubles**											
	BB-BBi		BB-AM		BB-APh		BBi-AM		BBi-APh		AM-APh	
S %	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%
Variables	6	2,64-9,39	15,5	10,38-20,62	2	0,02-3,98	7	3,39-10,61	1	-0,41-2,41	0,5	-0,5-1,5
Sexe												
Femelle (n=167)	5,99	2,32 - 9,66	16,17	10,47-21,87	1,80	-0,26-3,85	7,19	3,19-11,18	1,20	-0,49-2,88	0,60	-0,60-1,79
Mâle (n=33)	6,06	-2,2-14,37	12,12	0,76-23,48	3,03	-2,94-9,00	6,06	-2,25-14,37	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
P	*1 (NS)*		*0,7 (NS)*		*0,5 (NS)*		*1 (NS)*		*1 (NS)*		*1 (NS)*	
Age (mois)												
< 12 (n=35)	0,00	0,00 - 0,00	8,57	-0,89-18,04	0,00	0,00-0,00	8,57	-0,89-18,04	2,86	-2,77-8,49	0,00	0,00-0,00
13-24 (n=49)	6,12	-0,7-12,97	8,16	0,34-15,99	4,08	-1,57-9,73	10,2	1,56-18,85	2,04	-2,00-6,08	0,00	0,00-0,00
> 25 (n=116)	7,76	2,79 -12,7	20,69	13,17-28,21	1,72	-0,69-4,14	5,17	1,06-9,28	0,00	0,00-0,00	0,86	-0,85-2,58
P	*0,2 (NS)*		*0,07 (NS)*		*0,4 (NS)*		*0,3 (NS)*		*0,1 (NS)*		*1 (NS)*	
Race												
Européenne (n=74)	9,46	2,66-16,26	4,05	-0,53-8,64	1,35	-1,33-4,04	5,41	0,15-10,66	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
Croisée (n=110)	3,64	0,07-7,21	21,82	13,94-29,69	2,73	-0,38-5,83	8,18	2,96-13,41	1,82	-0,73-4,37	0,91	-0,90-2,72
Locale (n=16)	6,25	-5,8-18,35	25,00	3,35-46,65	0,00	0,00-0,00	6,25	-5,85-18,35	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
P	*0,2 (NS)*		*0,0008 (TS)*		*0,7 (NS)*		*0,8 (NS)*		*0,5 (NS)*		*0,9 (NS)*	
Origine												
Importée (n=55)	9,09	1,34-16,84	3,64	-1,41 - 8,68	1,82	-1,78-5,42	5,45	-0,67-11,58	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
Natives (n=128)	4,69	0,95-8,42	20,31	13,20 -27,42	2,34	-0,33-5,02	7,03	2,51-11,55	0,00	0,00-0,00	0,78	-0,78-2,34
Achetée (n=17)	5,88	-5,53-17,3	17,65	-0,84 -36,14	0,00	0,00-0,00	11,7	-3,86-27,39	11,76	-3,86-27,39	0,00	0,00-0,00
P	*0,4 (NS)*		*0,007 (TS)*		*0,9 (NS)*		*0,6 (NS)*		*0,006 (TS)*		*1 (NS)*	
État de santé												
Présence SC (n=20)	10	-3,40-23,4	20	2,10-37,90	0	0,00-0,00	0	0,00-0,00	5	-4,7-14,70	0	0,00-0,00
Absence SC (n=180)	5,6	2,10-9,00	15	9,70-20,30	2,2	0,00-4,40	7,8	3,80-11,80	0,6	-0,6-1,70	0,6	-0,6-1,70
P	*0,3 (NS)*		*0,5 (NS)*		*1 (NS)*		*0,3 (NS)*		*0,9 (NS)*		*1 (NS)*	

BB *: B. bovis;* BBi*: B. bigemina ;*
AM *: A. marginale;* APh: *A. phagocytophilum*

S: séroprévalence ; SC : signes cliniques
TS : très significatif ; *NS* : non significatif

Tableau 18 (suite): Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une co-infection double

Agents pathogènes	**Infections doubles**											
	BB-BBi		BB-AM		BB-APh		BBi-AM		BBi-APh		AM-APh	
Variables	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%
Etat d'hygiène												
Bon (n=43)	4,65	-1,77-11,07	4,65	-1,77-11,07	0,00	0,00-0,00	4,65	-1,77-11,07	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
Moyen (n=98)	6,12	1,28-10,97	12,24	5,62-18,87	3,06	-0,42-6,54	3,06	-0,42-6,54	2,04	-0,82-4,90	1,02	-1,01-3,05
Mauvais (n=59)	6,78	0,23-13,33	28,81	17,02-40,61	1,69	-1,67-5,06	15,25	5,89-24,62	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
P	*1 (NS)*		*0,2 (NS)*		*0,8 (NS)*		*0,01 (S)*		*0,7 (NS)*		*1 (NS)*	
Pâturage												
Oui (n=153)	6,54	2,54-10,53	18,95	12,62-25,29	1,96	-0,28-4,20	8,50	3,99-13,01	1,31	-0,53-3,14	0,65	-0,65-1,96
Non (n=47)	4,26	-1,63-10,14	4,26	-1,63-10,14	2,13	-2,08-6,34	2,13	-2,08-6,34	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
P	*0,7 (NS)*		*0,01 (S)*		*1 (NS)*		*0,1 (NS)*		*1 (NS)*		*1 (NS)*	
Tiques												
Présence (n=36)	5,56	-2,08-13,19	36,11	20,10-52,12	2,78	-2,70-8,26	13,89	2,36-25,42	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
Absence (n=164)	6,10	2,36-9,83	10,98	6,09-15,86	1,83	-0,26-3,92	5,17	1,81-8,53	1,22	-0,49-2,93	0,61	-0,61-1,83
P	*1 (NS)*		*0,0005 (TS)*		*0,5 (NS)*		*0,06 (NS)*		*1 (NS)*		*1 (NS)*	
Contrôle des tiques												
Systématique (n=39)	5,13	-1,94-12,19	2,56	-2,50 -7,63	0,00	0,00-0,00	2,56	-2,50-7,63	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
Occasionnel (n=128)	5,47	1,45-9,49	21,09	13,88-28,31	2,34	-0,33-5,02	7,03	2,51-11,55	1,56	-0,63-3,75	0,78	-0,78-2,34
Absent (n=33)	9,09	-0,92-19,10	9,09	-0,92-19,10	3,03	-2,94-9,00	12,12	0,76-23,48	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
P	*0,5 (NS)*		*0,007 (TS)*		*0,7 (NS)*		*0,3 (NS)*		*1 (NS)*		*1 (NS)*	
Saison												
Automne (n=60)	3,33	-1,30-7,97	13,33	4,56-22,11	1,67	-1,64-4,97	13,33	4,56-22,11	1,67	-1,64-4,97	0,00	0,00-0,00
Été (n=41)	9,76	0,49-19,02	34,15	19,33-48,96	0,00	0,00-0,00	9,76	0,49-19,02	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
Hiver (n=40)	0,00	0,00-0,00	17,50	5,48-29,52	2,50	-2,44-7,44	0,00	0,00-0,00	2,50	-2,44-7,44	2,50	-2,44-7,44
Printemps (n=59)	10,2	2,30-18,04	3,39	-1,32-8,10	3,39	-1,32-8,10	3,39	-1,32-8,10	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
P	*0,08 (NS)*		*0,0004 (TS)*		*0,7 (NS)*		*0,03 (S)*		*0,5 (NS)*		*0,2 (NS)*	

BB *: B. bovis;* BBi*: B. bigemina ;*
AM *: A. marginale;* APh: *A. phagocytophilum*

S: séroprévalence
TS : très significatif ; *S* : significatif ; *NS* : non significatif

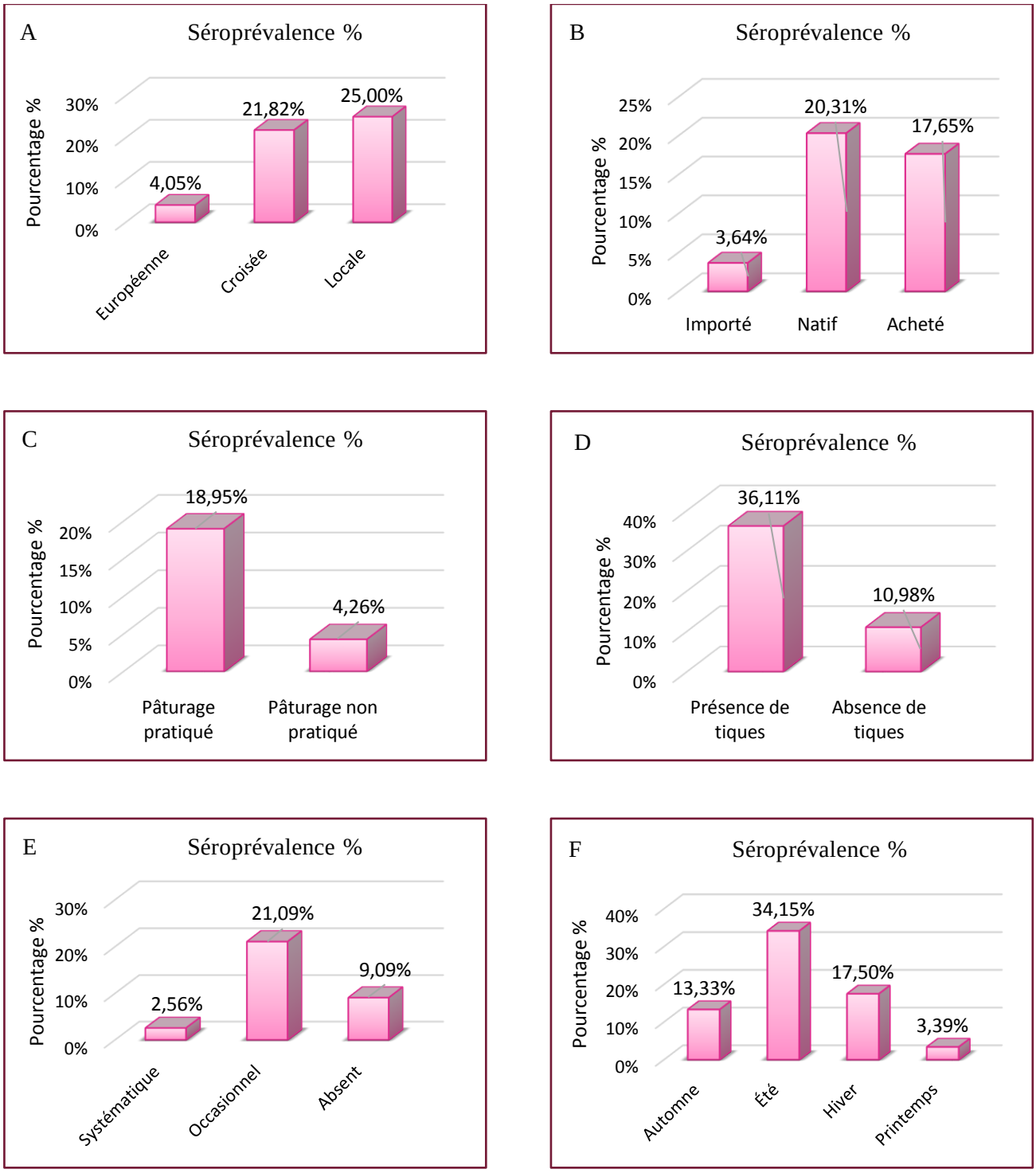


Figure 23: Variation de la séroprévalence vis-à-vis de la co-infection *B. bovis-A. marginale* en fonction de la race (A), origine du bovin (B), la pratique du pâturage (C), la présence ou l'absence de tiques (D), contrôle des tiques (E) et la saison (F)

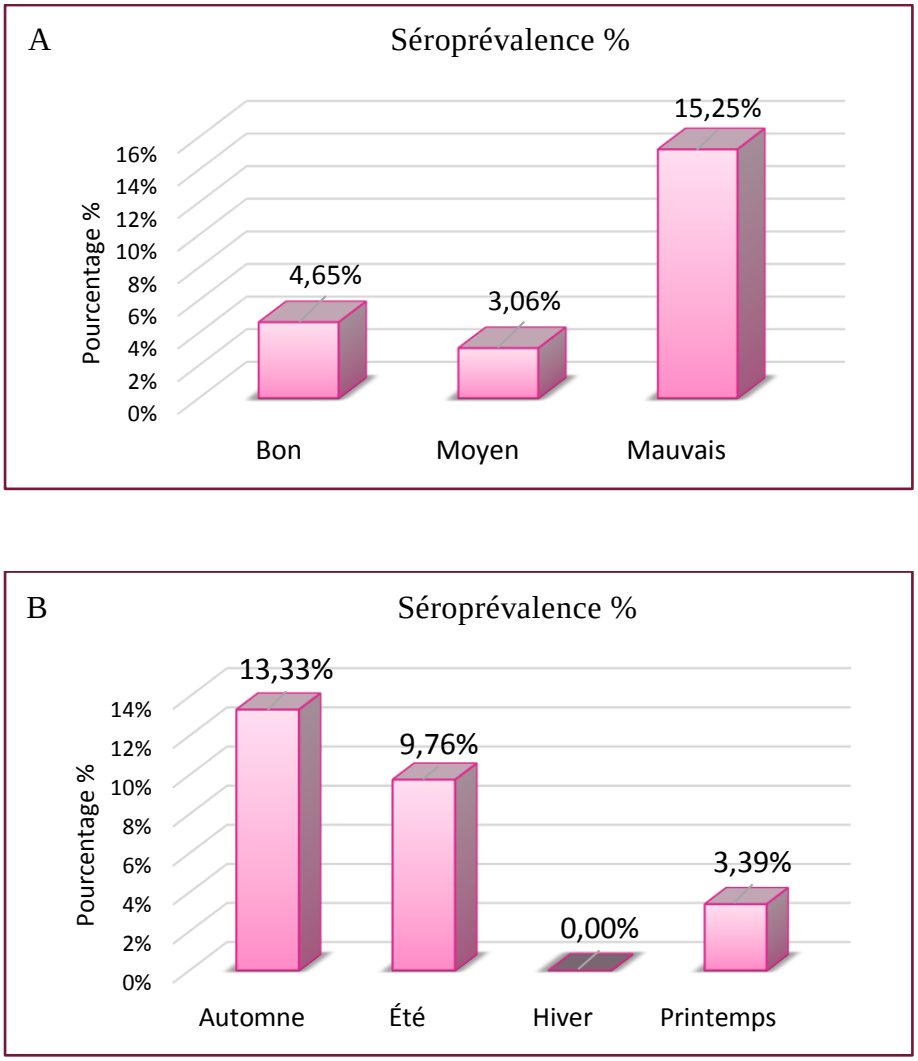


Figure 24: Variation de la séroprévalence vis-à-vis de la co-infection *B. bigemina-A. marginale* en fonction de l'état d'hygiène de la ferme (A) et de la saison (B)

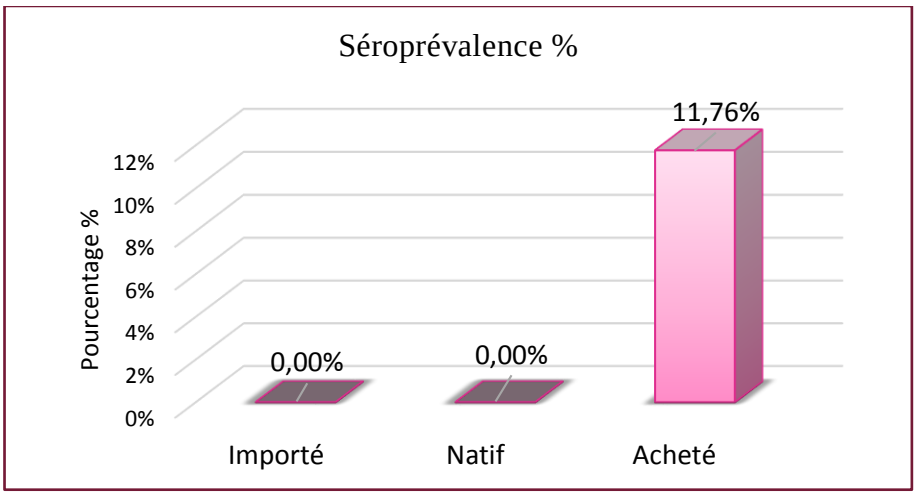


Figure 25: Variation de la séroprévalence vis-à-vis de la co-infection *B. bigemina-A. phagocytophilum* en fonction de l'origine du bovin

Tableau 19: Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une co-infection multiple

Agents pathogènes	**Infections multiples (par 3 ou 4 hémopathogènes)**							
	BB-BBi-AM		BB-BBi-APh		BBi-AM-APh		BB-BBi-AM-APh	
S % / **Variables**	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%
	7	3,39-10,61	5	1,92-8,08	1	-0,41-2,41	1	-0,41-2,41
Sexe								
Femelle (n=167)	7,78	3,64 -11,93	5,39	1,89-8,88	1,20	-0,49-2,88	1,20	-0,49-2,88
Mâle (n=33)	3,03	-2,94-9,00	3,03	-2,94-9,00	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
P	*0,4 (NS)*		*1 (NS)*		*1 (NS)*		*1 (NS)*	
Age (mois)								
< 12 (n=35)	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
13-24 (n=49)	12,24	2,88-21,61	4,08	-1,57-9,73	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
> 25 (n=116)	6,90	2,19-11,60	6,90	2,19-11,60	1,72	-0,69-4,14	1,72	-0,69-4,14
P	*0,08 (NS)*		*0,2 (NS)*		*0,9 (NS)*		*0,9 (NS)*	
Race								
Européenne (n=74)	9,46	2,66-16,26	2,70	-1,07-6,47	1,35	-1,33-4,04	0,00	0,00-0,00
Croisée (n=110)	5,45	1,12-9,78	7,27	2,32-12,22	0,91	-0,90-2,72	1,82	-0,73-4,37
Locale (n=16)	6,25	-5,85-18,35	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
P	*0,6 (NS)*		*0,3 (NS)*		*0,9 (NS)*		*0,5 (NS)*	
Origine								
Importée (n=55)	10,91	2,50-19,32	3,64	-1,41-8,68	1,82	-1,78-5,42	0,00	0,00-0,00
Natives (n=128)	4,69	0,95-8,42	6,25	1,97-10,53	0,78	-0,78-2,34	1,56	-0,63-3,75
Achetée (n=17)	11,76	-3,86-27,39	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
P	*0,1 (NS)*		*0,6 (NS)*		*0,5 (NS)*		*1 (NS)*	
État de santé								
Présence SC (n=20)	15,00	-1,00-31,00	15,00	-1,00-31,00	0,00	0,00-0,00	5,00	-4,70-14,70
Absence SC (n=180)	6,10	2,50-9,70	3,90	1,00-6,80	1,10	-0,50-2,70	0,60	-0,60-1,70
P	*0,15 (NS)*		*0,06 (NS)*		*1 (NS)*		*0,19 (NS)*	

BB *: B. bovis;* BBi*: B. bigemina ;*
AM *: A. marginale;* APh: *A. phagocytophilum*

S: séroprévalence ; SC : signes cliniques
TS : très significatif ; *S* : significatif ; *NS* : non significatif

Tableau 19 (suite): Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une co-infection multiple

Agents pathogènes	**Infections multiples (par 3 ou 4 hémopathogènes)**							
	BB-BBi-AM		BB-BBi-APh		BBi-AM-APh		BB-BBi-AM-APh	
Variables	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%	S %	IC 95%
Etat d'hygiène								
Bon (n=43)	2,33	-2,27-6,92	4,65	-1,77-11,07	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
Moyen (n=98)	6,12	1,28-10,97	3,06	-0,42-6,54	2,04	-0,82-4,90	1,02	-1,01-3,05
Mauvais (n=59)	11,86	3,44-20,28	8,47	1,22-15,73	0,00	0,00-0,00	1,69	-1,67-5,06
P	*0,1 (NS)*		*0,3 (NS)*		*0,7 (NS)*		*1 (NS)*	
Pâturage								
Oui (n=153)	9,79	4,82-14,76	2,61	0,03-5,19	0,65	-0,65-1,96	0,65	-0,65-1,96
Non (n=47)	0,00	0,00-0,00	12,77	3,03-22,50	2,13	-2,08-6,34	2,13	-2,08-6,34
P	*0,04 (S)*		*0,01 (S)*		*0,4 (NS)*		*0,4 (NS)*	
Tiques								
Présence (n=36)	16,67	4,24-29,09	5,56	-2,08-13,19	0,00	0,00-0,00	2,78	-2,70-8,26
Absence (n=164)	4,88	1,51-8,24	4,88	1,51-8,24	1,22	-0,49-2,93	0,61	-0,61-1,83
P	*0,02 (S)*		*1 (NS)*		*1 (NS)*		*1 (NS)*	
Contrôle des tiques								
Systématique (n=39)	0,00	0,00-0,00	2,56	-2,50-7,63	2,56	-2,50-7,63	0,00	0,00-0,00
Occasionnel (n=128)	10,16	4,82-15,50	3,91	0,48-7,33	0,78	-0,78-2,34	0,78	-0,78-2,34
Absent (n=33)	3,03	-2,94-9,00	12,12	0,76-23,48	0,00	0,00-0,00	3,03	-2,94-9,00
P	*0,05 (NS)*		*0,1 (NS)*		*0,5 (NS)*		*0,3 (NS)*	
Saison								
Automne (n=60)	8,33	1,20-15,47	0,00	0,00-0,00	3,33	-1,30-7,97	0,00	0,00-0,00
Été (n=41)	12,20	1,97-22,42	7,32	-0,82-15,45	0,00	0,00-0,00	0,00	0,00-0,00
Hiver (n=40)	0,00	0,00-0,00	2,50	-2,44-7,44	0,00	0,00-0,00	2,50	-2,44-7,44
Printemps (n=59)	6,78	0,23-13,33	10,17	2,30-18,04	0,00	0,00-0,00	1,69	-1,67-5,06
P	*0,1 (NS)*		*0,03 (S)*		*0,3 (NS)*		*0,4 (NS)*	

BB *: B. bovis;* BBi*: B. bigemina ;*
AM *: A. marginale;* APh: *A. phagocytophilum*

S: séroprévalence
TS : très significatif ; *S* : significatif ; *NS* : non significatif

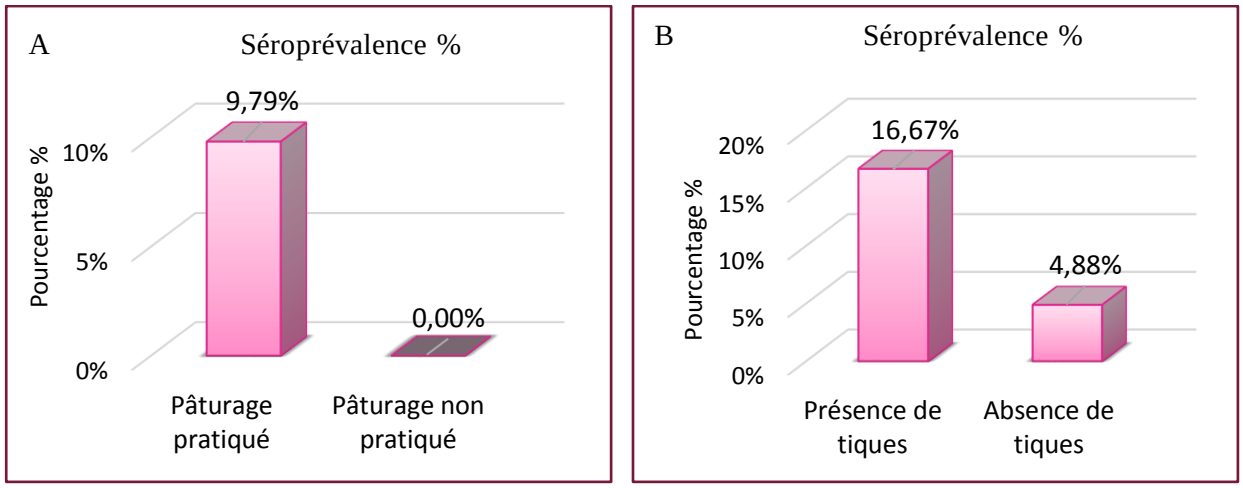


Figure 26: Variation de la séroprévalence vis-à-vis de la co-infection *B. bovis-B. bigemina-A. marginale* en fonction de la pratique du pâturage (A) et la présence ou absence de tiques (B)

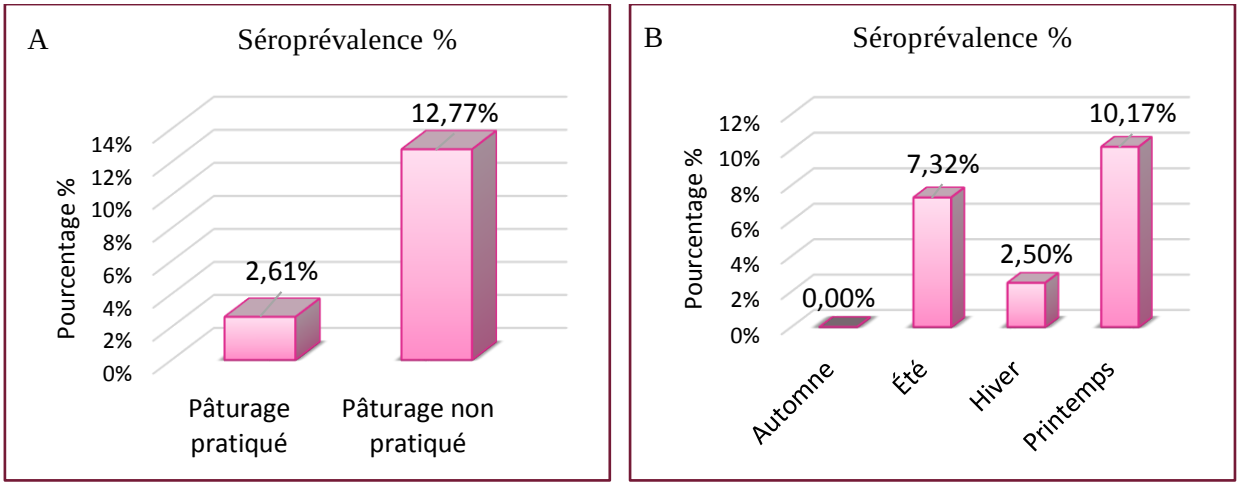


Figure 27: Variation de la séroprévalence vis-à-vis de la co-infection *B. bovis-B. bigemina-A. phagocytophilum* en fonction de la pratique du pâturage (A) et de la saison (B)

III. 4. Étude de la comparaison des deux méthodes de diagnostic

III. 4.1 Comparaison des deux méthodes (FS et IFAT) pour le diagnostic de *B. bovis*

Les performances de la méthode du frottis sanguin ont été évaluées en prenant comme test de référence l'IFAT à des dilutions ≥ 1/40 et ≥ 1/100 (tableaux 20 et 21).

Pour la méthode du frottis sanguin, la sensibilité (Se), la spécificité (Sp), l'exactitude relative (ER), le coefficient kappa de Cohen (K) et le test de Mc Nemar ont été calculés avec le test IFAT pris comme test de référence.

Les résultats obtenus ont montré une spécificité relative de 99,09% (IC 95% 97,10% - 100,9%), une sensibilité relative de 36,67% (IC 95% 26,44% - 46,76%) et une exactitude de 71% (IC 95% 64,58 – 77,42) pour la méthode du FS par rapport au test IFAT à une dilution ≥ 1/40. Lorsqu'on considère l'IFAT à une dilution ≥ 1/100, le FS révèle une spécificité relative de 89,14% (IC 95% 84,39% - 93,81%), une sensibilité relative de 60% (IC 95% 40,40% - 79,60%) et une exactitude de 85,5% (IC 95% 80,52 – 90,48).

Le calcul de la concordance entre les deux méthodes (FS avec IFAT ≥ 1/40 et ≥ 1/100) par l'utilisation du test Kappa de Cohen a montré des coefficients k de 0,38 et 0,43 respectivement ce qui correspond à des concordances faibles à modérées entre les deux méthodes. Le résultat du test Mc Nemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement non différentes (p > 0.05).

Tableau 20: Comparaison de la technique du FS avec le test IFAT (titre seuil ≥ 1/40) pris comme test de référence pour le diagnostic de *B. bovis*

Tests pour le diagnostic de *B. bovis*	**IFAT**			
		+	**-**	**Total**
FROTTIS SANGUIN	+	33	1	34
	-	57	109	166
	Total	90	110	200
	Valeurs intrinsèques	**Se= 36,67%**	**Sp= 99,09%**	**ER= 71%**
	Kappa = 0, 38 Test de Mc Nemar (p > 0,05)			

Tableau 21: Comparaison de la technique du FS avec le test IFAT (titre ≥ 1/100) pris comme test de référence pour le diagnostic de *B. bovis*

Tests pour le diagnostic de *B. bovis*	**IFAT**			
		+	**-**	**Total**
FROTTIS SANGUIN	+	15	19	34
	-	10	156	166
	Total	25	175	200
	Valeurs intrinsèques	**Se= 60%**	**Sp= 89,14%**	**ER= 85,5%**
	Kappa = 0,43 Test de Mc Nemar (p > 0,05)			

III. 4.2 Comparaison des deux méthodes (FS et IFAT) pour le diagnostic de *B. bigemina*

Les performances de la méthode du frottis sanguin ont été évaluées par le calcul de la sensibilité, la spécificité, l'exactitude relative, le coefficient kappa de Cohen et le test de Mc Nemar, en prenant comme test de référence l'IFAT à des dilutions ≥ 1/80 et ≥ 1/100. Les tableaux (22 et 23) résument ces données.

Le FS a montré une spécificité relative de 100% (IC 95% 100% - 100%), une sensibilité relative de 25% (IC 95% 14,17% - 35,83%) et une exactitude de 76% (IC 95% 69,96 – 82,04) par rapport à l'IFAT ≥ 1/80. Lorsqu'on considère le titre en IFAT ≥ 1/100, le FS révèle une spécificité relative de 98,25% (IC 95% 96,17% - 100,23%), une sensibilité relative de 46,42% (IC 95% 96,17% - 100,23%) et une exactitude relative de 91% (IC 95% 86,95 – 95,05).

La concordance entre les deux tests est faible (Kappa = 0,31) à un titre seuil en IFAT ≥ 1/80. Elle est moyenne (Kappa= 0,54) à un titre en IFAT ≥ 1/100. Le test Mc Nemar indique que le FS donne des résultats significativement non différents de ceux de l'IFAT à un titre ≥ 1/80 (p > 0,05), alors que, au titre en IFAT ≥ 1/100 les résultats étaient significativement différents (< 0,05).

Tableau 22: Comparaison de la technique du FS avec le test IFAT (titre seuil ≥ 1/80) pris comme test de référence pour le diagnostic de *B. bigemina*

Tests pour le diagnostic de *B. bigemina*	**IFAT**			
		+	**-**	**Total**
FROTTIS SANGUIN	**+**	16	0	16
	-	48	136	184
	Total	64	136	200
	Valeurs intrinsèques	**Se= 25%**	**Sp= 100%**	**ER= 76%**
	Kappa = 0,31 Test de Mc Nemar (p > 0,05)			

Tableau 23: Comparaison de la technique du FS avec le test IFAT (titre ≥ 1/100) pris comme test de référence pour le diagnostic de *B. bigemina*

Tests pour le diagnostic de *B. bigemina*	**IFAT**			
		+	**-**	**Total**
FROTTIS SANGUIN	**+**	13	3	16
	-	15	169	184
	Total	28	172	200
	Valeurs intrinsèques	**Se= 46,42%**	**Sp= 98,25%**	**ER= 91%**
	Kappa = 0,54 Test de Mc Nemar (p < 0,05)			

III. 4.3 Comparaison des deux méthodes (FS et cELISA) pour le diagnostic *d'A. marginale*

Les performances de la méthode du frottis sanguin ont été évaluées en prenant comme test de référence cELISA à des titres ≥ 30% et ≥ 50% (tableaux 24 et 25).

Pour la méthode du frottis sanguin, la sensibilité, la spécificité, l'exactitude relative, le coefficient kappa de Cohen et le test de Mc Nemar ont été calculés avec le test cELISA pris comme test de référence.

Les résultats obtenus ont montré une spécificité relative de 98,23% (IC 95% 95,70% - 100,7%), une sensibilité relative de 34,48% (IC 95% 24,21% - 44,59%) et une exactitude de 70,5% (IC 95% 64,05 – 76,95) pour la méthode du FS par rapport au test cELISA à un titre ≥ 30%. Lorsqu'on considère cELISA à un titre ≥ 50%, le FS révèle une spécificité relative de 95,55% (IC 95% 91,97% - 99,03%), une sensibilité relative de 48,39% (IC 95% 35,61% - 60,99%) et une exactitude de 83% (IC 95% 77,69 – 88,31).

La valeur de Kappa pour le FS par rapport à cELISA (titre ≥ 30%) est de 0,35, ce qui signifie d'une concordance faible. Elle est de 0,54 par rapport à cELISA (titre ≥ 50%) correspondant à une concordance moyenne. Le résultat du test Mc Nemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement non différentes (p>0.05).

Tableau 24: Comparaison de la technique du FS avec le test cELISA (titre seuil ≥ 30%) pris comme test de référence pour le diagnostic *d'A. marginale*

Tests pour le diagnostic *d'A. marginale*	**cELISA**			
		+	**-**	**Total**
FROTTIS SANGUIN	+	30	2	32
	-	57	111	168
	Total	87	113	200
	Valeurs intrinsèques	**Se= 34,48%**	**Sp= 98,23%**	**ER=70,5%**
	Kappa = 0,35 Test de Mc Nemar (p > 0,05)			

Tableau 25: Comparaison de la technique du FS avec le test cELISA (titre ≥ 50%) pris comme test de référence pour le diagnostic *d'A. marginale*

Tests pour le diagnostic *d'A. marginale*	**cELISA**			
		+	**-**	**Total**
FROTTIS SANGUIN	**+**	30	2	32
	-	32	136	168
	Total	62	138	200
	Valeurs intrinsèques	**Se= 48,39%**	**Sp= 95,55%**	**ER= 83%**
	Kappa = 0,54 Test de Mc Nemar (p > 0,05)			

III. 4.4 Comparaison des deux méthodes (FS et IFAT) pour le diagnostic *d'A. phagocytophilum*

Les performances de la méthode du frottis sanguin, pour le diagnostic d*'A. phagocytophilum,* ont été également évaluées par le calcul de la sensibilité, la spécificité, l'exactitude relative, le coefficient kappa de Cohen et le test de Mc Nemar, en prenant comme test de référence l'IFAT à des dilutions ≥ 1/50 et ≥ 1/100 (tableaux 26 et 27).

Les résultats obtenus font apparaître une spécificité relative de 98,75% (IC 95% 96,91% - 100,49%), une sensibilité relative de 20,51% (IC 95% 7,57% - 33,43%) et une exactitude de 83,35% (IC 95% 78,03 – 88,57) pour la méthode du FS par rapport au test IFAT à une dilution ≥ 1/50. Lorsqu'on considère l'IFAT à une dilution ≥ 1/100, le FS montre une spécificité relative de 95,5% (IC 95% 92,55% - 98,45%), une sensibilité relative de 66,66% (IC 95% 12,14% - 121,06%) et une exactitude de 95,5% (IC 95% 92,57 – 98,43).

Le calcul de la concordance entre les deux méthodes (FS avec IFAT ≥ 1/50 et ≥ 1/100) par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré des coefficients k de 0,27 et 0,29 respectivement ce qui correspond à des concordances faibles entre les deux méthodes. Le résultat du test Mc Nemar a révélé que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement non différentes (p > 0.05).

Tableau 26: Comparaison de la technique du FS avec le test IFAT (titre seuil ≥ 1/50) pris comme test de référence pour le diagnostic *d'A. phagocytophilum*

Tests pour le diagnostic *d'A.phagocytophilum*	**IFAT**			
		+	**-**	**Total**
FROTTIS SANGUIN	+	8	2	10
	-	31	159	190
	Total	39	161	200
	Valeurs intrinsèques	**Se= 20,51%**	**Sp= 98,75%**	**ER=83,5%**
	Kappa = 0,27 Test de Mc Nemar (p > 0,05)			

Tableau 27: Comparaison de la technique du FS avec le test IFAT (titre ≥ 1/100) pris comme test de référence pour le diagnostic *d'A. phagocytophilum*

Tests pour le diagnostic *d'A.phagocytophilum*	**IFAT**			
		+	**-**	**Total**
FROTTIS SANGUIN	+	2	8	10
	-	1	189	190
	Total	3	197	200
	Valeurs intrinsèques	**Se= 66,66%**	**Sp= 95,5%**	**ER= 95,5%**
	Kappa = 0,29 Test de Mc Nemar (p > 0,05)			

III. 5. Étude hématologique et biochimique

III. 5.1 Hématologie

Des paramètres hématologiques ont été mesurés chez les différents groupes d'animaux répartis en fonction de leur positivité vis-à-vis des différents hémopathogènes étudiés. On distingue les animaux positifs et présentant des signes cliniques (cas cliniques) des animaux positifs sans signes cliniques (groupe de cas chroniques). Les moyennes et les écarts types sont présentés par paramètre et par pathogène ou groupe de pathogènes (tableau 28). L'étude a visé à analyser la pertinence statistique des différences observées entre les moyennes des groupes pour un paramètre donné. De plus, pour chacun des paramètres étudiés une présentation par un graphique de type « boîte à moustaches » ou « box plot » a été effectuée, ceci permet de donner une idée sur la distribution des valeurs autour de la médiane selon les paramètres et les groupes d'animaux considérés (voir figure 28 et 29).

Il faut noter que la comparaison des différents groupes d'animaux a été effectuée par rapport à un groupe de contrôle séronégatif pour tous les hémopathogènes recherchés et sans signes cliniques. Ainsi, à l'exception de CCMH où la moyenne obtenue était légèrement supérieure aux valeurs usuelles, les valeurs déterminées des autres paramètres obtenues chez le groupe de contrôle étaient compatibles avec les valeurs usuelles correspondantes rapportées dans la littérature.

- Variation du profil hématologique des bovins positifs à *B. bovis*

Globalement, le nombre des érythrocytes s'est avéré significativement plus diminué chez les bovins séropositifs à *B. bovis* et présentant des signes cliniques (groupe de cas clinique) et ceux séropositifs mais sans signes cliniques (groupe de cas chronique) par rapport aux bovins contrôles ($P < 0,05$). De façon similaire, les bovins séropositifs (avec et sans signes cliniques) ont présenté un hématocrite significativement diminué par rapport aux contrôles ($P < 0.05$). L'hémoglobinémie a varié uniquement de façon significative chez le groupe de cas clinique comparé à celui de contrôle ($P < 0.05$).

Par ailleurs, il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les différents groupes considérés par rapport à celui de contrôle pour les autres paramètres étudiés (globules blancs, VGMH, TGMH, CCMH et plaquettes) ($P > 0,05$).

- Variation du profil hématologique des bovins positifs à *B. bigemina*

Pour *B. bigemina* les variations du profil hématologique ont concerné uniquement le nombre des érythrocytes, l'hématocrite et le taux d'hémoglobine. En effet, pour ces trois paramètres les valeurs étaient significativement diminuées chez les groupes cas clinique et cas chronique comparées au groupe contrôle ($P < 0,05$).

Les autres paramètres explorés n'ont pas varié significativement entre les différents groupes considérés par rapport au groupe contrôle ($P > 0,05$).

- Variation du profil hématologique des bovins positifs à *A. marginale*

De même, pour *A. marginale* les variations du profil hématologique ont concerné également le nombre des érythrocytes, l'hématocrite et le taux d'hémoglobine. Le nombre des érythrocytes était significativement diminué chez les groupes cas clinique et cas chronique comparés au groupe contrôle ($P < 0,05$). En revanche, l'hématocrite et le taux d'hémoglobine ont varié uniquement pour le groupe de cas clinique par rapport au groupe contrôle ($P < 0,05$).

- Variation du profil hématologique des bovins positifs à *A. phagocytophilum*

Nous constatons que le nombre des érythrocytes, l'hématocrite et le taux d'hémoglobine ont été significativement diminués par rapport aux bovins contrôles, chez les bovins de groupe de cas cliniques et ceux de cas chronique ($P < 0,05$). De plus, le TGMH moyen du groupe cas clinique est significativement plus élevé que celui des bovins contrôle ($P < 0,05$).

Ceci n'est pas le cas pour les autres paramètres étudiés (globules blancs, VGMH, CCMH et plaquettes) ($P > 0,05$).

- Variation du profil hématologique des bovins positifs à *B. bovis-B. bigemina*

Pour la co-infection *B. bovis-B. bigemina,* les variations des paramètres hématologiques ont concerné le nombre des érythrocytes, l'hématocrite et le taux d'hémoglobine et ceci pour les groupes cas clinique et ceux des cas chroniques par rapport au groupe contrôle ($P < 0,05$).

Les autres paramètres explorés n'ont pas varié significativement entre les différents groupes considérés par rapport au groupe contrôle ($P > 0,05$).

- Variation du profil hématologique des bovins positifs à *B. bovis- A. marginale*

En ce qui concerne la co-infection *B. bovis-A. marginale*, on observe les mêmes variations du profil hématologique que celles constatées pour la co-infection *B. bovis-B. bigemina*.

- Variation du profil hématologique des bovins positifs à *B. bovis- B. bigemina-A. marginale*

Enfin, les altérations du profil hématologique des bovins séropositifs à *B. bovis- B. bigemina-A. marginale* ont concerné les paramètres suivants : le nombre des érythrocytes, l'hématocrite, le taux d'hémoglobine, VGM et CCMH. En effet, pour les trois premiers paramètres on constate que les valeurs étaient significativement diminuées à la fois chez les groupes cas clinique et cas chronique comparées au groupe contrôle ($P < 0,05$). Alors que pour le CCMH, les valeurs étaient significativement diminuées et ceci uniquement pour le groupe cas clinique comparé au groupe contrôle ($P < 0,05$). En revanche, le VGM est apparu relativement élevé chez le groupe de cas clinique comparé à celui de contrôle ($P < 0,05$).

Pour les autres paramètres (TGMH, plaquettes et globules blancs) on ne constate pas de variations significatives entre les différents groupes considérés comparativement toujours avec celui du groupe contrôle ($P > 0,05$).

Tableau 28: Comparaison des moyennes des paramètres hématologiques entre les groupes d'animaux (contrôle, cas chroniques et cas cliniques) en fonction de la positivité vis-à-vis des différents hémopathogènes étudiés. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ±déviation standard

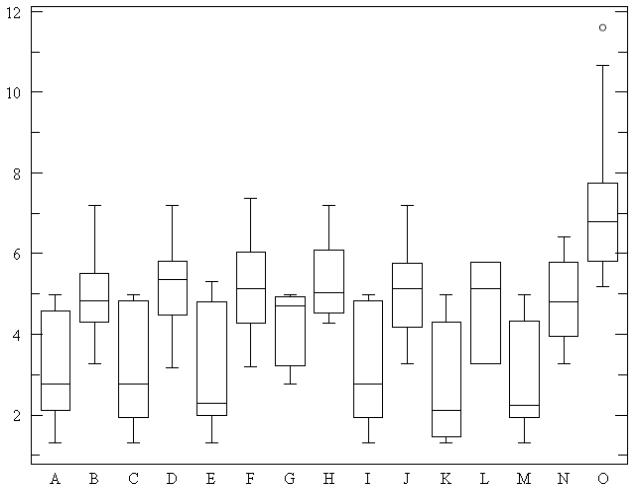
Agents pathogènes	**groupes d'animaux**	**Paramètres hématologiques** (valeurs de références)							
		GR 10^6/mm³ (5-10)	**Hb** g/dl (8-15)	**Ht** % (24-46)	**VGM** µm³ (40-60)	**TGMH** pg (11-17)	**CCMH** g/dl (30-36)	**PLA** 10^3/mm³ (100-800)	**GB** 10^3/mm³ (4-12)
B. bovis	CC (n=11)	3,19 ±1,32	6,78 ±2,19	16,66 ±5,83	55,92 ±33,53	23,45 ±9,37	38,98 ±3,51	368,64 ±230,12	7,21 ± 3,04
	CCh (n=24)	4,99 ±0,94	9,04 ±2,12	22,94 ±4,81	45,09 ±4,60	17,69 ±2,89	39,84 ±2,76	308,83 ±149,43	8,15 ± 3,98
	Con (n=13)	7,13 ±1,81	12,43 ±3,00	31,38 ±8,19	44,80 ±7,01	17,00 ±3,22	40,11 ±2,39	290,38 ±226,41	8,66 ± 2,80
Valeur de p		*S* (CCvCon) *S* (CChvCon)	*S* (CCvCon)	*S* (CCvCon) *S*(CChvCon)	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*
B. bigemina	CC (n=7)	3,24 ±1,52	7,34 ±2,38	18,11 ±6,45	47,03 ±13,58	22,98 ±8,41	38,10 ±3,85	404,00 ±233,67	7,02 ± 2,02
	CCh (n=16)	5,11 ±1,09	10,86 ±4,61	25,54 ±7,47	40,94 ±12,61	20,34 ±6,72	41,01 ±4,41	285,31 ±162,24	8,49 ± 2,27
	Con (n=13)	7,13 ±1,81	12,43 ±3,00	31,38 ±8,19	44,80 ±7,01	17,00 ±3,22	40,11 ±2,39	290,38 ±226,41	8,66 ± 2,80
Valeur de p		*S* (CCvCon) *S* (CChvCon)	*S* (CCvCon) *S*(CChvCon)	*S* (CCvCon) *S*(CChvCon)	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*
A. marginale	CC (n=8)	3,06 ±1,55	6,83 ±2,55	16,44 ±6,15	50,03 ±7,09	22,28 ±8,45	39,00 ±5,49	376,38 ±205,11	7,20 ± 2,65
	CCh (n=17)	5,19 ±1,24	11,25 ±4,75	27,17 ±8,44	42,94 ±11,46	20,03 ±5,73	39,75 ±2,82	261,94 ±111,21	8,48 ± 2,37
	Con (n=13)	7,13 ±1,81	12,43 ±3,00	31,38 ±8,19	44,80 ±7,01	17,00 ±3,22	40,11 ±2,39	290,38 ±226,41	8,66 ± 2,80
Valeur de p		*S* (CCvCon) *S* (CChvCon)	*S* (CCvCon)	*S* (CCvCon)	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*
A. phagocy-tophilum	CC (n=4)	5,02 ±1,02	8,53 ±2,51	20,93 ±6,66	41,48 ±16,35	25,55±10,78	40,30 ±3,25	450,50 ±284,92	7,30 ± 1,33
	CCh (n=9)	5,31 ±0,96	9,29 ±1,52	22,43 ±2,73	43,56 ±4,00	17,60 ±1,69	40,34 ±1,57	361,11 ±185,80	7,06 ± 1,78
	Con (n=13)	7,13 ±1,81	12,43 ±3,00	31,38 ±8,19	44,80 ±7,01	17,00 ±3,22	40,11 ±2,39	290,38 ±226,41	8,66 ± 2,80
Valeur de p		*S* (CCvCon) *S* (CChvCon)	*S* (CCvCon) *S*(CChvCon)	*S* (CCvCon) *S*(CChvCon)	*NS*	*S* (CCvCon)	*NS*	*NS*	*NS*

Tableau 28 (suite): Comparaison des moyennes des paramètres hématologiques entre les groupes d'animaux (contrôle, cas chroniques et cas cliniques) en fonction de la positivité vis-à-vis des différents hémopathogènes étudiés. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne± déviation standard.

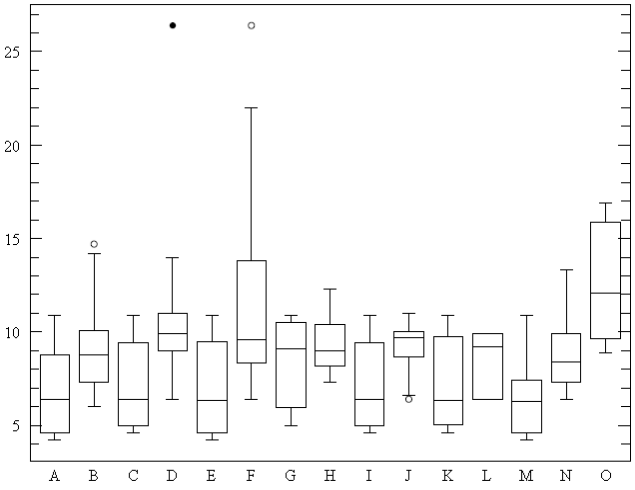
Agents pathogènes	**groupes d'animaux**	**Paramètres hématologiques** (valeurs de références)							
		GR 10^6/mm³ (5-10)	**Hb** g/dl (8-15)	**Ht** % (24-46)	**VGM** µm³ (40-60)	**TGMH** pg (11-17)	**CCMH** g/dl (30-36)	**PLA** 10^3/mm³ (100-800)	**GB** 10^3/mm³ (4-12)
B. bovis-B. bigemina	CC (n=7)	3,02 ±1,51	6,34 ±2,28	16,11 ±6,15	47,03 ±13,58	22,98 ±8,41	38,10 ±3,85	404,00 ±233,67	8,20 ± 1,71
	CCh (n=9)	5,09 ±1,17	9,28 ±1,32	23,31 ±4,01	42,62 ±4,78	17,97 ±2,32	39,04 ±2,66	325,00 ±175,36	8,02 ± 2,68
	Con (n=13)	7,13 ±1,81	12,43 ±3,00	31,38 ±8,19	44,80 ±7,01	17,00 ±3,22	40,11 ±2,39	290,38 ±226,41	8,66 ± 2,80
Valeur de p		*S* (CCvCon) *S*(CChvCon)	*S* (CCvCon) *S*(CChvCon)	*S* (CCvCon) *S*(CChvCon)	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*
B.bovis-A.maginale	CC (n=7)	2,74 ±1,35	6,34 ±2,33	15,91 ±6,45	51,75 ±5,57	22,71 ±9,03	37,33 ±3,01	376,29 ±221,54	7,35 ±2,54
	CCh (n=7)	4,82 ±1,08	8,97 ±2,23	21,96 ±5,59	45,51 ±3,98	18,66 ±1,83	40,76 ±1,27	272,71 ±123,46	8,27 ± 1,30
	Con (n=13)	7,13 ±1,81	12,43 ±3,00	31,38 ±8,19	44,80 ±7,01	17,00 ±3,22	40,11 ±2,39	290,38 ±226,41	8,66 ± 2,80
Valeur de p		*S* (CCvCon) *S*(CChvCon)	*S* (CCvCon) *S*(CChvCon)	*S* (CCvCon) *S*(CChvCon)	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*
B.bovis-B. bigemina-A. marginale	CC (n=4)	2,63 ±1,61	7,05 ±2,70	16,28 ±7,63	54,58 ±2,35	20,17 ±2,53	35,55 ±2,13	408,00 ±196,77	7,57 ± 2,62
	CCh (n=3)	4,72 ±1,31	8,50 ±1,85	21,10 ±4,95	45,00 ±2,65	18,27 ±1,32	40,50 ±1,28	341,00 ±146,37	8,29 ±2,36
	Con (n=13)	7,13 ±1,81	12,43 ±3,00	31,38 ±8,19	44,80 ±7,01	17,00 ±3,22	40,11 ±2,39	290,38 ±226,41	8,66 ± 2,80
Valeur de p		*S* (CCvCon) *S*(CChvCon)	*S* (CCvCon) *S*(CChvCon)	*S* (CCvCon) *S*(CChvCon)	*S* (CCvCon)	*NS*	*S* (CCvCon)	*NS*	*NS*

GB: globules blancs ; Hb: hémoglobine ; Ht: taux d'hématocrite ; VGM: volume globulaire moyen ; TGMH: teneur globulaire moyenne en hémoglobine ; CCMH: concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ; PLA: plaquettes ; GR: globules rouges.
CC : cas clinique ; CCh : cas chronique ; Con : contrôle.
S : significatif ($p<0,05$) ; NS : non significatif ($p>0,05$).

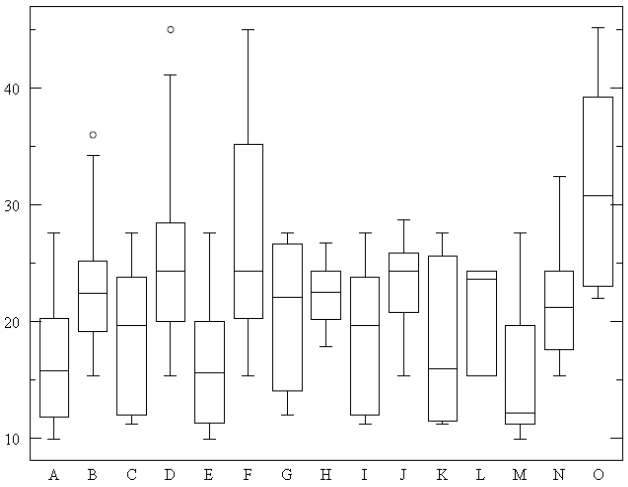
Globules rouges (10^6/mm³)



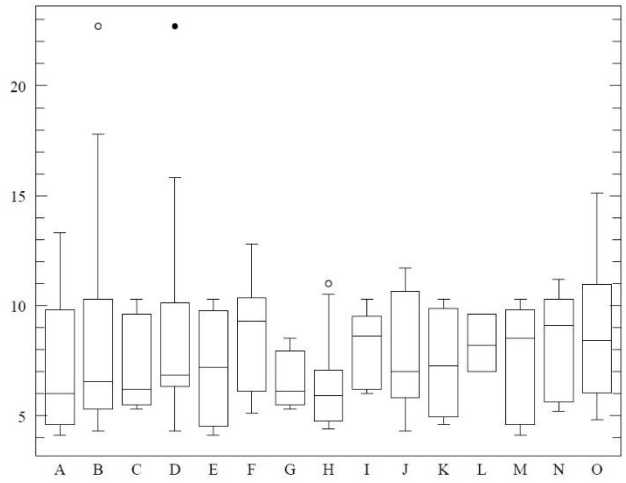
Hémoglobine g/dl



Hématocrite (%)



Globules blanc (10^3/mm³)

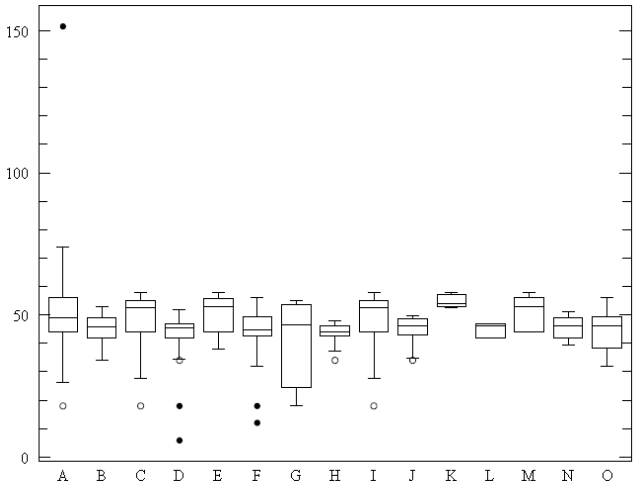


A: *B. bovis* CC ; **B**: *B. bovis* CCh ; **C**: *B. bigemina* CC ; **D**: *B. bigemina* CCh ; **E**: *A. marginale* CC ; **F**: *A. marginale* CCh ; **G**: *A. phagocytophilum* CC ; **H**: *A. phagocytophilum* CCh ; **I**: Co-infection *B.bovis-B.bigemina* CC ; **J**: Co-infection *B.bovis-B.bigemina* CCh ; **K**: *B.bovis-B.bigemina-A.marginale* CC ; **L**: *B.bovis-B.bigemina-A.marginale* CCh ; **M**: Co-infection *B.bovis-A.marginale* CC ; **N**: Co-infection *B.bovis-A.marginale* CCh ; **O**: groupe contrôle.

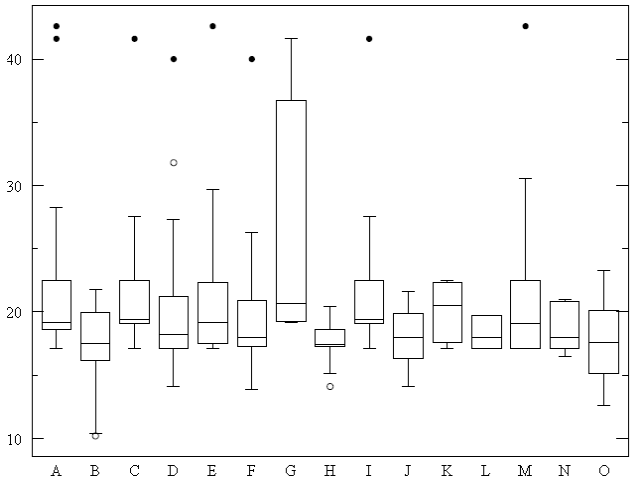
CC : cas clinique ; CCh : cas chronique

Figure 28: Représentation en boîte à moustaches de la répartition des valeurs selon les paramètres (globules rouges, hémoglobine, hématocrite et globules blancs) et les groupes d'animaux

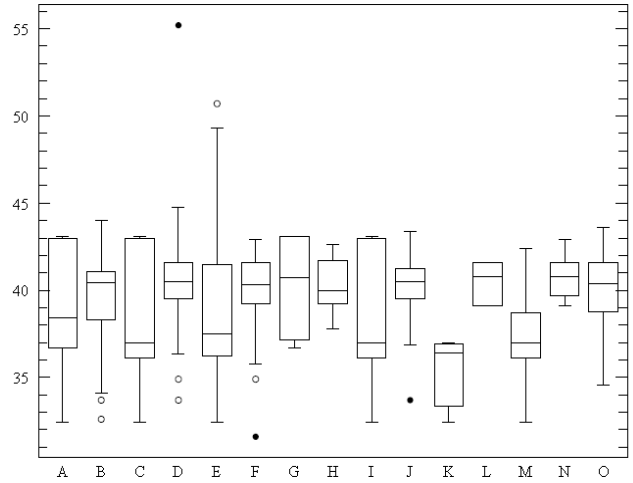
VGMH (µm³)



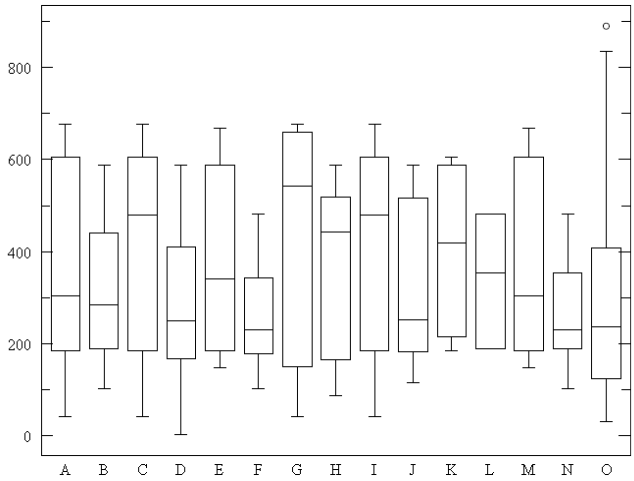
TGMH (pg)



CCMH (g/dL)



Plaquettes (10³/mm³)



A: *B. bovis* CC ; **B**: *B. bovis* CCh ; **C**: *B. bigemina* CC ; **D**: *B. bigemina* CCh ; **E**: *A. marginale* CC ; **F**: *A. marginale* CCh ; **G**: *A. phagocytophilum* CC ; **H**: *A. phagocytophilum* CCh ; **I**: Co-infection *B.bovis-B.bigemina* CC ; **J**: Co-infection *B.bovis-B.bigemina* CCh ; **K**: *B.bovis-B.bigemina-A.marginale* CC ; **L**: *B.bovis-B.bigemina-A.marginale* CCh ; **M**: Co-infection *B.bovis-A.marginale* CC ; **N**: Co-infection *B.bovis-A.marginale* CCh ; **O**: groupe contrôle.

CC : cas clinique ; CCh : cas chronique.

Figure 29: Représentation en boîte à moustaches de la répartition des valeurs selon les paramètres (VGMH, TGMH, CCMH et plaquettes) et les groupes d'animaux

III. 5.2 Biochimie

Des paramètres biochimiques ont été mesurés chez les différents groupes d'animaux répartis en fonction de leur positivité vis-à-vis des différents hémopathogènes étudiés. On distingue les animaux positifs et présentant des signes cliniques (cas cliniques) des animaux positifs sans signes cliniques (groupe de cas chroniques). Les moyennes et les écarts types sont présentés par paramètre et par pathogène ou groupe de pathogènes (tableau 29). L'étude a visé à analyser la pertinence statistique des différences observées entre les moyennes des groupes pour un paramètre donné. De plus, pour chacun des paramètres étudiés une présentation par un graphique de type « boîte à moustaches » ou « box plot » a été effectuée, ceci permet de donner une idée sur la distribution des valeurs autour de la médiane selon les paramètres et les groupes d'animaux considérés (voir figure 30 et 31).

La comparaison des différents groupes d'animaux a été effectuée par rapport à un groupe de contrôle séronégatif pour tous les hémopathogènes recherchés et sans signes cliniques. Toutes les valeurs mesurées des paramètres biochimiques obtenues chez le groupe contrôle sont compatibles avec les valeurs usuelles correspondantes rapportées dans la littérature.

- Variation du profil biochimique des bovins positifs à *B. bovis*

Bien que l'urée, la créatinine, la bilirubine totale et indirecte, la CK, la GGT et l'ASAT n'ont pas varié de façon significative en fonction de l'infection par *B. bovis* ($P > 0,05$), l'ALAT a significativement augmenté chez le groupe de cas clinique par rapport au groupe contrôle ($P < 0,05$).

- Variation du profil biochimique des bovins positifs à *B. bigemina*

Nous constatons qu'il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les groupes de cas clinique et de cas chronique par rapport au groupe de contrôle pour tous les paramètres biochimiques étudiés (l'urée, la créatinine, la bilirubine totale et indirecte, la CK, la GGT, l'ALAT et l'ASAT) ($P > 0,05$). Ainsi l'infection par *B. bigemina* ne semble pas induire une altération du profil biochimique chez les bovins infectés.

- Variation du profil biochimique des bovins positifs à *A. marginale*

L'ALAT est significativement plus élevée chez le groupe de cas clinique par rapport au groupe contrôle ($P < 0,05$). Pour les autres enzymes mesurées, on ne constate pas de différences

significatives entre les groupes de cas clinique et de cas chronique par rapport à celui du groupe contrôle (P > 0,05).

- Variation du profil biochimique des bovins positifs à *A. phagocytophilum*

Comme il a été déjà constaté pour l'infection par *B. bigemina*, les différents paramètres étudiés n'ont pas varié significativement entre les groupes de cas clinique et de cas chronique par rapport au groupe contrôle (P > 0,05). Ainsi l'infection par *A. phagocytophilum* ne semble pas également induire une altération du profil biochimique chez les bovins infectés.

- Variation du profil biochimique des bovins positifs à *B. bovis-B. bigemina*

Aucune différence significative n'est constatée pour la co-infections associant *B. bovis-B. bigemina* entre les groupes de cas clinique et de cas chronique par rapport au groupe contrôle (P > 0,05) et ceci en fonction des différents paramètres étudiés (p > 0,05).

- Variation du profil biochimique des bovins positifs à *B. bovis- A. marginale*

Comme pour l'infection à *B. bovis* et *A. marginale*, les altérations du profil biochimique ont seulement concerné l'ALAT qui a significativement augmentée chez les bovins co-infectés par *B. bovis-A. marginale* et présentant des signes cliniques (groupe de cas clinique) comparés au groupe contrôle (P < 0,05). Les autres paramètres explorés n'ont pas varié significativement entre les différents groupes considérés par rapport au groupe contrôle (P > 0,05).

- Variation du profil biochimique des bovins positifs à *B. bovis- B. bigemina-A. marginale*

Aussi pour la co-infection associant *B. bovis-B. bigemina-A. marginale*, on constate que seulement les valeurs de l'ALAT qui sont apparues relativement élevées chez le groupe de cas clinique comparé toujours à celui de contrôle (P < 0,05). Pour les autres paramètres on ne constate pas de variations significatives entre les différents groupes considérés comparativement toujours avec celui du groupe contrôle (P > 0,05).

Tableau 29: Comparaison des moyennes des paramètres biochimiques entre les groupes d'animaux (contrôle, cas chroniques et cas cliniques) en fonction de la positivité vis-à-vis des différents hémopathogènes étudiés. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± déviation standard

Agents pathogènes	**groupes d'animaux**	**Paramètres biochimiques** (valeurs de références)							
		Urée g/l (< 0,4)	**Créa** mg/l (9-20)	**Bili-T** mg/L (< 15)	**Bili-D** mg/L (< 7)	**ALAT** UI/l (< 50)	**ASAT** UI/L (30-170)	**CK** UI/L (< 300)	**GGT** UI/L (10-45)
B. bovis	CC (n=11)	0,21 ±0,13	15,87 ±6,02	9,59 ±9,13	4,21 ±3,18	74,73 ±72,27	100,91 ±47,3	20,87 ±12,4	20,59 ±14,03
	CCh (n=24)	0,24 ±0,08	18,01 ±7,9	5,73 ±4,76	2,24 ±2,09	35,04 ±16,16	90,58 ±87,73	18,36 ±15,5	17,35 ±5,68
	Con (n=13)	0,25 ±0,08	17,32 ±7,37	5,83 ±3,11	2,57 ±1,52	23,23 ±12,69	80,23 ±21,42	19,74 ±15,9	18,79 ±5,86
Valeur de p		*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*S* (CCvCon)	*NS*	*NS*	*NS*
B. bigemina	CC (n=7)	0,20 ±0,09	17,09 ±7,02	7,71 ±3,32	3,91 ±1,32	48,00 ±29,28	112,14 ±39,7	21,33 ±7,17	21,43 ±7,85
	CCh (n=16)	0,21 ±0,10	17,02 ±7,29	5,56 ±3,54	1,84 ±1,50	50,63 ±27,07	109,3±44,02	18,99 ±8,78	21,31 ±8,53
	Con (n=13)	0,25 ±0,08	17,32 ±7,37	5,83 ±3,11	2,57 ±1,52	23,23 ±12,69	80,23 ±21,42	19,74 ±15,9	18,79 ±5,86
Valeur de p		*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*
A. marginale	CC (n=8)	0,24 ±0,09	17,26 ±7,27	6,89 ±2,73	3,75 ±1,29	74,63 ±19,28	104,33 ±45,1	21,18 ±8,71	15,81 ±8,93
	CCh (n=17)	0,26 ±0,09	16,9 ±6,96	6,14 ±3,06	2,91 ±1,35	38,35 ±25,57	86,12 ±41,86	22,05 ±8,18	22,71 ±7,97
	Con (n=13)	0,25 ±0,08	17,32 ±7,37	5,83 ±3,11	2,57 ±1,52	23,23 ±12,69	80,23 ±21,42	19,74 ±15,9	18,79 ±5,86
Valeur de p		*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*SS (CCvCon)*	*NS*	*NS*	*NS*
A. phagocy-tophilum	CC (n=4)	0,18 ±0,10	14,70 ±7,13	6,05 ±2,38	2,85 ±1,05	28,50 ±11,68	94,25 ±34,15	16,78 ±8,76	28,25 ±7,85
	CCh (n=9)	0,20 ±0,09	23,56 ±6,18	5,66 ±2,30	4,46 ±1,17	32,44 ±21,31	81,44 ±36,09	22,38 ±7,45	19,11 ±9,06
	Con (n=13)	0,25 ±0,08	17,32 ±7,37	5,83 ±3,11	2,57 ±1,52	23,23 ±12,69	80,23 ±21,42	19,74 ±15,9	18,79 ±5,86
Valeur de p		*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*

Tableau 29 (suite): Comparaison des moyennes des paramètres biochimiques entre les groupes d'animaux (contrôle, cas chroniques et cas cliniques) en fonction de la positivité vis-à-vis des différents hémopathogènes étudiés. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± déviation standard

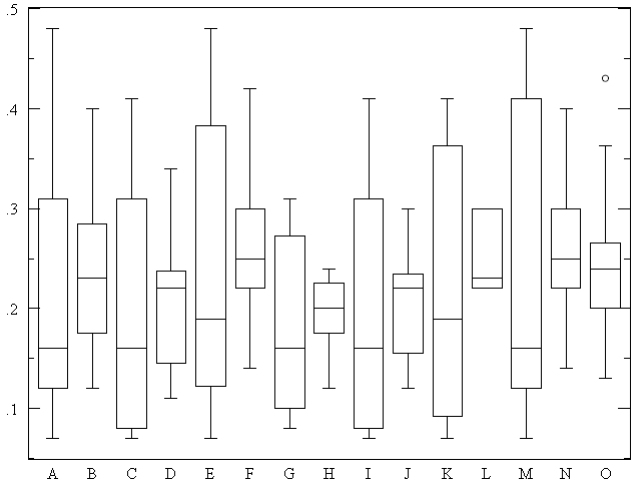
Agents pathogènes	**groupes d'animaux**	**Paramètres biochimiques** (valeurs de références)							
		Urée g/l (< 0,4)	**Créa** mg/l (9-20)	**Bili-T** mg/L (< 15)	**Bili-D** mg/L (< 7)	**ALAT** UI/l (< 50)	**ASAT** UI/L (30-170)	**CK** UI/L (< 300)	**GGT** UI/L (10-45)
B. bovis-B. bigemina	CC (n=7)	0,20 ±0,08	17,09 ±8,00	7,71 ±2,29	3,91 ±1,46	48,00 ±11,16	112,14 ±35,6	31,33 ±7,90	21,43 ±9,70
	CCh (n=9)	0,21 ±0,08	18,69 ±7,32	4,79 ±2,48	2,59 ±1,45	38,67 ±14,21	131,56 ±37,8	17,09 ±7,65	19,89 ±8,99
	Con (n=13)	0,25 ±0,08	17,32 ±7,37	5,83 ±3,11	2,57 ±1,52	23,23 ±12,69	80,23 ±21,42	19,74 ±15,9	18,79 ±5,86
Valeur de p		*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*S (CCvCon)*	*NS*	*NS*	*NS*
B.bovis-A.maginale	CC (n=7)	0,23 ±0,16	17,80 ±6,65	7,74 ±6,04	4,26 ±3,20	72,71 ±67,20	105,43 ±43,9	22,4±10,72	14,93 ±6,37
	CCh (n=7)	0,26 ±0,08	18,27 ±7,67	4,04 ±2,94	2,03 ±1,74	35,29 ±16,67	78,57 ±59,19	13,87 ±4,07	17,71 ±7,11
	Con (n=13)	0,25 ±0,08	17,32 ±7,37	5,83 ±3,11	2,57 ±1,52	23,23 ±12,69	80,23 ±21,42	19,74 ±15,9	18,79 ±5,86
Valeur de p		*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*S (CCvCon)*	*NS*	*NS*	*NS*
B.bovis-B. bigemina-A. marginale	CC (n=4)	0,22 ±0,10	19,70 ±7,11	7,83 ±2,40	4,23 ±1,06	59,50 ±9,56	116,0 ±33,98	23,15 ±8,82	13,25 ±7,86
	CCh (n=3)	0,25 ±0,11	23,3 ±9,98	4,83 ±4,01	2,67 ±2,20	34,67 ±31,95	114,0 ±59,64	12,67 ±11,6	22,67 ±6,66
	Con (n=13)	0,25 ±0,08	17,32 ±7,37	5,83 ±3,11	2,57 ±1,52	23,23 ±12,69	80,23 ±21,42	19,74 ±15,9	18,79 ±5,86
Valeur de p		*NS*	*NS*	*NS*	*NS*	*S (CCvCon)*	*NS*	*NS*	*NS*

Créa : créatinine ; CK : créatinine kinase ; ALAT : Alanine aminotransférase ; ASAT : aspartate aminotransférase ; GGT : gamma-glutamyltransferase ; Bili-T : bilirubine totale ; Bili-D : bilirubine directe.

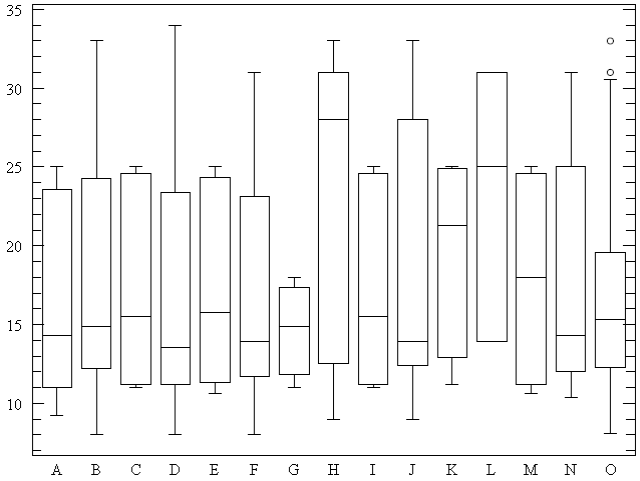
CC : cas clinique ; CCh : cas chronique ; Con : contrôle.

S : significatif ($p<0,05$) ; NS : non significatif ($p>0,05$).

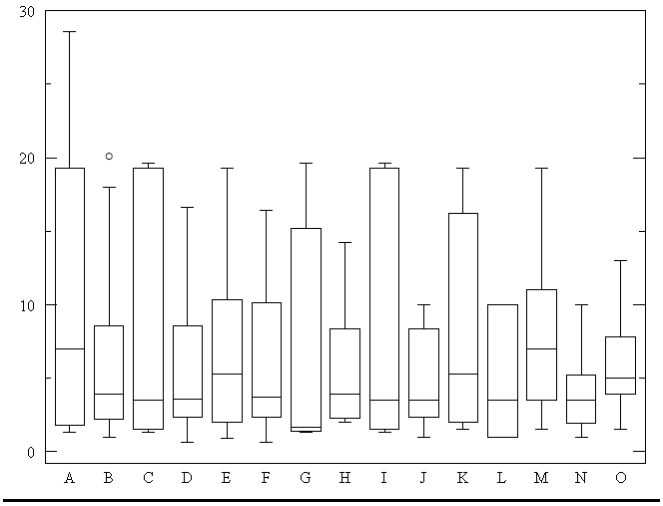
Urée (g/l)



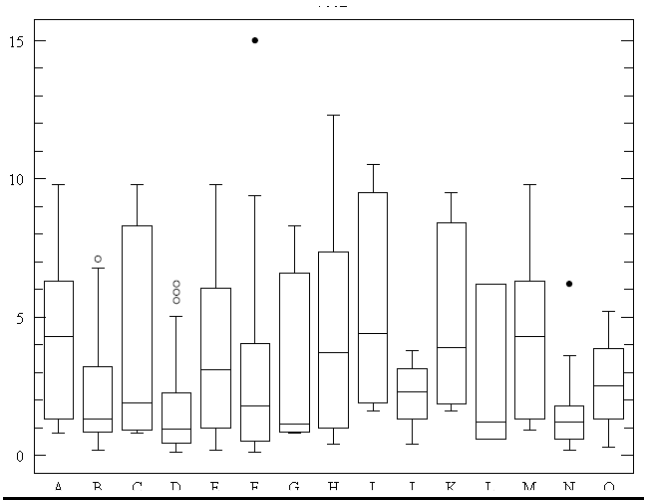
Créatinine (mg/l)



Bilirubine totale (mg/L)



Bilirubine directe (mg/L)

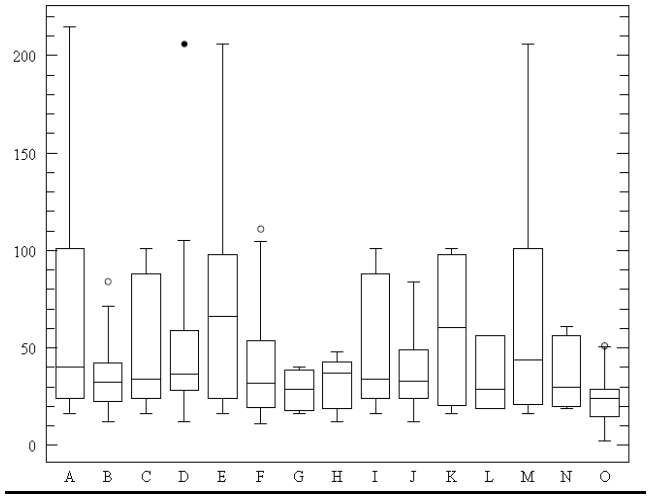


A: *B. bovis* CC ; **B**: *B. bovis* CCh ; **C**: *B. bigemina* CC ; **D**: *B. bigemina* CCh ; **E**: *A. marginale* CC ; **F**: *A. marginale* CCh ; **G**: *A. phagocytophilum* CC ; **H**: *A. phagocytophilum* CCh ; **I**: Co-infection *B.bovis-B.bigemina* CC ; **J**: Co-infection *B.bovis-B.bigemina* CCh ; **K**: *B.bovis-B.bigemina-A.marginale* CC ; **L**: *B.bovis-B.bigemina-A.marginale* CCh ; **M**: Co-infection *B.bovis-A.marginale* CC ; **N**: Co-infection *B.bovis-A.marginale* CCh ; **O**: groupe contrôle.

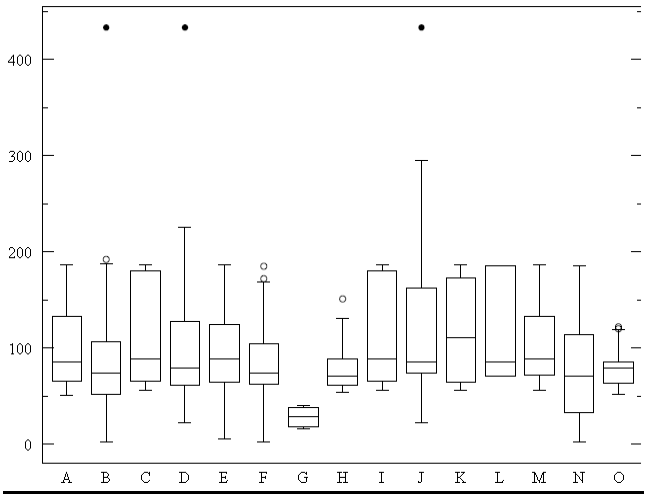
CC : cas clinique ; CCh : cas chronique

Figure 30: Représentation en boîte à moustaches de la répartition des valeurs selon les paramètres (urée, créatinine, bilirubine totale et bilirubine directe) et les groupes d'animaux

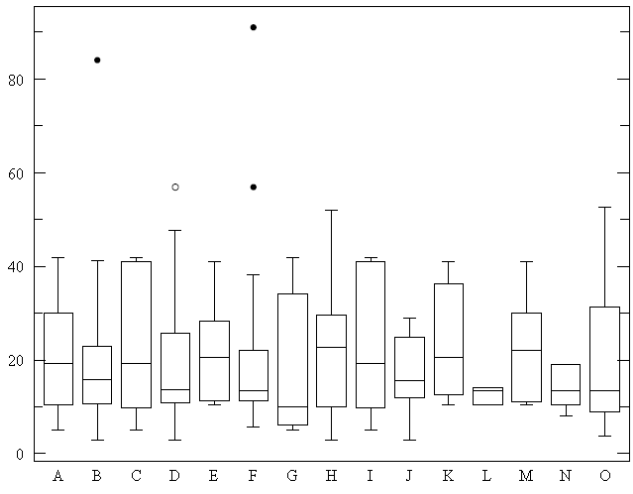
ALAT (UI/L)



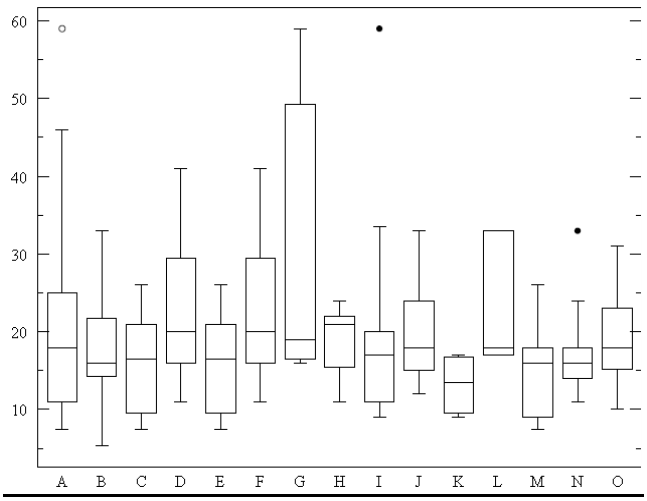
ASAT (UI/L)



Créatinine kinase (UI/L)



GGT (UI/L)



A: *B. bovis* CC ; **B**: *B. bovis* CCh ; **C**: *B. bigemina* CC ; **D**: *B. bigemina* CCh ; **E**: *A. marginale* CC ; **F**: *A. marginale* CCh ; **G**: *A. phagocytophilum* CC ; **H**: *A. phagocytophilum* CCh ; **I**: Co-infection *B.bovis-B.bigemina* CC ; **J**: Co-infection *B.bovis-B.bigemina* CCh ; **K**: *B.bovis-B.bigemina-A.marginale* CC ; **L**: *B.bovis-B.bigemina-A.marginale* CCh ; **M**: Co-infection *B.bovis-A.marginale* CC ; **N**: Co-infection *B.bovis-A.marginale* CCh ; **O**: groupe contrôle.

CC : cas clinique ; CCh : cas chronique

Figure 31: Représentation en boîte à moustaches de la répartition des valeurs selon les paramètres (ALAT, ASAT, CK et GGT) et les groupes d'animaux

III. 6. Étude épidémiologique des populations de tiques rencontrées chez le bovin

III. 6.1 Identification morphologique des différentes espèces de tiques récoltées

L'étude morphologique des 193 tiques récoltées a permis d'identifier la présence de 8 espèces appartenant à deux genres différents : *Hyalomma* (93,78%) et *Rhipicephalus* (6,22%). Le tableau (30) reprend les différentes espèces identifiées et leur fréquence.

Tableau 30: Effectif et proportion des espèces de tiques récoltées

Genres	Espèces	Effectif	Proportion (%)
Rhipicephalus	*(Boophilus) annulatus*	6	3,11
	sanguineus	6	3,11
Sous total		12	6,22
Hyalomma	*lusitanicum*	132	68,39
	marginatum marginatum	32	16,58
	detritum detritum	2	1,04
	anatolicum excavatum	4	2,07
	impeltatum	5	2,59
	marginatum rufipes	2	1,04
	spp	4	2,07
Sous total		181	93,78
Total		193	100

Les différentes espèces de tiques identifiées sont les suivantes :

- *Hyalomma lusitanicum* : 68,91% des tiques identifiées appartenaient à *H. lusitanicum*. C'est de loin l'espèce la plus dominante dans cette région d'étude. Elle a été surtout récoltée durant les mois de juin, juillet et octobre, principalement dans les communes de Draria, Beni Messous et Ouled Fayet. C'est une espèce à cycle triphasique, ditrope (voir figure 32).

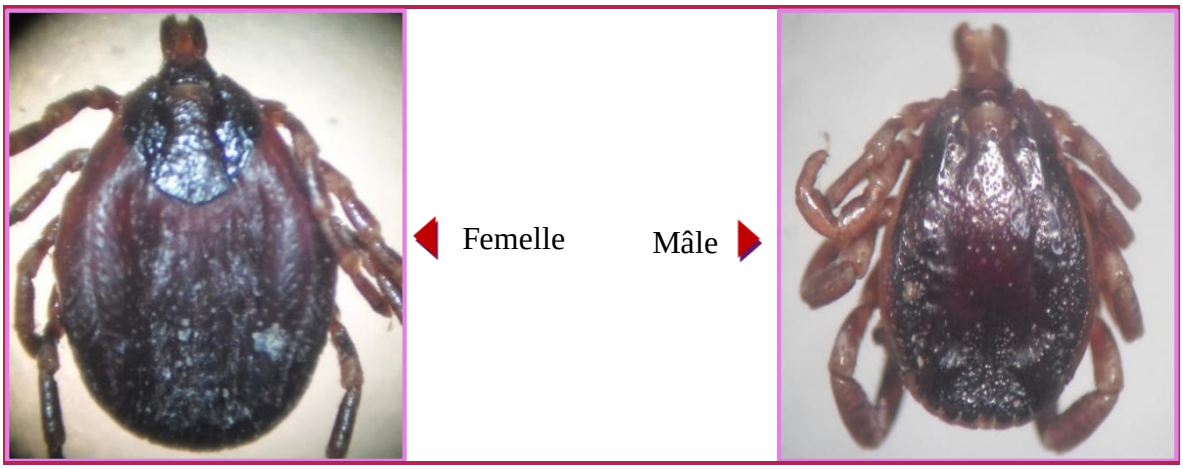


Figure 32: *H. lusitanicum* femelle et mâle en vue dorsale (Photos Personnelle, 2013).

- *Hyalomma marginatum marginatum* : Elle a été surtout récoltée entre les mois de juillet et d'août, dans les communes de Reghaia et Zeralda, avec une proportion de 16,58 % (voir figure 33). Espèce thermophile à cycle triphasique, ditrope.

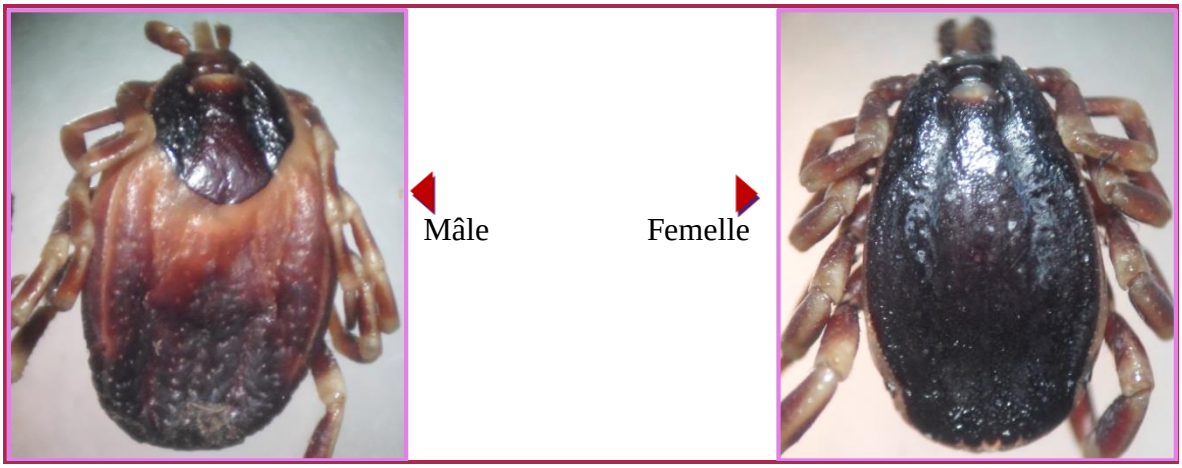


Figure 33: *H. m. marginatum* femelle et mâle en vue dorsale (Photos Personnelle, 2013).

- *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* : Il s'agit de la principale espèce intervenant dans la transmission de la babésiose et de l'anaplasmose en Algérie, à cycle monoxène monotrope. Sur les 193 tiques identifiées, seulement 6 spécimens appartenaient à cette espèce, soit une proportion de 3,11 %. Parmi ces 6 spécimens, 4 ont été récoltés durant le mois de mai au niveau de la commune de Draria et les 2 autres ont été récoltés durant le mois d'août à Zeralda (voir figure 34).

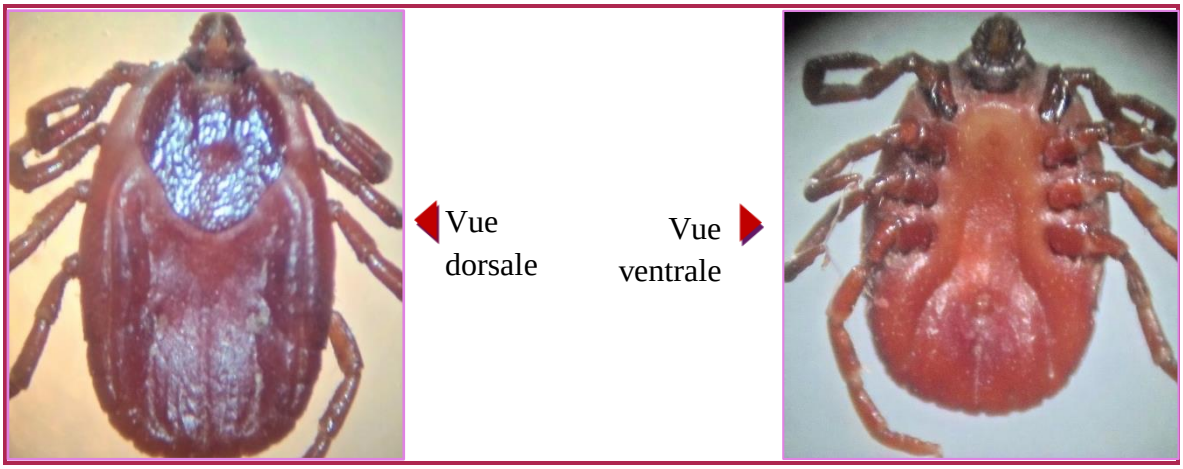


Figure 34: *Rh. (Boophilus) annulatus* femelle en vue dorsale et ventrale (Photos Personnelle, 2013).

- ***Hyalomma detritum detritum*** **:** C'est le vecteur de la theilériose bovine en Algérie à *T. annulata*. Espèce considérée comme « domestique », elle vit sur les pâturages et dans les étables, à cycle trixène monotrope. De même, cette tique a été retrouvée avec une faible proportion (1,04 %). Elle a été récoltée durant le mois de juillet à Draria (voir figure 35).

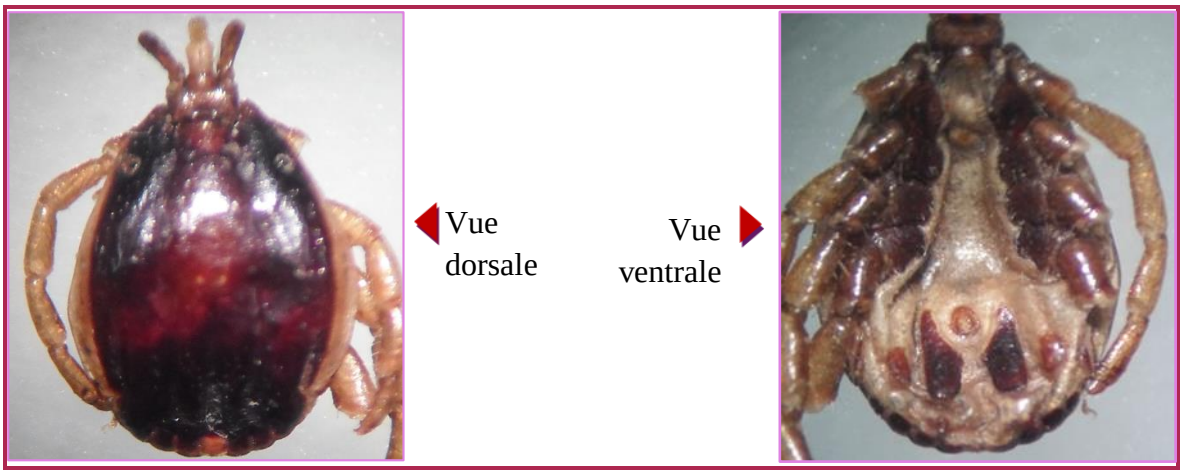


Figure 35: *H. d. detritum* mâle en vue dorsale et ventrale (Photos Personnelle, 2013)

- Les autres espèces identifiées ont également présenté des proportions très faibles sur les bovins prélevés, il s'agit de : ***Hyalomma anatolicum excavatum et Hyalomma impeltatum*** avec une proportion de 2.07 % et 2.59 % respectivement, récoltées toutes les deux durant le mois d'août et de ***Rhipicephalus sanguineus*** avec une proportion de 3,11% récoltée durant le mois de mai (voir figure 36). Cette dernière est une tique de chien nettement thermophile, tous les bovins infestés (100%) cohabitaient avec des chiens.

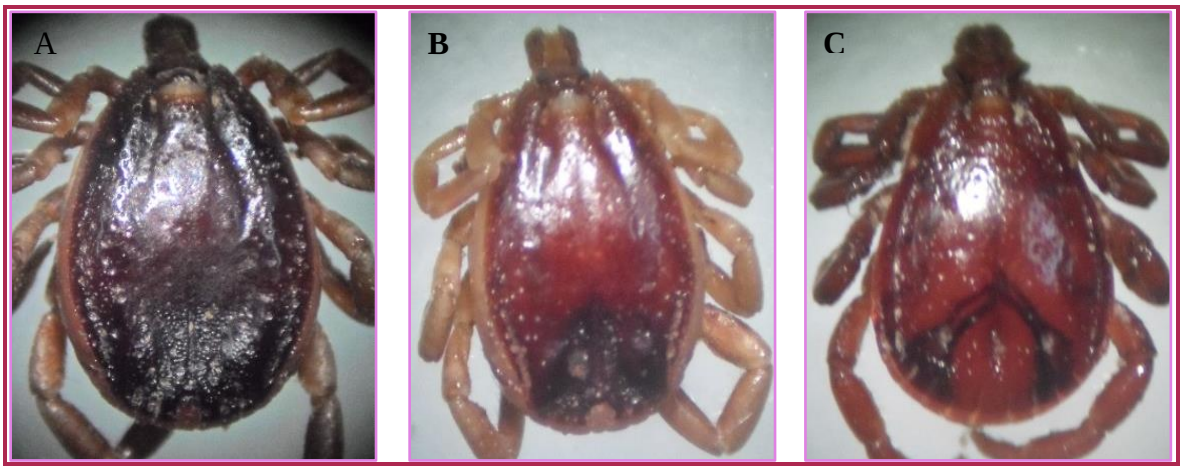


Figure 36: *H. anatolicum excavatum* mâle (A), *H. impeltatum* mâle (B) et *Rh. sanguineus* mâle (C) en vue dorsale (Photos Personnelle, 2013)

- Dans la présente étude nous avons pu identifier la présence de ***Hyalomma marginatum rufipes***. C'est une tique des régions subsahariennes d'Afrique à cycle triphasique ditrope. Nous avons récolté 2 spécimens, soit une proportion de 1,04%, chez un veau âgé de 10 mois au niveau des marges de l'anus. Le prélèvement a eu lieu au mois d'octobre, dans la commune d'Ain Benian (voir figure 37).

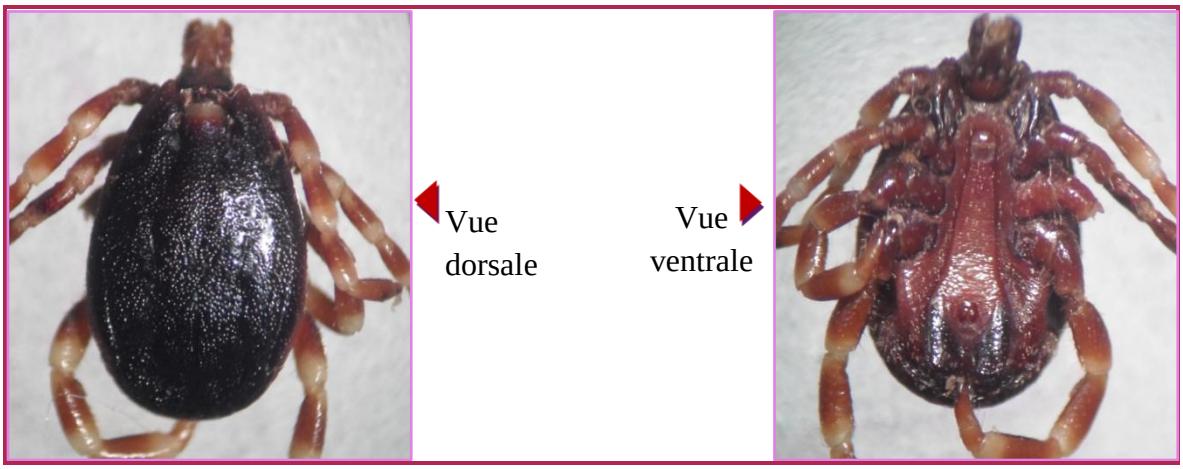


Figure 37: *H. m. rufipes* mâle en vue dorsale et ventrale (Photos Personnelle, 2013)

- *Hyalomma spp* : Enfin, nous avons mis en évidence une nouvelle espèce du genre *Hyalomma* jamais répertoriée en Afrique du Nord. 4 spécimens ont été récoltés sur une vache âgée de 5 ans durant le mois de juillet, dans un élevage situé dans la commune de Draria. Sur le plan morphologique, cette tique est caractérisée principalement par un prolongement exagéré des plaques accessoires contrairement aux autres espèces de Hyalomma identifiées jusqu'ici (voir figure 38).

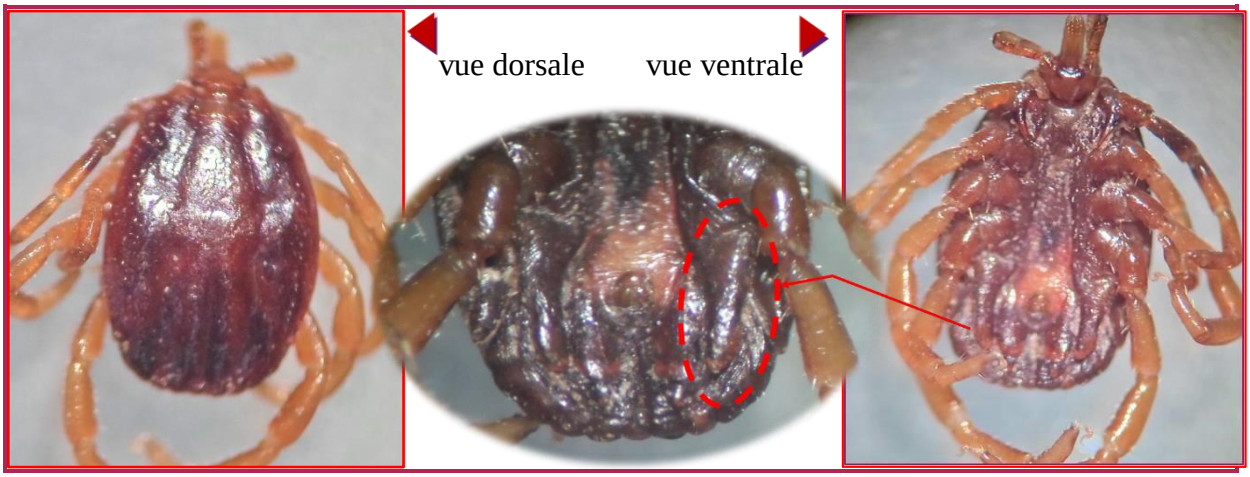


Figure 38: *Hyalomma spp* mâle en vue dorsale et ventrale (Photos Personnelle, 2013)

III. 6.2 Prévalence des tiques Ixodidés chez le bovin et identification des facteurs de risque associés

1. Prévalence globale

Sur les 200 bovins examinés, 36 ont été infestés avec au moins une espèce de tique, soit une prévalence globale de 18% (IC 95% 12,57% - 23,43%).

L'effectif total des tiques récoltées a été de 193 tiques, réparties en 143 mâles et 50 femelles. Toutes les tiques ont été prélevées au stade adulte, aucune larve ou nymphe n'ont été identifiées.

2. Prévalence par espèce de tique identifiée chez le bovin

L'évaluation du taux d'infestation par espèce de tique identifiée montre une large prédominance de *H. lusitanicum* (13%), suivi de *H. m. marginatum* (4%). La prévalence de l'infestation des bovins par les autres espèces de tiques est moins importante : *Rh. sanguineus* (1,5%), *Rh. annulatus* (1,5%), *H. ana. excavatum* (1%), *H. d. detritum* (0,5%), *H. m. rufipes* (0,5%) et enfin, *Hyalomma spp* (0,5%) (voir tableau 31et figure 39).

Il convient aussi de signaler que des infestations simultanées ou mixtes (par 2 et 3 espèces de tiques) ont été constatées chez les bovins parasités :

- *H. lusitanicum* + *H. marginatum* (1,5%)
- *H. lusitanicum* + *H. d. detritum* (0,5%)
- *H. lusitanicum* + *Hyalomma spp* (0,5%)
- *H. marginatum* + *H. ana. excavatum* (1%)
- *Rh. annulatus* + *Rh. Sanguineus* (0,5%)
- *H. lusitanicum* + *H. marginatum* + *H. impeltatum* (0,5%)
- *H. marginatum* + *H. impeltatum* + *Rh. annulatus* (0,5%).

Tableau 31: Prévalence par espèce de tique identifiée chez le bovin

Espèces	Nombre de bovins infestés	Prévalence (%) (IC 95%)
Rh. (Boophilus) annulatus	3	1,50 (-0,22 – 3,22)
Rh. sanguineus	3	1,50 (-0,22 – 3,22)
H. lusitanicum	26	13,00 (8,24 – 17,76)
H. m. marginatum	8	4,00 (1,23 – 6,77)
H. d. detritum	1	0,50 (-0,50 – 1,50)
H. ana. excavatum	2	1,00 (-0,41 – 2,41)
H. impeltatum	3	1,50 (-0,22 – 3,22)
H. m. rufipes	1	0,50 (-0,50 – 1,50)
Hyalomma spp	1	0,50 (-0,50 – 1,50)

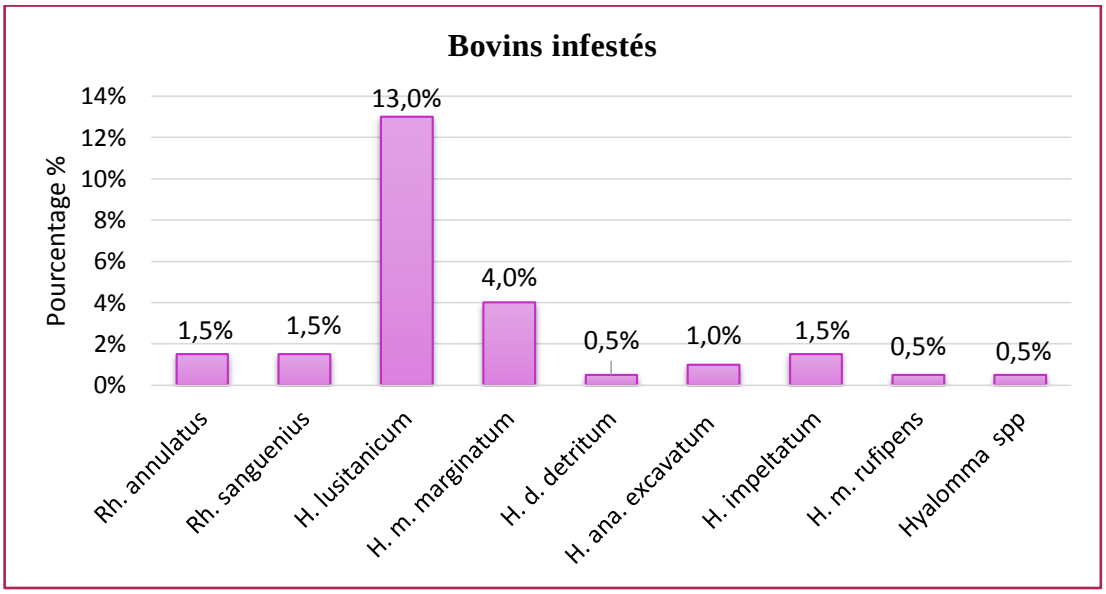


Figure 39: Prévalence des infestations par espèce de tique chez le bovin

3. Identification des facteurs de risque potentiels associés à une infestation par les tiques

Nous avons étudié certains facteurs de risque susceptibles d'influencer positivement ou négativement l'infestation des bovins par les tiques. Les facteurs considérés sont : le sexe, l'âge, la race, l'origine du bovin, l'état d'hygiène de la ferme, la pratique du pâturage, la saison et la zone AGE.

Les résultats consignés dans le tableau (32) révèlent que seuls les facteurs tels l'état d'hygiène de la ferme, la zone AGE, la commune ou encore la saison qui se sont montrés significativement associés à la présence des tiques ($p < 0,01$).

Si on considère l'état d'hygiène de la ferme, nous remarquons que plus l'hygiène est mauvaise, plus le taux d'infestation par les tiques est élevé (voir figure 40 A).

Pour la saison, la prévalence de l'infestation des bovins par les tiques est nettement plus élevée en été (51,22 %) comparée à l'automne et au printemps (16,67 % et 8,47 % respectivement), alors qu'elle est de 0 % en hiver (voir figure 40 B).

Si on regarde plus en détail la zone prospectée, on constate que les bovins de la région du Sahel algérois se sont révélés plus exposés avec une prévalence de 32,89 %, suivis par le Littoral avec une prévalence de 15,38 %. Les bovins de la Mitidja ont montré le taux d'infestation le plus bas de 4,17 % (voir figure 40 C).

Si on tient compte maintenant de la prévalence en fonction des communes infestées par les tiques, on note que, les communes de Beni-messous (84,62 %) et de Draria (40 %) situées dans le Sahel algérois et la commune de Zeralda (31,58 %) située dans le Littoral algérois, étaient les plus exposées. Les taux d'infestation obtenus par commune sont présentés dans le tableau (33) et la figure (41).

Tableau 32: Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une infestation des bovins par les tiques

Variables	n	Infestation par les tiques (%) (IC 95%)	Valeur *p*	Signification
Sexe				
Femelles	167	19,76 (13,60 – 25,92)	0,1	*NS*
Mâles	33	9,09 (-0,92 – 19,10)		
Age (mois)				
< 12	35	8,57 (-0,89 – 18,04)		
13-24	49	14,29 4,29 – 24,28)	0,1	*NS*
> 25	116	22,41 (14,67 – 30,16)		
Race				
Européenne	74	12,16 (4,56 – 19,76)		
Croisée	110	22,73 (14,74 – 30,72)	0,1	*NS*
Locale	16	12,50 (-4,04 – 29,04)		
Origine				
Importée	55	12,73 (3,74 – 21,72)		
Natives	128	20,31 (13,20 – 27,42)	0,4	*NS*
Achetée	17	17,65 (-0,84 – 36,14)		
État d'hygiène				
Bon	43	0,00 (0,00 – 0,00)		
Moyen	98	6,12 (1,28 – 10,97)	0,000	*TS*
Mauvais	59	50,85 (37,83 – 63,86)		
Pâturage				
Oui	153	20,92 (14,34 – 27,49)	0,052	*NS*
Non	47	8,51 (0,37 – 16,56)		
Saison				
Automne	60	16,67 (7,04 – 26,29)		
Été	41	51,22 (35,61 – 66,83)	0,000	*TS*
Hiver	40	0,00 (0,00 – 0,00)		
Printemps	59	8,47 (1,22 – 15,73)		
Zone AGE				
Littoral	52	15,38 (5,38 – 25,39)		
Mitidja	72	4,17 (-0,54 – 8,88)	0,000	*TS*
Sahel	76	32,89 (22,12 – 43, 67)		

TS : très significatif (p < 0.01) ; S : significatif (p < 0,05) ; NS : non significatif (p > 0,05)

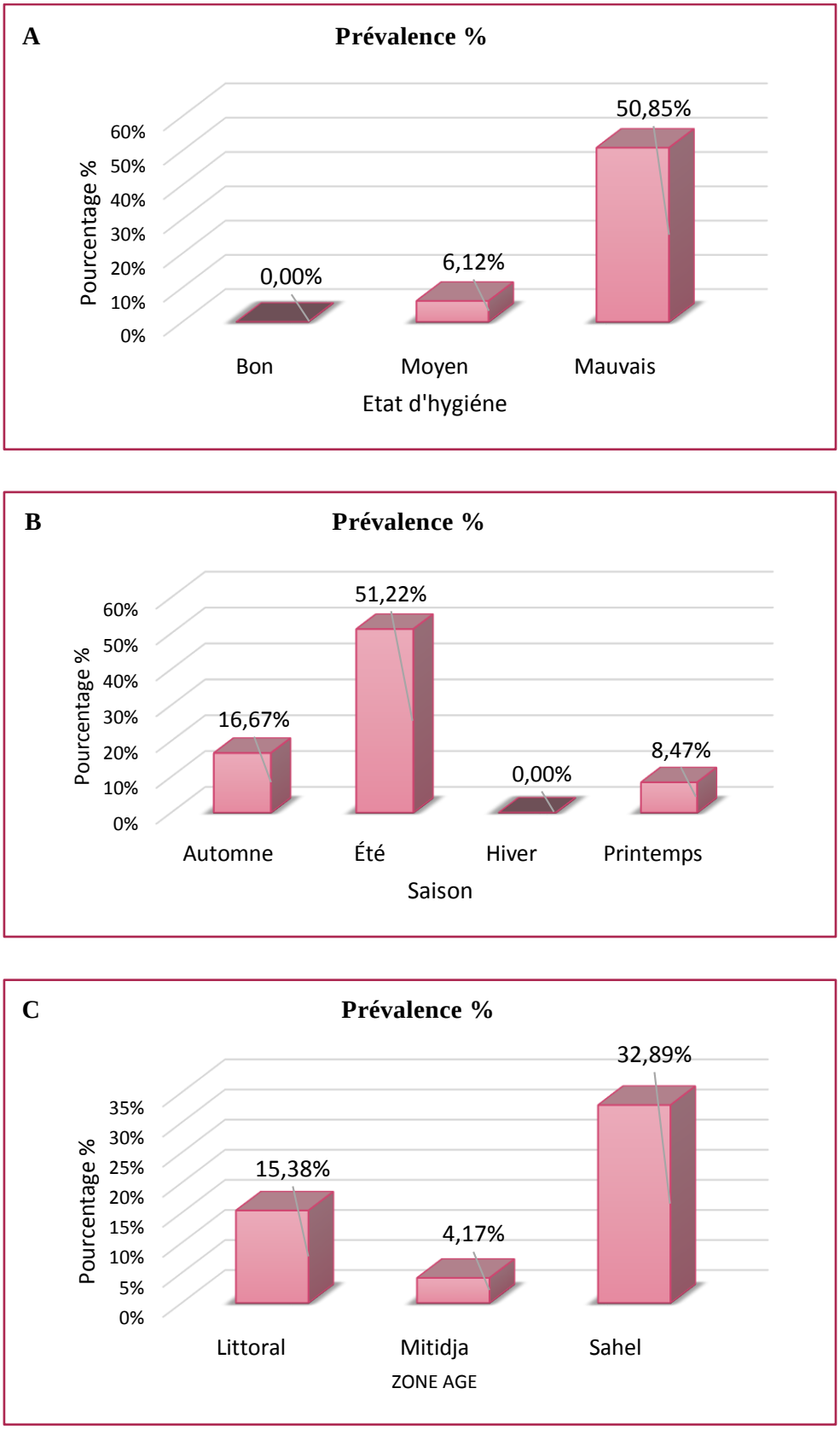


Figure 40: Variation de la prévalence de l'infestation des bovins par les tiques en fonction de d'état d'hygiène de la ferme (A), la saison (B) et de la zone AGE (C).

Tableau 33: Prévalence de l'infestation des bovins par les tiques en fonction des communes

Commune	**Nombre de positifs**	**Prévalence (%) (IC 95%)**
Sahel		
Ouled Fayet	6/23	26,09 (7,77 – 44,40)
Khraicia	0/10	0,00 (0,00 - 0,00)
Souidania	0/10	0,00 (0,00 – 0,00)
Draria	8/20	40,00 (18,09 – 61,91)
Béni Messous	11/13	84,62 (64,60 – 104,63)
P		***0,03 (S)***
Littoral		
Cheraga	0/18	0,00 (0,00 – 0,00)
Ain Taya	1/9	11,11 (-9,84 – 32,06)
Zeralda	6/19	31,58 (10,25 – 52,91)
Ain Benian	1/6	16,67 (-13,76 – 47,10)
P		***0,03 (S)***
Mitidja		
Rouiba	0/18	0,00 (0,00 – 0,00)
Sidi Moussa	0/10	0,00 (0,00 – 0,00)
Reghaia	3/12	25,00 (0,00 – 0,50)
Eucalyptus	0/9	0,00 (0,00 – 0,00)
Birtouta	0/13	0,00 (0,00 – 0,00)
Dar El Beida	0/10	0,00 (0,00 – 0,00)
P		***0,009 (TS)***
Total	36/200	18 (12,57 - 23,43)

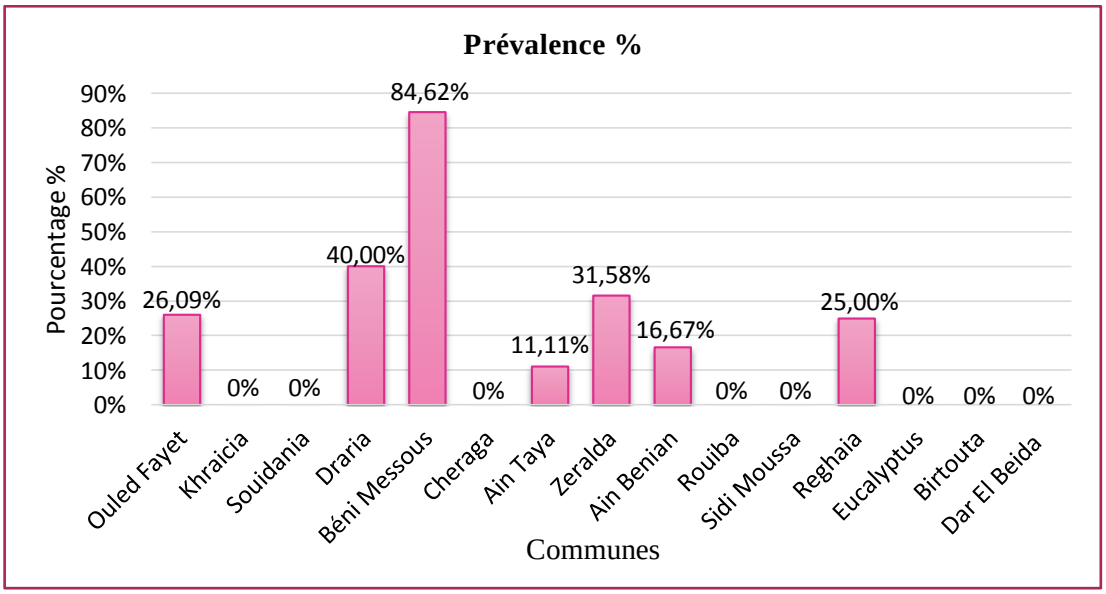


Figure 41: Distribution des bovins infestés par les tiques par commune

III. 7. Étude de la relation entre la présence de tiques et la prévalence des 4 hémopathogènes identifiés chez le bovin

Afin de vérifier le rôle vectoriel des différentes tiques identifiées, nous avons mis en relation les résultats de l'étude sur les tiques avec ceux obtenus de l'étude de la prévalence vis-à-vis de *B. bovis*, *B. bigemina*, *A. marginale* et *A. phagocytophilum*. Ainsi, nous avons recherché l'existence d'une association statistiquement significative entre la présence des différentes espèces de tiques sur le bovin et la positivité par FS et/ou sérologie aux 4 hémopathogènes identifiés (tableau 34) :

- ***B. bovis***

Si on considère la prévalence parasitologique (par FS) de *B. bovis*, on constate que celle-ci a varié de façon statistiquement significative en fonction de la présence de *Rh. annulatus* ($p < 0,05$; OR=37), vecteur présumé de *B. bovis* en Algérie. Ceci n'a pas été le cas, si on prend en considération la prévalence sérologique de *B. bovis* ($p > 0,05$).

De façon surprenante, le nombre de bovins positifs par FS et par sérologie est plus important chez les bovins infestés par *H. lusitanicum* que chez les bovins non infestés ($p < 0,01$; OR=4,81 et 4,95 respectivement). De même, les prévalences de *B. bovis* (par FS et sérologie) ont été significativement plus élevées chez les bovins infestés par *H. m. marginatum* ($p < 0,05$; OR=4,5 et 9,19 respectivement) en comparaison avec les bovins non infestés par cette espèce de tique. Il y a également, une association significative entre les bovins positifs par FS et l'infestation par *H. ana. excavatum* ($p < 0,05$; OR=25,61).

En revanche, aucune relation significative n'a été observée entre les prévalences (par FS et sérologie) vis-à-vis de *B. bovis* et la présence de *Rh. sanguineus, H. d. detritum, H. impeltatum, H. m. rufipes* ainsi que *Hyalomma spp* ($p > 0,05$).

- ***B. bigemina***

Globalement, nous avons pu mettre en évidence une association qui s'est avérée significative entre les bovins positifs aux FS à *B. bigemina* et l'infestation par *H. lusitanicum, H. d. detritum* et *Hyalomma spp* ($p < 0,05$; OR=3,5 ; 35,7 et 33,54 respectivement). En revanche, aucune différence significative n'a été retrouvée entre la séroprévalence de *B. bigemina* et l'infestation par ces mêmes espèces de tiques ($p > 0,05$).

Aucune différence significatives n'est constatée entre les prévalences de *B. bigemina* (par FS et sérologie) et l'infestation par *Rh. annulatus, Rh. sanguineus, H. m. marginatum, H. ana. excavatum, H. impeltatum* et *H. m. rufipes* ($p > 0,05$).

- ***A. marginale***

Pour le cas d'*A. marginale,* nous remarquons que la proportion des bovins positifs par FS et par sérologie est significativement plus élevée chez les bovins infestés par *H. lusitanicum,* comparativement aux bovins non infestés par cette tique ($p < 0,01$; OR=3,47 et 3,42 respectivement). Il en est de même pour *H. m. marginatum* ($p < 0,05$; OR=16,91 et 24,27 respectivement pour les prévalences obtenues par FS et par sérologie).

Une association significative a été mise en évidence chez les bovins positifs à *A. marginale* par FS et infestés par *H. ana. excavatum et H. impeltatum,* ($p < 0,05$; OR=27,62 et 39 respectivement). Cela n'a pas été le cas si l'on considère la prévalence d'*A. marginale* obtenue par sérologie et la présence des 2 espèces de tiques ($p > 0,05$).

Aucune relation statistiquement significative n'a été retrouvée entre la positivité vis-à-vis d'*A. marginale* (par FS et sérologie) et la présence de *Rh. annulatus, Rh. sanguineus, H. d. detritum, H. m. rufipes* et *Hyalomma spp* sur les bovins ($p > 0,05$).

- ***A. phagocytophilum***

Enfin, aucune association significative n'a été mise en évidence entre la présence des différentes espèces de tiques et les prévalences obtenues par FS et/ou par sérologie vis-à-vis d'*A. phagocytophilum* ($p > 0,05$).

Tableau 34: Relation entre la présence des différentes espèces de tiques et les prévalences obtenues pour des 4 hémopathogènes chez le bovin

	Nombre de positifs (prévalence en %)							
Agents pathogènes / Tiques	***B. bovis* (%)**		***B.bigemina* (%)**		***A. marginale* (%)**		***A. phagocytophilum* (%)**	
	FS (+)	Sérologie(+)	FS (+)	Sérologie(+)	FS (+)	Sérologie(+)	FS (+)	Sérologie(+)
***Rh. annulatus* (+)**	100	100	33,3	66,7	66,7	66,7	0	0
***Rh. annulatus* (-)**	15,7	44,4	7,6	31,5	15,2	43,1	5,1	19,8
Odd Ratio (IC 95%)	37 (1,86-734,1)	8,84 (0,45-173,4)	6,06 (0,5-70,83)	4,35 (0,38-48,39)	11,13 (0,9-126,6)	2,63 (2,23-29,45)	2,55 (0,12-52,7)	0,57 (0,02-11,3)
valeur de *P*	0,01 (*TS*)	0,1 *(NS)*	0,1 (NS)	0,2 (NS)	0,05 (NS)	0,4 (NS)	0,54 (NS)	0,7 (NS)
***Rh. sanguineus* (+)**	33,3	33,3	33,3	66,7	66,7	66,7	33,3	33,3
***Rh. sanguineus* (-)**	16,8	45,2	7,6	31,5	15,2	43,1	4,6	19,3
Odd Ratio (IC 95%)	2,48 (0,21-28,2)	0,6 (0,05-6,8)	6,06 (0,51-70,8)	4,35 (0,38-48,93)	11,13 (0,9-126,6)	2,62 (0,23-29,54)	10,44 (0,8-126,2)	2,09 (0,18-23,7)
valeur de *P*	0,4 *(NS)*	0,6 *(NS)*	0,1 *(NS)*	0,2 *(NS)*	0,05 *(NS)*	0,43 *(NS)*	0,06 *(NS)*	0,5 *(NS)*
***H. lusitanicum* (+)**	42,3	76,9	19,2	46,2	34,6	69,2	7,7	7,7
***H. lusitanicum* (-)**	13,2	40,2	6,3	29,9	13,2	39,7	4,6	21,3
Odd Ratio (IC 95%)	4,81 (1,97-11,8)	4,95 (1,89-12,95)	3,5 (1,1-11,15)	2,01 (0,87-4,64)	3,47 (1,38-8,71)	3,42 (1,4-8,3)	1,72 (0,34-8,62)	0,3 (0,06-1,36)
valeur de *P*	0,0006 (*TS*)	0,001 (*TS*)	0,03 *(S)*	0,1 *(NS)*	0,007 (*TS*)	0,006 (*TS*)	0,5 *(NS)*	0,1 *(NS)*

Tableau 34 (suite): Relation entre la présence des espèces de tiques et les prévalences obtenues pour des 4 hémopathogènes chez le bovin

	Nombre de positifs (prévalence en %)							
Agents pathogènes / Tiques	***B. bovis* (%)**		***B.bigemina* (%)**		***A. marginale* (%)**		***A. phagocytophilum* (%)**	
	FS (+)	Sérologie(+)	FS (+)	Sérologie(+)	FS (+)	Sérologie(+)	FS (+)	Sérologie(+)
***H. marginatum* (+)**	50	87,5	25	50	100	100	12,5	0
***H. marginatum* (-)**	15,6	43,2	7,3	31,3	12,5	41,1	4,7	20,3
Odd Ratio (IC 95%)	5,4 (1,27-22,8)	9,19 (1,1-76,18)	4,23 (0,78-22,97)	2,2 (0,53-9,09)	16,91 (6,5-290,2)	24,27 (1,38-426,5)	2,19 (0,2-19,8)	0,22 (0,01-4,04)
valeur de *P*	0,02 *(S)*	0,03 *(S)*	0,09 *(NS)*	0,2 *(NS)*	0,001 *(TS)*	0,02 *(S)*	0,4 *(NS)*	0,3 *(NS)*
***H. d. detritum* (+)**	100	100	100	100	0	0	0	0
***H. d. detritum* (-)**	16,6	44,7	7,5	31,7	16,1	43,7	5	19,6
Odd Ratio (IC 95%)	14,91 (0,9-373,9)	3,7 (0,5-92,03)	35,7 (1,39-913,9)	6,44 (0,25-160,5)	1,71 (0,06-43,1)	0,42 (0,01-10,64)	6,01 (0,2-156,7)	1,35 (0,05-33,8)
valeur de *P*	0,1 *(NS)*	0,4 *(NS)*	0,03 *(S)*	0,2 *(NS)*	0,7 *(NS)*	0,6 *(NS)*	0,2 *(NS)*	0,8 *(NS)*
***H. ana. excavatum* (+)**	100	100	0	0	100	100	0	0
***H. ana. excavatum*(-)**	16,2	44,4	8,1	32,3	15,2	42,9	5,1	19,7
Odd Ratio (IC 95%)	25,61 (1,2-546,1)	6,24 (0,29-131,7)	2,21 (0,1-48,03)	0,41 (0,01-8,8)	27,62 (1,3-589,6)	6,63 (0,3-140,06)	3,59 (0,16-79,6)	0,8 (0,03-17,2)
valeur de *P*	0,03 *(S)*	0,2 *(NS)*	0,6 *(NS)*	0,5 *(NS)*	0,03 *(S)*	0,2 *(NS)*	0,4 *(NS)*	0,8 *(NS)*

Tableau 34 (suite): Relation entre la présence des espèces de tiques et les prévalences obtenues pour des 4 hémopathogènes chez le bovin

	Nombre de positifs (prévalence en %)							
Agents pathogènes / Tiques	***B. bovis* (%)**		***B.bigemina* (%)**		***A. marginale* (%)**		***A. phagocytophilum* (%)**	
	FS (+)	Sérologie(+)	FS (+)	Sérologie(+)	FS (+)	Sérologie(+)	FS (+)	Sérologie(+)
***H. impeltatum* (+)**	33,3	33,3	0	33,3	100	100	0	0
***H. impeltatum* (-)**	16,8	45,2	8,1	32,0	14,7	42,6	5,1	19,8
Odd Ratio IC (95%)	2,48 (0,2-28,2)	0,6 (0,05-6,8)	1,57 (0,07-31,7)	1,06 (0,09-11,9)	39 (2,1-794,2)	9,4 (0,5-184,5)	2,55 (0,12-52,7)	0,57 (0,02-11,3)
valeur de *P*	0,4 *(NS)*	0,6 *(NS)*	0,7 *(NS)*	0,9 *(NS)*	0,01 *(S)*	0,1 *(NS)*	0,5 *(NS)*	0,7 *(NS)*
***H. rufipes* (+)**	0	0	0	100	100	100	0	0
***H. rufipes* (-)**	17,1	45 ,2	8	31,7	15,6	43 ,2	5	19,6
Odd Ratio IC (95%)	1,5 (0,06-40,1)	0,4 (0,01-10,02)	3,7 (0,14-94,6)	6,44 (0,25-160,5)	16,04 (0,6-402,9)	3,93 (0,15-97,8)	6,01 (0,2-156,7)	1,35 (0,05-33,88)
valeur de *P*	0,7 *(NS)*	0,5 *(NS)*	0,4 *(NS)*	0,2 *(NS)*	0,09 *(NS)*	0,4 *(NS)*	0,2 *(NS)*	0,8 *(NS)*
***Hyalomma spp* (+)**	100	100	100	100	100	100	0	0
***Hyalomma spp* (-)**	16,6	44,7	7,5	31,7	15,6	43,2	5	19,6
Odd Ratio IC (95%)	14,91 (0,6-373,9)	3,7 (0,14-92,03)	33,54 (1,3-856,5)	6,44 (0,25-160,5)	16,04 (0,6-402,9)	3,93 (0,5-97,82)	6,01 (0,2-156,7)	1,35 (0,05-33,88)
valeur de *P*	0,1 *(NS)*	0,4 *(NS)*	0,03 *(S)*	0,2 *(NS)*	0,09 *(NS)*	0,4 *(NS)*	0,2 *(NS)*	0,8 *(NS)*

TS : très significatif ($p < 0.01$) ; S : significatif ($p < 0,05$) ; NS : non significatif ($p > 0,05$) ; FS : frottis sanguin

IV. Discussion

En Algérie, l'existence de la babésiose à *B. bovis* et à *B. bigemina*, ainsi que l'anaplasmose à *A. marginale*, a été signalée depuis l'époque coloniale vers les années 1922 par les chercheurs français de l'institut Pasteur d'Algérie (Sergent et *al.*, 1945). Depuis, ces maladies transmises par les tiques sont considérées comme le principal fléau pour le développement de l'élevage bovin dans tout le pays. Même si les données épidémiologiques sont demeurées longtemps fragmentaires. De plus, les rares études réalisées jusqu'ici ont utilisé la technique du frottis sanguin comme méthode de diagnostic, et qui est de faible sensibilité par rapport aux tests sérologiques.

Notre étude fournit, pour la première fois, des informations sur les séroprévalences et les facteurs de risques susceptibles d'influencer sur les infections et co-infections par *Babesia spp* et *Anaplasma spp* en Algérie.

IV. 1 Protocole de l'étude et biais de conception

Avant de faire l'analyse des résultats obtenus dans cette étude, il nous paraît nécessaire de discuter le protocole général de l'enquête, afin de faire ressortir ses qualités et ses défauts.

1. Méthode d'échantillonnage

L'étude réalisée est de type transversale, sur un effectif de 200 bovins dans une région qui en héberge environ 13000 bovins (DSA, 2013), ce qui correspond à un taux d'échantillonnage de 1,5%. L'idéal aurait été de prélever 10% de la population bovine de la région pour obtenir une meilleure précision des résultats, mais devant les charges très importante des travaux effectués dans cette étude séroepidémiologique, cela n'a pas pu se réaliser par faute de temps (en raison de la durée limitée de l'étude).

Même si les élevages ont pu être sélectionnés de manière aléatoire (tirage au sort), il nous fallait l'accord des éleveurs pour prélever leurs bovins et certains n'ont pas souhaité participer à l'étude. Par conséquent, ceci créée un certain biais de sélection. D'autre part, pour le choix des bovins à prélever au sein de chaque ferme, nous pensions que dans une étable donnée, il serait relativement aisé de prélever au hasard n'importe quel bovin afin d'avoir au final une représentation homogène de l'effectif. Nous nous sommes rapidement rendu compte que certains taureaux d'engraissement étaient inapprochables d'où l'impossibilité de les prélever (faute d'une bonne contention). Ceci explique pourquoi dans notre étude le sexe ratio était en

faveur des femelles (167 femelles prélevées contre 33 mâles). Enfin, hormis ces quelques imperfections, inévitables pour toute enquête transversale, nous devons admettre que l'échantillon prélevé lors de cette étude est considéré comme représentatif de la population bovine de la région d'Alger.

La collecte des prélèvements sanguin s'est effectuée dans le respect des règles d'hygiène et de conservation de la chaîne du froid, tout au long de l'enquête, depuis la récolte jusqu'à l'acheminement au laboratoire.

2. Questionnaire épidémiologique

Nous avons rempli les questionnaires avec les éleveurs des 24 fermes prélevées. Les résultats de ces derniers se fient en grande partie à la mémoire des éleveurs et essentiellement à leur connaissance sur les maladies en question. Or, ces paramètres sont sujets à de grandes variations en fonction de l'âge, du niveau d'instruction et de l'expérience de nos éleveurs. Par conséquent, peu de données objectives ont pu être synthétisées à partir des questionnaires. Le fait de demander ainsi les informations aux éleveurs est un biais, mais c'est aussi un des objectifs du questionnaire : nous avons voulu évaluer la prise en compte réelle de la babésiose et l'anaplasmose sur le terrain.

3. Méthodes de diagnostic employées

Nous avons utilisé comme test de diagnostic direct la méthode du frottis sanguin mince, qui permet de mettre en évidence différents hémopathogènes identifiés sur la base de leurs caractéristiques morphologiques. À l'exception de *B. bovis* qui se concentre dans le sang périphérique (comme celui des capillaires des extrémités) et pour qui les frottis doivent être préparés à partir de ce sang, les autres espèces de *Babesia* et d'*Anaplasma* sont uniformément distribuées dans tous les vaisseaux sanguins. Ainsi du sang provenant de la veine jugulaire peut être utilisé pour confectionner des frottis minces (Bock et *al.*, 2006 ; OIE, 2008 ; Mosqueda et *al.*, 2012). Ceci explique pourquoi nous avons pour chaque animal préparé deux frottis sanguin. Un premier frottis préparé sur place à partir du sang capillaire du bout de l'oreille destiné principalement pour la détection de *B. bovis*, mais également utilisé pour les autres hémopathogènes et un deuxième frottis préparé soigneusement au laboratoire à partir du sang veineux. Le frottis sanguin est une méthode simple, de réalisation rapide et peu coûteuse. Cependant, son inconvénient majeur réside dans le fait que cette méthode ne peut être adaptée qu'à la détection des infections aigues et non recommandée chez les porteurs chroniques pour

lesquels la parasitémie et la bactériémie sont en générale faibles (OIE, 2008, 2010). Dans ce dernier cas la détection des anticorps dirigés contre ces hémopathogènes est l'outil le plus adapté pour évaluer l'importance de ces maladies dans les populations bovines.

Pour le diagnostic sérologique, nous avons utilisé le test IFAT pour déceler les infections *à B. bovis, B. bigemina et A. phagocytophilu*m. Cette technique est la plus couramment employée compte-tenu de sa grande sensibilité et sa bonne spécificité et considérée comme étant le test du référence pour la détection des anticorps dirigés contre ces hémopathogènes (Bose et *al.*, 1995 ; Araujo et *al*., 1998 ; Dumler et Brouqui, 2004 ; OIE, 2005). De plus, elle permet d'obtenir des résultats rapides avec un faible coût. Le défaut majeur de cette technique est la subjectivité liée à l'interprétation des résultats. En effet, si cela ne semble pas poser un problème pour les cas extrêmes, les cas douteux devront être soumis à une lecture en double voire en triple aveugle, ce qui n'a pas été effectué pour cette étude. Néanmoins, les témoins (positifs et négatifs) employés sur chaque lame permettent d'avoir un référentiel stable, et d'éviter toute fluorescence non-spécifique dans le reste des puits, ceci permet en outre d'éviter un biais au cours de la lecture, ou en passant d'une lame à l'autre. D'autre part, ces témoins permettent également de déceler tous problèmes liés à la préparation des lames (mauvais rinçages, faible intensité de fluorescence…), ce qui conditionne la validité des résultats. Une autre limite de cette technique est la possibilité des réactions sérologiques croisées entre les différentes espèces de *Babesia* et d'*Anaplasma*, qui ont été constatées par plusieurs auteurs, plus particulièrement lorsque plusieurs espèces d'un même genre coexistent dans une région donnée. Ainsi les résultats doivent être interprétés avec beaucoup de prudence et de rigueur (Passos et *al.*, 1998 ; Dreher et *al*., 2005 ; OIE, 2005 ; 2010).

Concernant le diagnostic sérologique de l'infection par *A. marginale*, le test cELISA est la méthode recommandée par l'OIE (2008) et a été utilisé dans cette étude. Ce test possède une grande spécificité de 98% et une sensibilité élevée de 95% (Aubry et Geale, 2011). De plus, il permet d'analyser un grand nombre de sérums en peu de temps et de fournir un titrage d'emblée des anticorps. Par contre, son inconvénient majeur réside, comme pour l'IFAT, dans la possibilité de réactions sérologiques croisées avec d'autres espèces d'*Anaplasma* (Dreher et *al.*, 2005 ; Aubry et Geale, 2011).

D'autre part, aussi bien pour l'IFAT et cELISA, il est probable que nous soyons passés à côté de bovins faux négatifs, c'est-à-dire des animaux en incubation ou en phase aigüe de la maladie, exprimant ou pas des signes cliniques, mais n'ayant pas encore produits suffisamment

d'anticorps. Ainsi, en utilisant de telles méthodes sérologiques, nous avons probablement sous-estimé les séroprévalences des infections étudiées.

Quoi qu'il en soit, il est clairement admis dans la littérature, que ces méthodes sérologiques employées dans la présente étude constituent le bon moyen pour un dépistage lors de la réalisation d'études épidémiologiques sur de grands effectifs. Elles nous ont permis de définir des facteurs de risque cohérents avec l'épidémiologie des maladies étudiées. Pour compléter ces données sérologiques, nous envisagerons ultérieurement d'effectuer le dépistage de l'infection par des méthodes moléculaires d'amplification génique (PCR) qui sont beaucoup plus sensibles et spécifiques, ceci permettra non seulement une distinction entre les différentes espèces de *Babesia* et d'*Anaplasma*, mais également une caractérisation des souches. Cependant, notre étude étant une étude de séroprévalence et non de diagnostic, la sérologie, même seule, est par conséquent la méthode la plus adaptée.

IV. 2 Enquête descriptive

L'objectif de cette enquête était d'évaluer le niveau de connaissance des éleveurs des fermes prélevées à propos des babésioses et anaplasmoses bovines et de recueillir des informations relatives aux mesures de préventions et de traitements entreprises contre ces maladies.

Les questions adressées aux éleveurs à propos des signes cliniques observés en cas de maladie ont révélé que ces derniers ne différencient par entre la babésiose, anaplasmose et theilériose et qu'ils nomment en arabe vernaculaire «*bousseffayer*» (ou jaunisse) par allusion au tableau clinique qui peut se traduire par un ictère. En effet, ces trois maladies présentent généralement les mêmes symptômes dans leur forme aigue, il est donc impossible pour les éleveurs et parfois même pour les vétérinaires praticiens de différencier entre elles, sans avoir recours au diagnostic de laboratoire en l'occurrence le frottis sanguin. Par conséquent, il est quasiment impossible de recueillir des données précises exclusivement relatives à l'une ou l'autre de ces maladies. De ce fait, les données recueillies dans cette enquête ont concerné à la fois ces trois maladies transmises par les tiques.

L'enquête a révélé que ces maladies sont toujours à l'origine de réels problèmes pour nos éleveurs. En effet, près de 85% de ces derniers déclarent avoir eu des cas de maladies dans leurs fermes. Dans l'énumération des signes cliniques, ces derniers citaient principalement la chute de la production laitière, de l'anorexie et de la pâleur au niveau des muqueuses. Ainsi, les

éleveurs focalisent leur attention sur les critères qu'ils observent facilement et qui sont en général en rapport avec l'alimentation et la productivité de leurs animaux.

En cas d'observation de symptômes de l'une des maladies, le traitement est entrepris chez 75% des animaux malades. Cependant, une proportion non négligeable des éleveurs (33,33%) ont souvent recours en premier lieu à des mesures thérapeutiques traditionnelles basées principalement sur l'utilisation de douche froide, saignée an niveau des oreilles et l'administration de préparations orales à base d'épices et de plantes. Le recours à un traitement chimique et spécifique n'est souvent appliqué qu'à un stade tardif après l'échec du traitement traditionnel. Il est à noter que le traitement de ces maladies exige une chimiothérapie adaptée et précoce, sans quoi, il se révèle souvent inefficace (Maslin et *al.*, 2004 ; Vial et Gorenflot, 2006 ; Mosqueda et *al.*, 2012).

D'un autre côté, une proportion non négligeable d'éleveurs, n'a jamais utilisé de traitements acaricides contre les tiques. Cette situation est expliquée principalement par le fait que les produits acaricides sont trop coûteux et beaucoup d'éleveurs n'ont pas les moyens de les acquérir. Le détiquage manuel est effectué par certains d'entre eux, mais il reste d'une efficacité incomplète du fait de la localisation des tiques dans des régions anatomiques difficiles à inspecter. Un autre inconvénient de cette pratique est le risque d'altération laissée au point de fixation de la tique: le rostre avec la formation d'un abcès.

De plus, de ceux qui utilisent des acaricides pour traiter contre les tiques, nous avons constaté une grande variabilité dans la période, le rythme et le type des produits utilisés. Ce qui signifie donc que l'utilisation des acaricides par ces éleveurs pour lutter contre les tiques est inappropriée. Ceci explique également pourquoi des animaux vivants dans des exploitations qui traitent contre les tiques sont aussi infectés que ceux des élevages non traités. Il devient plus clair, à partir de ces observations que l'utilisation des acaricides ne repose pas sur une bonne planification du programme de contrôle des tiques tel qu'il est décrit par plusieurs auteurs (Morel, 2000). La conséquence majeure d'une telle pratique serait de loin le développement éventuel de résistances des tiques vis-à-vis des acaricides les plus utilisés dans la région (Morel, 2000 ; Yilma et *al.*, 2001 ; Mondal et *al*., 2013).

Par ailleurs, le rôle vectoriel de la tique dans la transmission de ces maladies est un fait qui n'a pas été intégré par tous les éleveurs interrogés (les tiques sont perçues comme une simple nuisance pour le bétail). Par exemple, certains éleveurs pensent que ces maladies proviennent d'eau de boisson souillée. Ce fait reflète le niveau très faible d'instruction de nos éleveurs,

comme il est le cas dans plusieurs pays en développement. Ceci influencera sans doute la perception de ces maladies à transmission vectorielle par les éleveurs et l'efficacité de réception du message des vulgarisateurs ainsi que l'effectivité de la lutte.

En conclusion, cette enquête a révélé la difficulté pour les éleveurs de reconnaitre ces maladies et de les traiter à temps. Elle a révélé aussi le manque d'information sur le rôle vecteur des tiques. Ainsi, les conditions et les pratiques d'élevage semblent être globalement favorables à la transmission des infections par les tiques. Par conséquent, un programme de sensibilisation des éleveurs aux différents facteurs de risque et aux mesures de préventions et de traitements serait bénéfique, en particulier sur le rôle vecteur des tiques, sur leur écobiologie et sur la rémanence et la nature des produits acaricides afin d'en réduire les pertes occasionnées par les frais des traitements, les chutes des productions et les mortalités.

IV. 3 Description morphologique des espèces de *Babesia* et d'*Anaplasma* identifiées sur frottis sanguins colorés au MGG

L'analyse des frottis sanguins colorés au MGG nous a permis de mettre en évidence 7 hémopathogènes, identifiés sur la base de leur aspect morphologique, qui sont : *B. bovis, B. bigemina, B. divergens, A. marginale, A. centrale, A. phagocytophilum et Theileria spp.*

Globalement, l'identification des trois espèces de *Babesia* a été facile, en raison de leur morphologie classique, de leurs mensurations ainsi que de leurs localisations intraérythrocytaires. Pour les anaplasmes, à *A. marginale* et *A. centrale*, l'identification a été plus difficile à cause de leur morphologie punctiforme facile à confondre avec des dépôts de coloration (artéfacts de coloration), mais aussi avec les corps de Jolly qui prêtent souvent à confusion. Cependant, ces derniers ont un pourtour parfaitement lisse, alors que les anaplasmes consistent plutôt en un amas de corps élémentaires avec un pourtour un peu irrégulier, c'est ce qui permet généralement de distinguer entre eux (Uilenberg, 2004). Quant à *A. phagocytophilum*, la localisation des morulas dans les granulocytes neutrophiles ainsi que leur morphologie caractéristique, suffisent pour les identifier facilement.

Pour le cas de *Theileria*, bien que l'identification du genre ait été aisée, par la mise en évidence des schizontes intra-leucocytaires et de certaines formes intraérythrocytaires (formes en anneau ou en bâtonnet), la confirmation de l'espèce en cause n'a pu être réalisée en raison de l'aspect très polymorphe du ce protozoaire (Chauvin et *al.*, 2008). Par ailleurs, si on tient compte des espèces de *Theileria* déjà décrites dans une région donnée, on peut exclure les autres (Uilenberg,

2004). En Afrique du Nord, deux espèces de *Theileria* ont été identifiées jusqu'à présent : *T. annulata*, agent de la theilériose bovine tropicale, transmise principalement par la tique *Hyalomma detritum* (Sergent et *al.*, 1945) et *T. buffeli/orientalis*, agent de la theilériose bénigne des bovins (Sergent et al., 1945), dont le vecteur n'est toujours pas encore connu en Afrique du Nord. En Europe, le vecteur semble être *Haemaphysalis punctata* (Chauvin et *al.*, 2008 ; M'ghirbi et *al.*, 2008). Par conséquent, en admettant que *Ha. punctata* soit le vecteur de *T. orientalis* en Afrique du Nord, et comme cette espèce de tique n'a pas été mise en évidence dans les fermes investiguées, contrairement à *H. detritum* vecteur de *T. annulata*, on peut alors prétendre que l'espèce identifiée soit *T. annulata*, espèce déjà décrite dans de nombreuses régions en Algérie (Sergent et al., 1945 ; Ziam et Benaouf, 2004). Toutefois, ceci ne permet en aucun cas d'exclure *T. orientalis*, dont la présence a été rapportée à plusieurs occasions dans nos régions (Sergent et *al.*, 1945 ; Ziam et Benaouf, 2004). Ainsi, le recours à l'outil moléculaire s'avère le moyen diagnostic le plus pertinent pour identifier les espèces de *Theileria*.

Au final, on peut dire que la différenciation entre les espèces de *Babesia* et d'*Anaplasma* est généralement bonne, compte-tenu de leur morphologie caractéristique, exception faite pour les espèces de *Theileria*. Cependant, la lecture des frottis sanguins nécessite un personnel expérimenté. C'est ainsi que tous nos frottis évalués positifs ou douteux ont été réexaminés au laboratoire de parasitologie de la faculté de Médecine Vétérinaire de Liège, Belgique.

IV. 4 Étude de la prévalence des infections et des co-infections par *Babesia spp* et *Anaplasma spp*

IV. 4.1 Étude de prévalence par frottis sanguin

Un total de 200 échantillons de sang bovins a été prélevé et analysé par la méthode du frottis sanguin coloré au MGG. Les résultats ont révélé la présence de divers hémopathogènes appartenant aux genres : *Babesia*, *Anaplasma* et *Theileria*. Les prévalences obtenues pour *Babesia* (23%) et *Anaplasma* (20%) étaient significativement plus élevées que celle obtenue pour *Theileria* (7,5%).

L'identification des différents hémopathogènes retrouvés a permis de mettre en évidence 3 espèces de *Babesia*, et 3 espèces d'*Anaplasma*. Parmi ces espèces identifiées, *B. bovis* a eu la prévalence la plus élevée (17%), suivie d'*A. marginale* (16%) et de *B. bigemina* (8%). La prévalence la plus faible a été relevée pour *A. centrale* (4,5%). Comparativement à l'étude de Sergent et collaborateurs (1945) réalisée à l'institut Pasteur d'Algérie, 29% des cas annuels enregistrés de piroplasmoses sont dus à *B. bovis*, 11% à *A. marginale* et seulement 3% sont dus

à *B. bigemina,* ce qui corrobore nos résultats. Cependant, pour *Theileria,* ces mêmes auteurs ont obtenu des fréquences relativement élevées (45%) contrairement à ce que nous avons obtenu dans notre étude.

En revanche, nos prévalences se sont montrées différentes comparées à celles obtenues dans l'Est du pays par Ziam et Benaouf (2004), sur un effectif de 44 bovins testés également par la méthode du frottis sanguin, ces derniers ont montré des prévalences nettement inférieures pour *B. bovis* (5,6%) et *A. marginale* (9,3%). Toutefois, les prévalences obtenues pour *Theileria* étaient assez élevées comparées à celles obtenues dans notre étude : *T. annulata* (53,7%) et *T. orientalis* (5.6%). D'autre part, une étude menée au Nord-Est du pays par Yousfi-Monod et Aeschlimann (1986) a montré aussi une prédominance des infections par *Theileria spp* qui coïncide avec une fréquence élevée de son vecteur *Hyalomma detritum.* Il est à rappeler que la transmission de la babésiose et de l'anaplasmose est assurée principalement par la tique *Rh. (Boophilus) annulatus* (Sergent et *al*., 1945 ; Sahibi et Rhalem, 2007).

Benchikh-elfegoun et collaborateurs (2007) ont montré dans une étude réalisée à Jijel, que la tique *H. detritum* était peu fréquente et que c'est la babésiose qui sévissait à l'état endémique dans la région d'étude. Celle-ci est caractérisée par un climat similaire que celui qui couvre notre région de prélèvement (humide). Selon ces auteurs, le climat humide ne semble pas être favorable au développement de cette tique, qui est à caractère thermophile et xérophile, adaptée généralement à l'étage du maquis méditerranéen chaud. En effet, dans notre région d'étude nous avons également constaté une faible proportion de *H. detritum* qui était de l'ordre de 1,04% par rapport à celle de *Rh. (Boophilus) annulatus* estimée à 3,11% et à d'autres espèces de *Hyalomma* reconnues également comme vecteurs d'*Anaplasma*. Ceci pourrait donc expliquer à priori la faible prévalence de la theiléríose obtenue dans cette étude, comparée à celle de la babésiose et de l'anaplasmose.

Dans d'autres pays du bassin méditerranéen, les espèces le plus souvent identifiées par frottis sanguin étaient *B. bovis, B. bigemina, A. marginale* et *T. annulata*. Citons l'exemple de l'étude réalisée au Maroc par Mrifag et collaborateurs (2011) qui ont déterminé une prévalence similaire à la nôtre pour *B. bovis* (11,54%), des prévalences inférieures pour *A. marginale* (7,96%) et *B. bigemina* (3,85%) et supérieure pour la theiléríose à *T. annulata* (15,38%).

D'autres études ont été menées dans des zones écologiquement différentes en Afrique, qui ont rapporté des taux variables d'hémopathogènes. À titre d'exemple, citons l'étude conduite au Nord du Bénin et qui représente la plus grande région du pays réputée dans la production du

bétail. Ainsi, Farougou et collaborateurs (2007) ont déterminé des prévalences plus élevées pour *B. bigemina* (57%), *A. marginale* (39,5%) et *A. centrale* (28,5%). Ils ont par ailleurs mis en évidence une autre espèce de *Theileria, T. mutans* avec une prévalence de 46,5%. Il est à préciser que leur étude a été menée durant une période favorable à la prolifération des tiques et ils ont en conclu que les prévalences élevées des différents hémopathogènes identifiés ont été en étroite relation avec l'abondance de leurs vecteurs réceptifs. Au Pakistan, des prévalences proches à celles obtenues dans la présente étude ont été rapportées pour *B. bigemina* (6,57%) et *Theileria* (6,86%), alors que, pour *A. marginale* ils ont obtenu une prévalence plus faible de 9,71% (Atif et *al.*, 2012). Au Soudan, *Babesia* et *Theileria* semblent infectées le bétail avec des prévalences similaires (de 5,15% et de 5,85% respectivement) (Alkareem et *al.*, 2012).

Dans la présente étude, nous avons identifié de plus *B. divergens* et *A. phagocytophilum* avec des prévalences respectives de 6% et 5%. Ces 2 espèces n'ont pas été signalées auparavant par Sergent et Collaborateurs (1945). Les travaux de Ziam et Benaouf (2004), n'ont pu mettre en évidence *B. divergens, A. phagocytophilum, B. bigemina* et *A. centrale*.

A. phagocytophilum et *B. divergens,* transmises par *Ixodes ricinus,* sont largement distribuées en Europe avec des prévalences élevées pour *B. divergens* notamment en Irlande et en France (Gray et Harte, 1985; Bourdoiseau et L'Hostis, 1995). En Afrique du Nord, ces deux espèces également transmises par *I. ricinus,* ont fait l'objet de très peu d'études (Bouattour et *al.*, 2004; M'ghirbi et *al*., 2012). En effet, *B. divergens* a été isolée pour la première fois au nord-ouest de la Tunisie par Bouattour et Darghouth (1996). Plus récemment, une étude réalisée par Bouattour et collaborateurs (2004) dans la même région a confirmé sa présence. Cette étude menée sur un total de 307 bovins testés en IFAT, a donné une séroprévalence globale de 44,6%. L'examen des frottis sanguins a révélé la présence des piroplasmes de petite taille chez 28,3% des bovins examinés. L'inoculation de 46 prélèvements aux mérions a permis d'isoler deux souches de *B. divergens*. Quant à *A. phagocytophilum,* sa présence chez des espèces autres que le bovin a pu être attestée en Tunisie à travers une étude menée sur des chevaux (par IFAT et PCR) par M'ghirbi et collaborateurs (2012). Enfin, récemment en Algérie, une étude de séroprévalence réalisée par Azzag (2012) sur l'espèce canine a révélé, en IFAT, des taux de positivité de 60% et 35% respectivement pour des chiens de fourrière et de propriétaires. Il a été conclu donc, que ces deux espèces considérées jusque-là comme se contenant à l'Europe sont bien présentes en Afrique du Nord.

Les coïnfections évoquées dans ce travail ont également été signalées à l'Est du pays par Ziam et Benaouf (2004), au Nigeria par Ogunrinade et Adegoke (1982), au Bénin par Farougou et collaborateurs (2007) et en Iran par Zadeh et collaborateurs (2011). Dans ce travail, un taux de 18,5% des bovins ont présenté des infections mixtes, avec un nombre de 22 combinaisons entres les différents hémopathogènes identifiés, ce qui confirme l'existence d'une certaine communauté de vecteurs de transmission (tiques). Les associations *B. bovis-B. bigemina* ; *B. bovis-A. marginale* ; *B. bovis-A. marginale-A. centrale* ont été les plus fréquentes. Il faut noter que ces co-infections peuvent favoriser les infections intercurrentes. Selon Ogunrinade et Adegoke (1982), cette situation est le résultat d'une diminution de la résistance due à l'immunodépression engendrée par la présence de plusieurs agents infectieux chez le même animal. Il a été aussi rapporté que les animaux souffrant de distomatose sont particulièrement immunodéprimés et développent plus fréquemment des infections concomitantes associant les hémopathogènes (Ogunrinade et Adegoke, 1982). D'autre part, ces co-infections pourraient expliquer les formes pathologiques atypiques de certaines maladies et la résolution incomplète des symptômes après traitement d'une seule infection (Vayssier-Taussat, 2004). Par conséquent, la mise en place systématique d'un diagnostic sur étalement coloré au MGG est une première étape de réalisation simple qui permettra une identification simultanée des différents hémopathogènes susceptibles de co-infecter au même temps un même individu.

Si on regarde maintenant, les prévalences des différents hémopathogènes identifiés en fonction de la présence ou de l'absence de tiques sur les bovins, on constate qu'un lien très significatif est établi entre la prévalence de *B. bovis*, *B. bigemina*, *A. marginale* et *A. centrale* et la présence de tiques. Ce résultat semble bien logique, puisque *Rh. (Boophilus) annulatus,* est l'un des principaux vecteurs de ces espèces. De même, les espèces du genre *Hyalomma* sont reconnues comme vecteurs d'*A. marginale* et *A. centrale*. Ces deux genres de tiques ont été identifiés sur les bovins dans notre étude. De nombreux auteurs ont signalé la présence de ces espèces dans plusieurs région du pays (Sergent et *al.,* 1945 ; Boulkaboul, 2003 ; Benchikh-elfegoun et *al*., 2007). Pour *B. divergens,* une association significative a aussi été retrouvée avec la présence de tique, mais le lien est assez faible comparée aux autres hémopathogènes sus-cités. Quant à *A. phagocytophilum,* aucune différence significative n'a été constatée entre les prévalences et l'infestation des bovins par les tiques. Ceci est bien expliqué par le fait que, *Ixodes ricinus,* le vecteur principal de ces deux espèces *(B. divergens et A. phagocytophilum),* n'a pas été identifié sur les bovins étudiés. Toutefois, sa présence a été rapportée dans plusieurs régions du pays. En

effet, cette espèce a déjà été identifiée dans les étages bioclimatiques de l'humide et du sub-humide, où se situe notamment notre région d'étude (Sergent et *al.*, 1945 ; Bouattour, 2002).

L'examen clinique effectué sur chaque bovin prélevé a révélé la présence de signes cliniques (tels que l'hyperthermie, l'anorexie, l'anémie, la chute de la production laitière, le larmoiement, les poils piqués,…) compatibles avec la babésiose et/ou l'anaplasmose chez un total de 20 bovins, soit une prévalence clinique de 10%. Ceci va dans le sens des déclarations des éleveurs sur la fréquence des cas cliniques observés pour ces maladies.

Nous avons constaté que chez les bovins présentant des signes cliniques compatibles avec la babésiose et l'anaplasmose, les prévalences de *B. bovis* (65%) et de *B. bigemina* (45%) se sont avérées significativement plus élevées que celle d'*A. marginale* (30%) si on compare avec les bovins asymptomatiques. Par ailleurs, les prévalences de *B. divergens*, *A. centrale* et *A. phagocytophilum* ne semblent pas être associées à l'apparition de signes cliniques chez les bovins infectés. Ces résultats sont à mettre en relation avec le pouvoir pathogène des différents hémopathogènes en question. Généralement, *B. bovis* est plus pathogène que *B. bigemina* et *B. divergens* (OIE, 2005 ; Brown et *al.*, 2006a). Les infections sont caractérisées par une forte fièvre, une ataxie, une chute de la production laitière, une anorexie, un syndrome de choc circulatoire et parfois des signes nerveux en raison de la séquestration des érythrocytes infectées dans les capillaires cérébraux (OIE, 2005 ; Suarez et Noh, 2011). Pour l'anaplasmose bovine, les cas cliniques sont principalement dus à *A. marginale* (Hofmann-Lehmann et *al.*, 2004 ; OIE, 2008) et se manifestent par de la fièvre, de l'anémie, une perte de poids, des avortements, de la faiblesse, de l'ictère, une perte d'appétit et une chute de la production laitière (Kocan et *al.*, 2003 ; Kocan et *al.*, 2010). L'infection à *A. centrale* est capable de provoquer à des degrés modérés de l'anémie, mais les épisodes cliniques, comme pour celles d'*A. phagocytophilum*, sont extrêmement rares sur le terrain (OIE, 2008).

D'autre part, l'identification de l'un ou de l'autre de ces hémopathogènes sur des frottis de bovins exprimant des signes cliniques, confirme les données de la littérature sur le fait que le FS est bien adapté au diagnostic des cas cliniques lors d'une babésiose ou anaplasmose bovine (OIE, 2005 ; Bock et *al.*, 2006 ; OIE, 2008 ; Mosqueda et *al.*, 2012).

IV. 4.2 Étude de la séroprévalence de différents hémopathogènes

De nombreuses études sur les séroprévalences vis-à-vis de *Babesia spp* et d'*Anaplasma spp* ont été réalisées chez les bovins dans différentes région du globe. Cependant, ce travail constitue la première étude d'envergure sur la séroprévalence vis-à-vis de différents hémopathogènes chez le bovin en Algérie. L'étude a porté essentiellement sur la Wilaya d'Alger.

Les résultats obtenus, différent d'un pays à l'autre et d'une région à l'autre en fonction des conditions climatiques et écologiques. Les facteurs influençant la prévalence de ces infections sont généralement la taille de la population hôte, la conduite d'élevage, la période des prélèvements, la distribution des tiques vectrices et les programmes éventuels de leur contrôle (Morel, 2000 ; Olwoch et *al*., 2008 ; Terkawi et *al*., 2012). La comparaison entre ces données contribue par ailleurs, à mettre en relief les particularités biologiques et épidémiologiques de ces agents pathogènes.

D'autre part, une autre question très importante est à prendre en considération c'est celle du type de test sérologique employé et de la valeur utilisée comme seuil. En effet, la différence de sensibilité et de spécificité des tests sérologiques employés pour le dépistage contribue sans doute à la variabilité des résultats entre chercheurs.

Dans ce travail, qui constitue la première étude de séroprévalence vis-à-vis des *Babesia* et *Anaplasma* dans les populations bovines de la région d'Alger, réalisé sur un total de 200 échantillons a permis de détecter la présence d'anticorps spécifiques à 4 hémopathogènes qui sont par ordre de fréquence décroissant: *B. bovis* (45%), *A. marginale* (43,5%), *B. bigemina* (32%) et enfin *A. phagocytophilum* (19,5%). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par la méthode de FS. En effet, le FS a montré aussi une prédominance de *B. bovis* suivie d'*A. marginale*, de *B. bigemina* et d'*A. phagocytophilum*. D'autre part, les séroprévalences obtenues indiquent que ces hémopathogènes sont largement distribués dans la région étudiée.

1. Séroprévalence vis-à-vis de *B. bovis*

De nos résultats, la séroprévalence de *B. bovis* a été de 45%. Dans d'autres régions du monde, les séroprévalences obtenues variaient de 0 à 95,8% avec une médiane à 29% et une moyenne à 36,26 (voir figure 42). En conséquence la séroprévalence observée en Algérie est supérieure à la moyenne des observations faites ailleurs dans le monde, avec une valeur située au-dessus de la médiane (entre la médiane et le percentile 75).

Cette séroprévalence est proche de celle rapportée en Tunisie par M'ghirbi et Bouattour (2009), qui ont obtenu un taux de positivité de 56,5% en utilisant aussi le test IFAT. Par ailleurs, la séroprévalence de *B. bovis* était significativement plus élevée que celle de *B. bigemina* comme montré dans notre étude. Des résultats similaires ont été rapportés au Mozambique en utilisant iELISA (39%) (Alfredo et *al.,* 2005), en Afrique du Sud par IFAT (39,7%) et par le test ELISA (35,3%) (Terkawi et *al.,* 2011). Cette dernière étude a montré une bonne sensibilité de l'IFAT par rapport à l'ELISA, ce qui confirme les résultats déjà obtenus par d'autres auteurs (Torioni de Echaide et *al*., 1995) qui ont démontré que la sensibilité et la spécificité de l'IFAT sont de l'ordre de 92,8% et de 96% respectivement. Ces données suggèrent que la séroprévalence vis-à-vis de *B. bovis* obtenue dans notre étude est bien étayée.

Notre séroprévalence s'est montrée supérieure à celle obtenue au Maroc utilisant le test cELISA (19,4%) (Ait Hamou et *al.,* 2012a). Des séroprévalences plus faibles ont été également relevées par ELISA en Égypte (9,27%) (Ibrahima et *al.,* 2013), par IFAT en Turquie (13,3%) (Kalkan, 2010), en Malaysie (17%) (Rahman et *al.,* 2010) et à Porto Rico (26%) (Urdaz-Rodríguez et *al.,* 2009). En Syrie, les séroprévalences étaient de 18,36% et de 15,46%, par l'utilisation des tests IFAT et ELISA respectivement (Terkawi et *al.,* 2012). En Italie, une séroprévalence de 0% a été obtenue en utilisant la technique ELISA (Cringoli et *al.,* 2002). En revanche, des taux de séroprévalences plus élevés ont été obtenus dans d'autres pays, citons l'exemple du Mexique, par utilisation de l'iELISA (73,8%) (Solorio-Rivera *et al.*, 1999), du Brésil, (77,5%) en utilisant la même technique (Barros et *al.,* 2005), du Mozambique (78,8%) (Tembue et *al.*, 2011a) et du Portugal (79%) (Silva et *al.,* 2009).

2. Séroprévalence vis-à-vis de *B. bigemina*

Les résultats obtenus à l'aide du test IFAT sur les 200 bovins prélevés ont montré que 64 animaux (soit 32%) sont positifs à *B. bigemina.* Dans d'autres pays, les séroprévalences obtenues variaient de 7 à 94% avec une médiane à 23,1% et une moyenne à 30 (voir figure 42). On en conclut donc que la séroprévalence obtenue pour *B. bigemina* dans cette étude se situe dans la moyenne des observations faites dans d'autres régions du monde, avec une valeur légèrement supérieure à la médiane (entre la médiane et le percentile 75).

Cette séroprévalence obtenue pour *B. bigemina* est très proche de celles publiées en Turquie, (37,5% par IFAT) (Kalkan, 2010), en Tanzanie, (34,9% par ELISA) (Swai et *al.,* 2008) et en Afrique du sud, (36,5% et 30% par IFAT et ELISA, respectivement) (Terkawi et *al.*, 2011). En Tunisie une séroprévalence de 41,6% a été obtenue en utilisant le test IFAT (M'ghirbi et

Bouattour, 2009). Des taux beaucoup plus élevés ont été obtenus dans d'autres pays comme au Brésil (75,5% par iELISA) (Barros et *al.,* 2005), au Portugal (52% par iELISA) (Silva et *al.*, 2009), en Guatemala (89,6% par IFAT) (Teglas *et al.,* 2005), au Mozambique (76% par iELISA) (Tembue et *al.*, 2011a) et en Afrique du Sud (94% par IFAT) (Mtshali et *al.*, 2004). En revanche, notre étude a montré une séroprévalence plus importante que celles observées au Maroc, (9,4% et de 17,6% par IFAT) et (13% et de 10,9% par ELISA) (El Haj et *al*., 2002a ; Ait Hamou et *al*., 2011 ; 2012a). Il en est de même que celles obtenues en Malaisie (16%) (Rahman et *al.,* 2010), au Soudan (10,7% par ELISA) (Salih et *al.,* 2009), en Égypte (10,6%) (Ibrahima et *al.,* 2013), au Kenya (19%) (Gachohi et *al.*, 2010), en Italie (23,1%) (Cringoli et *al.,* 2002), et en Syrie (21,47% et de 18,48% par IFAT et ELISA respectivement) (Terkawi et *al.,* 2012).

3. Séroprévalence vis-à-vis *d'A. marginale*

Cette enquête a révélé, chez les 200 bovins prélevés, un taux de séroprévalence pour *A. marginale* de 43,5%. Dans d'autres régions du monde, les séroprévalences obtenues variaient de 10,7 à 98,9% avec une moyenne à 58,2 et une médiane à 60,5% (voir figure 42). Ainsi, notre séroprévalence trouvée pour *A. marginale* est inférieure à la moyenne des séroprévalences rapportées dans d'autres régions du monde, avec une valeur située au-dessous de la médiane (entre la médiane et le percentile 25).

En comparant ce résultat à ceux rapportés dans d'autres études publiées, il ressort que notre séroprévalence est plus élevée que celles obtenues en utilisant le test cELISA au Maroc (22,8%) (Ait Hamou et *al.,* 2012a) et au Pakistan (31,5%) (Atif *et al.,* 2013). Au Soudan, une séroprévalence de 10,7% a été rapportée par le test iELISA) (Salih *et al.,* 2009). En revanche, elle est du même ordre de grandeur que celles observées au Brésil (37,2% par cELISA) (Oliveira et *al.*, 2011), au Venezuela (48,5% par le test LAT) (James et *al.*, 1985) et en Tanzanie (37,2%) (Swai et al., 2005). En revanche, des séroprévalences plus élevées ont été rapportées, en Afrique du Sud (87% par cELISA) (Mtshali et *al.*, 2004), au Guatemala (87.5%) (Teglas *et al.,* 2005), au Brésil (97%) (Barros *et al.,* 2005), au Kenya (58%) (Gachohi et *al.*, 2010), au Mozambique, 63 et 76,5% (par les test CAT et iELISA) (Alfredo et *al.,* 2005 ; Tembue et *al.,* 2011b) et au Mexique (69,75% par le test CAT) (Rodriguez-Vivas *et al.*, 2004).

4. Séroprévalence vis-à-vis *d'A. phagocytophilum*

La prévalence sérologique *d'A. phagocytophilum* a été de 19,5% pour l'ensemble des sérums analysés. Les séroprévalences obtenues vis-à-vis *d'A. phagocytophilum* dans d'autres pays, variaient de 0,69 à 77% avec une médiane à 16,78% et une moyenne à 26,3 (voir figure 42).

Par conséquent notre séroprévalence est inférieure à la moyenne des observations faites ailleurs dans le monde, avec une valeur légèrement supérieure à la médiane (entre la médiane et le percentile 75).

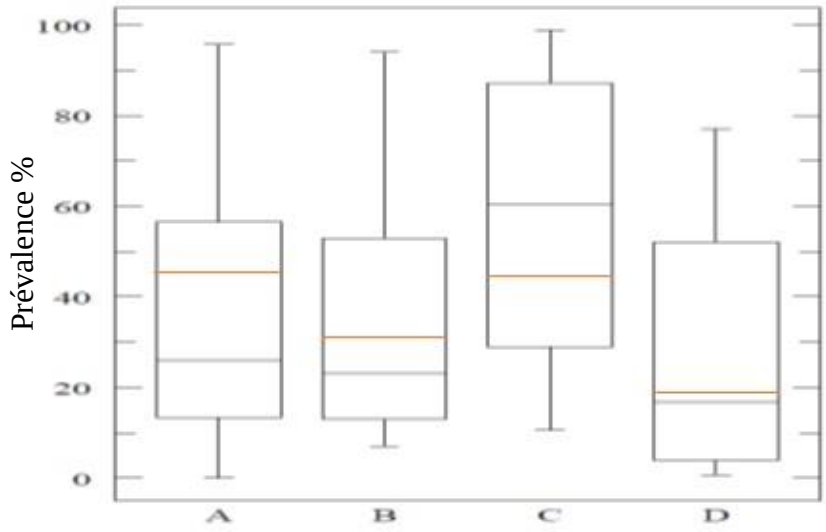
Ce résultat obtenu pour *A. phagocytophilum* est très proche de celui publié par Ebani et collaborateurs (2008) en Italie où une séropositivité de 16,78% a été observée en IFAT. En revanche, notre séroprévalence est nettement plus élevée que celles observées, en utilisant toujours le test IFAT, en Turquie (10,13%) (Gokce et *al.*, 2008), en Espagne (3,07%) **(**Amusategui et *al.,* 2006), en Chine (0,69%) (Zhang et *al.*, 2012), et aux USA (12 et 4% par les tests ELISA et IFAT respectivement) (Magnarelli *et al.,* 2002). Par ailleurs, elle est plus faible que celle rapportée en Guatemala (52% par IFAT) (Teglas *et al.,* 2005). De même, en Belgique, Lempereur et collaborateurs (2012), ont obtenu des séroprévalences relativement élevées sur un effectif de 65 vaches analysées par le test IFAT durant les saisons du pâturage (30,8%, 77% et 56,9% pour le printemps, l'été et l'automne respectivement).

Un autre point qui mériterait d'être soulevé est celui de la distribution des fréquences des titres en anticorps vis-à-vis d'*A. phagocytophilum.* En effet, au criblage (dilution à 1/50) nous avons obtenu une réponse positive chez 19,5% de bovins. À une dilution finale de 1/100 seuls 3 bovins (1,5%) sont restés positifs. Plusieurs raisons peuvent expliquer cette faible réaction immunologique

- soit le bovin possède réellement des anticorps dirigés contre *A. phagocytophilum* mais en quantité infime en raison de sa contamination récente (phase d'incubation) ou au contraire, le contact avec la bactérie est bien ancien datant de plusieurs mois voire années. En effet, selon certaines sources de la littérature, les immunoglobulines de classe G (IgG) sont détectables à partir de J 21 après primo-infection et persistent environ 4 mois (Pitel et *al.,* 2008) ;

- soit il s'agit de faux positifs par communauté antigénique avec d'autres espèces d'*Anaplasma*, notamment *A. marginale* (Dreher et *al.,* 2005). Cependant, l'existence de bovins mono-infectées par l'une ou l'autre de ces deux bactéries, prouve que ces réactions croisées même si elles existent, ne peuvent pas, à elles seules, être responsables de la séroprévalence obtenue *d'A. phagocytophilum* (Dreher et *al.*, 2005).

Pour les autres hémopathogènes étudiés, les titres en anticorps obtenus après plusieurs dilutions sont généralement comparables avec les données de la littérature.



Légende : A= *B. bovis*, B= *B. bigemina*, C= *A. marginale*, D= *A. phagocytophilum*

Figure 42: Représentation en boîte à moustaches des séroprévalences vis-à-vis de *B. bovis, B. bigemina, A. marginale* et *A. phagocytophilum* obtenues dans d'autres régions du monde

Les lignes rouges représentent les prévalences obtenues dans cette étude. Pour rappel, la ligne grise dans la boîte représente la médiane des prévalences de la littérature, la base de la boîte, le percentile 25 de ces prévalences, le sommet de la boîte le percentile 75. La prévalence minimum et la prévalence maximum sont également représentées.

IV. 4.3 Séroprévalence des co-infections

Nos résultats ont mis en évidence une fréquence élevée des co-infections par les 4 agents pathogènes étudiés. En effet, sur les 200 bovins étudiés, 46% se sont montrés co-infectés. Ces infections combinées associent le plus souvent 2 hémopathogènes (32%), plus rarement 3 hémopathogènes (13%) et exceptionnellement 4 (1%). Les associations les plus fréquentes ont été entre *B. bovis, B. bigemina* et *A. marginale.* Ce résultat est comparable à celui obtenu par la méthode du FS. En effet, les deux méthodes de dépistage ont montré une prédominance d'association entre les 3 hémopathogènes sus-cités. Cela est bien expliqué par le fait que ces derniers partagent les mêmes espèces de tiques vectrices, à savoir celles du sous genre *Boophilus.* De plus, il est actuellement bien établi que les tiques peuvent héberger de nombreux cas d'infections concomitantes à plusieurs agents pathogènes, bactéries et protozoaires (Schouls et *al.*, 1999 ; Halos et *al.*, 2005 ; Swanson et *al.*, 2006 ; Loebermann et *al.*, 2006 ; Burri et *al.*,

2011 ; Aktas et *al.*, 2012) ce qui signifie que des animaux infestés par une ou plusieurs tiques sur un même site pourraient s'infecter par plusieurs pathogènes au même temps.

Ces résultats obtenus pour les infections mixtes corroborent d'autres études soulignant l'importance des co-infections chez le bovin évoquant l'existence de complexes de maladies infectieuses transmises via les tiques ou « ***tick-borne diseases*** » (Bitam et *al.*, 2006 ; Salih et *al.*, 2007 ; M'ghirbi et Bouattour, 2009 ; Rahman et *al.*, 2010 ; Terkawi et *al.*, 2011 ; Simuunza et *al.*, 2011 ; Ait Hamou et *al.*, 2012a ; Terkawi et *al.*, 2012).

IV. 4.4 Étude des facteurs de risque associés

La connaissance des facteurs de risques susceptibles d'influencer positivement ou négativement la prévalence d'une maladie est nécessaire pour une bonne compréhension de son épidémiologie, ainsi que leurs implications en termes de stratégies de contrôle adaptées aux conditions locales.

Plusieurs auteurs à travers le monde ont étudié les facteurs de risques associés aux maladies transmises par les tiques chez le bovin, en particulier celles du genre *Babesia* et *Anaplasma*. À titre d'exemple, Au Maroc, El Haj et collaborateurs (2002a), ont rapporté que les prévalences de ces affections sont fortement associées aux caractéristiques individuelles des animaux (âge, sexe, race, origine). Les mêmes observations ont été signalées en Tunisie (M'ghirbi et Bouattour, 2009).

Par ailleurs, les données sur les facteurs susceptibles de favoriser l'apparition des infections concomitantes, toujours chez l'espèce bovine, sont assez rares et méritent plus d'attention à l'avenir. À ce sujet nos résultats sont pour la plupart des constats qui doivent être confirmés par d'autres travaux similaires.

1- Sexe

Aucune différence significative n'a pu être démontrée entre la séropositivité des mâles et celle des femelles pour l'un ou l'autre des 4 hémopathogènes étudiés, séparément ou en association. Ceci est compatible avec ce qui a été rapporté ailleurs sur les infections transmises par les tiques (Farougou et *al.*, 2007 ; Swai et *al.*, 2007 ; M'ghirbi et Bouattour, 2009; Salih et *al*., 2009 ; Sevgli et *al*., 2010 ; Zadeh et *al*., 2011; Ait Hamou et *al*., 2012a ; Atif et *al.*, 2012). En réalité, l'influence du sexe vis à vis de la réceptivité des infections transmises par les tiques, n'est pas prédominante. Cependant, les femelles peuvent présenter une réceptivité plus importante liée à leur moindre résistance pendant la gestation et la lactation, favorisant ainsi la primo-infection

ou la récidive (Euzeby, 1988 ; Morel, 2000 ; M'ghirbi et Bouattour, 2009 ; Kocan et *al*., 2010). Dans le même sens, au Maroc, El Haj et collaborateurs (2002b) ont constaté une proportion significativement plus importante de séropositivité vis-à-vis de *B. bigemina* parmi les femelles destinées à la reproduction comparées à celles des animaux de sexe mâle qui sont généralement engraissés pour être vendus.

2- Âge

En classant les animaux en 3 catégories d'âge, la séroprévalence pour chacun des 4 hémopathogènes étudiés séparément a significativement augmenté avec l'âge. Ceci rejoint les constatations de nombreux auteurs qui rapportent une séropositivité plus faible chez les jeunes que chez les adultes (Applewhaite et *al.,* 1981 ; Alonso et *al.*, 1992 ; Sukanto et *al.*, 1993 ; El Haj et *al.*, 2002b ; Swai et al., 2007 ; M'ghirbi et Bouattour, 2009 ; Camus et Uilenberg, 2010 ; Tembue et *al.*, 2011b ; Terkawi et *al.,* 2012 ; Ait Hamou et *al*., 2012a ; Ibrahim et *al.*, 2013). En effet, de nombreux auteurs s'accordent sur le fait que pour les infections transmises par les tiques, le nombre d'animaux infectés augmente avec le nombre de saisons de maladies vécues par les animaux et par conséquent avec l'âge (Woodford et *al.* 1990 ; Fernandez-Ruvalcaba et *al.* 1995 ; Flach et *al.* 1995 ; Kachani et *al.* 1996 ; El Haj et al., 2002b ; Ait Hamou et *al*., 2012a). Ce résultat peut aussi être lié au mode de vie des animaux, en effet, les veaux sont généralement gardés en stabulation durant les premiers mois de leur vie, diminuant ainsi le risque d'exposition aux tiques dans les pâturages et par conséquent, les risques de contracter l'infection demeure faible (Hall et *al*., 1968, Woodford et al., 1990 ; Benchikh-elfegoun et *al*., 2007 ; M'ghirbi et Bouattour, 2009 ; Ait Hamou et *al.*, 2011). D'autre part, les jeunes bovins sont réputés peu ou pas sensibles à l'infection par les *Babesia* et les *Anaplasma* (Morel, 2000 ; Camus et Uilenberg, 2010). Cette résistance naturelle (jusqu'à l'âge de 1 an environ) liée à la réponse immunitaire innée se caractérise par l'induction précoce de IL-12, IFN-γ et la synthèse de NO dans la rate, ce qui permet de tuer les hémopathogènes suffisamment de façon précoce afin d'éviter l'installation de la maladie (Brown et *al.,* 2006b ; Chauvin et *al.*, 2009).

En revanche, nous avons constaté que l'âge n'a pas d'effet significatif sur la probabilité d'être séropositif à 2, 3 voire aux 4 hémopathogènes à la fois. Ce résultat corrobore celui obtenu en Zambie par Simuunza et collaborateurs (2011), sur les infections transmises par les tiques. Ces auteurs ont également montré que le facteur âge ne semble pas avoir un effet significatif sur les séroprévalences des co-infections chez le bovin. Par contre, ces mêmes auteurs ont rapporté que les séroprévalences vis-à-vis des différents hémopathogènes étudiés séparément étaient fortement corrélées à l'âge, ce qui est tout à fait comparable à nos observations.

3- Race

Les séroprévalences vis-à-vis de *B. bigemina* et d'*A. phagocytophilum* n'ont pas varié de façon statistiquement significative en fonction de la race du bovin, ceci rejoint les constatations d'autres auteurs qui ont rapportés des séropositivités similaires vis-à-vis de *B. bigemina* en fonction des différentes races considérées (El Haj et *al*., 2002b ; Swai et *al*., 2007 ; Silva et *al.,* 2009 ; Salih et *al*., 2009; Trindade et *al*., 2010 ; Tembue *et al*., 2011a). En revanche, pour *B. bovis* et *A. marginale*, nous avons observé des séroprévalences significativement plus élevées chez les bovins de races locales comparées à ceux de races européennes exotiques, bien que ces derniers soient considérés comme plus réceptifs et plus sensibles que les animaux des races locales autochtones (Morel, 2000). Cette divergence peut être liée aux différents systèmes de gestion de l'élevage pratiqués en Algérie. Généralement, les bovins de races importées sont maintenus en système semi-intensif voire intensif et ne sortent pas ou pas souvent dans les forêts ou les maquis, et sont, par conséquent, moins exposés aux risques d'infestation par les tiques, ce qui entraîne une faible fréquence d'infection par les babésies et les anaplasmes. En revanche, les bovins de races locales sont habituellement élevés en système de pâturage extensif, pâturent en permanence dans les milieux infestés par les tiques, développent une immunité acquise vis-à-vis de ces hémopathogènes, manifestant ainsi une infection subclinique, mais sont capables d'infecter les tiques et de maintenir l'état endémique de l'infection. Au contraire, les bovins appartenant aux races exotiques non immunisés développent le plus souvent des atteintes cliniques sévères de la babésiose et l'anaplasmose (Morel, 2000). Un résultat similaire a été obtenu auparavant en Tunisie par M'ghirbi et Bouattour (2009) qui ont constaté une séropositivité plus élevée vis-à-vis de *B. bovis* chez la race locale, suivie de la race croisée puis européenne. De même au Soudan, Salih et collaborateurs (2009) ont constaté une séroprévalence à *A. marginale* significativement plus élevée chez les races autochtones comparées aux races croisées. Cependant, au Maroc, Ait Hamou et collaborateurs (2012a) ont rapporté une exposition significativement plus élevée chez les races importées comparées aux races locales autochtones, ce qui est contradictoire avec nos observations.

Si on considère maintenant les infections combinées, on constate que le taux de la co-infection associant *B. bovis-A. marginale* a varié de façon significative en fonction de la race. En effet, les bovins locaux étaient les plus infectés suivis par les croisés, alors que ceux de races européennes étaient les moins exposés. Ceci va dans le même sens que les résultats montrés pour ces deux pathogènes étudiés séparément. En revanche, la race ne semble pas avoir d'effet significatif sur les autres co-infections étudiées.

4- Origine

Pour l'origine du bovin, nous avons constaté qu'il y a une influence significative sur les séroprévalences de *B. bovis* et *d'A. marginale*. Les bovins nés au sein des exploitations ou achetés ont été les plus affectés que ceux issus de l'importation. En effet, les bovins nés dans les exploitations n'ont pas subi de mouvement et la présence d'anticorps signifie la présence de tiques infectantes dans l'exploitation. Dans cette étude, le principal vecteur de *B. bovis* et *d'A. marginale* qui est *Rh.* (*Boophilus) annulatus*, a été mis en évidence. Pour les bovins achetés, il est difficile de savoir si l'animal a été infecté au sein de l'exploitation ou non, à cause du manque d'informations concernant ses antécédents pathologiques, la date de son introduction et son origine. Quant aux bovins importés des pays européens, ils sont généralement considérés comme indemnes envers ces 2 hémopathogènes avant leur introduction dans l'exploitation (El Haj et *al.*, 2002b). L'origine du bovin semble également influencer la séroprévalence d'*A. phagocytophilum*, mais pas dans le même sens que pour *B. bovis* et *A. marginale*. En effet, les bovins importés ont été les plus infectés comparés à ceux nés dans l'exploitation ou achetés.

Les bovins importés des pays d'Europe étaient probablement déjà séropositifs envers *A. phagocytophilum* avant leur introduction dans l'exploitation, puisque cette espèce est largement distribuée en Europe. Or les bovins porteurs sont des réservoirs potentiels susceptibles d'infecter les tiques présentes dans la ferme. Ce sont ces mêmes tiques qui transmettront la bactérie aux autres bovins de l'effectif.

Pour ce qui est des infections mixtes, nous avons trouvé que l'origine du bovin est fortement corrélée avec la séroprévalence vis-à-vis de *B. bovis-A. marginale*. Les bovins nés à la ferme ont été les plus infectés, ceux achetés montrent des taux d'infections intermédiaires, alors que ceux issus de l'importation ont été les moins infectés. Ce constat va dans le même sens de ce qui a été obtenu pour les deux hémopathogènes analysés séparément. De même, un lien significatif a été constaté entre les bovins hébergeant *B. bigemina-A. phagocytophilum* et le facteur origine, mais dans ce cas le taux de séropositivité le plus élevé a été retrouvé parmi les bovins achetés. Par ailleurs, les séroprévalences vis-à-vis des autres co-infections ne semblent pas être influencées par ce facteur étudié.

5- État général de l'animal

Lorsque l'on s'intéresse à l'état général des bovins étudiés, on s'aperçoit qu'il n'y a pas de différence significative entre la séropositivité à *A. marginale* et *A. phagocytophilum* chez les bovins présentant des signes cliniques pouvant être associés à l'anaplasmose bovine. Il en est de même pour les co-infections. Par contre, nous avons constaté une association significative entre la positivité vis-à-vis de *B. bovis* et de *B. bigemina* et la présence des signes cliniques

compatibles avec la maladie. Ceci va dans le même sens que d'autres travaux similaires sur les maladies transmises par les tiques (Safieldin et *al*., 2010 ; Ibrahim et *al.*, 2013). Ce résultat est à mettre en relation avec les états épidémiologiques des bovins de la région étudiée envers ces maladies transmises par les tiques (voir plus loin).

6- État d'hygiène

Globalement, pour le facteur état d'hygiène de la ferme, on a constaté que plus l'état d'hygiène de la ferme est bon, plus le risque d'être séropositif envers les hémopathogènes étudiés diminue. En effet, les fermes avec une hygiène mauvaise ont révélé les taux de séropositivité les plus élevés. Ceci reflète les conditions d'entretien des bovins. Les animaux appartenant à des élevages organisés sont bien contrôlés, quotidiennement nettoyés, correctement vaccinés et bénéficient de mesures de contrôles contre les tiques et les maladies transmises.

7- Pratiques du pâturage

Le pâturage favorise généralement le contact entre les animaux et les tiques vectrices vivant dans les champs, en particulier celles du genre *Rh. (Boophilus)* qui transmettent les *Babesia* et les *Anaplasma* (à *A. marginale*) (Sahibi et Rhalem, 2007). Ceci semble influencer significativement la séroprévalence d'*A. marginale* et celles des co-infections associant *B. bovis–A. marginale* et *B. bovis-B. bigemina-A. marginale.* En effet, les bovins qui pâturent ont présenté une séropositivité plus élevée comparés à ceux qui restent en stabulation permanente. La différence va dans le même sens pour *B. bovis* et *B. bigemina* mais elle n'est pas statiquement significative. Ceci peut être expliqué par le fait que ces animaux même lorsqu'ils sont maintenus en stabulation permanente, acquièrent les tiques par l'intermédiaire de l'herbe à faucher coupée-et-portée des prairies et leur y distribué à l'auge. Ainsi la pratique du pâturage augmente le risque de contracter les tiques vectrices et par conséquent celui de contracter l'infection, mais le fait de garder les animaux en stabulation n'empêche pas non plus cette infestation. Ceci va dans le même sens que certaines études assez similaires sur les infections transmises par les tiques (El Haj et *al*., 2002a ; Swai et *al.*, 2005). La pratique du pâturage semble influencer également la séroprévalence d'*A. phagocytophilum,* mais contrairement aux autres hémopathogènes étudiés, les bovins qui restent en stabulation permanente ont présenté le taux de séroprévalence le plus élevé comparés à ceux qui pâturent. Ceci n'est pas surprenant puisqu' une séroprévalence élevée vis-à-vis d'*A. phagocytophilum* a été retrouvée parmi les bovins importés et plus précisément pour cette catégorie, le pâturage n'étant pas ou pas souvent pratiqué. Un résultat similaire a été obtenu pour les bovins hébergeant à la fois *A. phagocytophilum, B. bovis* et *B. bigemina*.

8- Présence et contrôle des tiques

Pour *A. phagocytophilum,* il s'est avéré que la présence ou l'absence de tiques ou encore leur contrôle n'a pas d'influence significative sur la séroprévalence. Par contre, et de façon intéressante, il y avait un lien très significatif entre les séroprévalences vis-à-vis de *B. bovis*, *B. bigemina*, *A. marginale,* séparément ou en association, et la présence de tiques. Ce qui est en accord avec les résultats obtenus par la méthode du FS et qui indiquait également une corrélation significative entre ces pathogènes. La lutte contre les tiques influe également sur la séropositivité de ces 3 espèces d'hémopathogènes étudiés séparément. En effet, les éleveurs qui traitent systématiquement contre les tiques, leurs animaux sont moins exposés à l'infection comparés à ceux qui traitent occasionnellement voire jamais, mais là encore, la présence d'animaux séropositifs au sein des élevages qui traitent systématiquement contre celles-ci indique que la lutte n'est pas totalement effective. De plus, nous avons constaté pour la co-infection associant *B. bovis-A. marginale,* une séroprévalence significativement plus élevée chez les bovins traités systématiquement contre les tiques comparés à ceux traités occasionnellement voire sans traitement. Ces observations semblent confirmer les résultats de l'enquête descriptive qui indiquait que l'utilisation des acaricides par les éleveurs soit inappropriée et ne repose pas sur une bonne planification du programme de contrôle.

D'autre part, El Haj et collaborateurs (2002a), au Maroc, rapportent que la lutte contre les tiques semble ne pas avoir d'effet significatif sur les proportions des élevages et des animaux séropositifs à *Babesia* selon que le traitement acaricide soit pratiqué ou non. Ils ont conclu alors que les mesures de prévention entreprises par les éleveurs marocains via les acaricides sont inadaptées.

9- Saison

Globalement, nos résultats ont mis en évidence, comme attendu via l'ensemble de la littérature, le caractère saisonnier de ces affections et qui se superpose à celui des tiques vectrices (Sergent et *al*., 1945 ; Morel, 2000). Comparativement à l'étude de Sergent et collaborateurs (1945), les cas de Babésiose bovine, à *B. bovis* et *B. bigemina*, et de l'anaplasmose bovine, à *A. marginale*, s'observent sur toute l'année en Algérie, mais la majorité sont concentrés entre juin et septembre, avec une intervention forte de *Rh. (Boophilus) annulatus*. Ainsi, nous avons constaté que les taux d'infections vis-à-vis de *B. bovis* et d'*A. marginale*, étudiés séparément ou en association, sont nettement plus élevés en été comparés aux autres saisons. Pour le cas de *B. bigemina* c'est plutôt le printemps suivi par l'été. Cela peut être expliqué par le fait que les températures élevées (plus de 37°C) entrainent une inhibition voire un arrêt complet du

développement de ce protozoaire chez les tiques vectrices (Kocan, 1995). Il est donc fort probable que les fortes températures observées durant l'été (qui dépassent parfois les 40°C) ont réduit le potentiel de transmission des tiques ayant pour conséquence une prévalence plus importante en printemps qu'en été. Ceci pourrait également expliquer la faible séroprévalence de *B. bigemina* obtenue comparée à celle de *B. bovis*.

En ce qui concerne *A. phagocytophilum,* c'est durant l'hiver où l'en a enregistré la séroprévalence la plus élevée. En Afrique du Nord (Algérie, Tunisie et Maroc) *I. ricinus* semble être le principal voire le seul vecteur de cette bactérie (M'ghirbi et *al*., 2012). Selon Sergent et collaborateurs (1945), en Algérie l'activité des adultes, qui sont le principal stade infestant pour les bovins, s'observe durant l'hiver avec un maximum au mois de février.

10- Zone AGE

Nous avons constaté que les séroprévalences vis-à-vis des 4 hémopathogènes étudiés sont variables d'une manière non significative en fonction des 3 zones agroécologiques considérées. Toutefois, nous avons remarqué que certaines communes ont été plus exposées que d'autres aux infections par l'un ou l'autre des 4 hémopathogènes. Ces variations peuvent s'expliquer notamment par les différences de susceptibilité à l'infection liées aux races présentes dans chaque ferme, le système d'élevage, à la distribution des tiques vectrices et à la nature des mesures prophylactiques entreprises contre celles-ci, mais aussi à la variation de la dynamique de transmission des hémopathogènes dans le temps et dans l'espace. Ce résultat est en accord avec celui obtenu en Tunisie, par M'ghirbi et Bouattour (2009), sur ces infections transmises par les tiques, où ils ont également montré des variations des taux d'infections entre les différentes localités prospectées. Un résultat similaire a été également rapporté au Maroc par Ait Hamou et collaborateurs (2011). Dans cette dernière étude, les auteurs ont aussi constaté une variation dans la prévalence des *Babesia* selon les étages bioclimatiques. Ils ont conclu alors que le taux d'infection diminue généralement en allant de l'étage humide à l'étage semi-aride. En effet, les étages humide et semi-humide où se situe notre région d'étude, constituent des biotopes très favorables aux tiques *Rh. (Boophilus) annulatus*, *Rh. bursa et I. ricinus* (Bouattour, 2002 ; M'ghirbi et Bouattour, 2009) espèces reconnues comme vecteurs de la babésiose bovine à *B. bovis* et *B. bigemina* et de l'anaplasmose bovine à *A. marginale* et *A. phagocytophilum*, en Afrique du Nord (Sergent et *al.*, 1945 ; Sahibi et Rhalem, 2007 ; Dib et *al.*, 2008 ; M'ghirbi et *al.*, 2012). Ceci expliquerait également les taux de séropositivité obtenus pour ces hémopathogènes qui indiquent que ces derniers sont largement distribués dans la région étudiée.

IV. 4.5 Estimation de l'état épidémiologique

Le statut ou l'état épidémiologique d'une maladie transmise par les tiques varie selon les régions : indemne, instable et stable. Les régions indemnes sont celles où les conditions climatiques ne permettent pas la présence des tiques (Ait Hamou et *al.*, 2011). Les régions de l'instabilité enzootique se produisent quand les conditions climatiques et/ou la gestion de bétail affectent la reproduction des tiques (Barros et *al.*, 2005 ; Ait Hamou et *al.*, 2011). La majorité des bovins appartenant à ces régions ne sont pas immunisés contre ces hémopathogènes et sont dans une situation instable envers ces infections avec un grand risque de développer la maladie (Santos et *al.*, 2001). Dans les régions de stabilité enzootique, la majorité des bovins du troupeau sont infectés et immunisés à l'âge de six mois, par conséquent, peu ou pas de cas cliniques et de mortalité aux stades adultes (Madruga et *al.*, 1984 ; Gonçalves, 2000 ; Bock et *al.*, 2004).

De nombreux auteurs ont utilisé les prévalences sérologiques comme un indicateur épidémiologique pour estimer l'endémicité des babésioses et anaplasmoses dans une région donnée (Mahoney et Goodger, 1972 ; Carrique et *al.*, 2000 ; Swai et *al.*, 2004 ; Silva et *al.*, 2009). De façon simplifiée, on estime que la situation est stable si les taux des séropositivités sont supérieurs à 75% et instable lorsque ses taux se situent entre 10% et 75% (Mahoney, 1974 ; Homer et *al.*, 2000 ; L'Hostis et Seegers, 2002 ; Bock et *al.*, 2004). De plus, un grand nombre de cas cliniques ou une augmentation importante de cas cliniques dans une exploitation ou une région sont considérés également comme signes d'instabilité enzootique (Chauvin et *al.*, 2008).

Dans la présente étude, les séroprévalences observées vis-à-vis de l'un ou l'autre des hémopathogènes dans la région étudiée sont < à 75%, ce qui laisse suggérer une situation d'instabilité enzootiques envers ces maladies transmises par les tiques, comme il a été défini par Mahoney (1974) et par Norval et collaborateurs (1992). La même observation a été rapportée au Maroc par Ait Hamou et collaborateurs (2012a), où les séroprévalences déterminées des hémopathogènes étudiés (*B. bovis, B. bigemina, A. marginale et T. annulata*) se situaient entre 10% et 75%, ce qui indique un risque élevé d'atteinte cliniques par au moins l'un des agents infectieux étudiés. Dans cette étude, nous avons constaté une fréquence élevée des cas cliniques. Ce phénomène peut être expliqué par le fait que la transmission de ces hémopathogènes ne se produit pas d'une manière continue dans la population bovine, autrement dit, il y a une rupture d'équilibre (transmission insuffisante ou irrégulière) entre le pathogène, l'hôte et la tique, créant ainsi une situation d'instabilité enzootique. Des situations similaires

d'instabilité enzootique ont été également rapportées dans d'autres pays comme la Tanzanie (Swai et *al.*, 2005), le Portugal (Silva et *al.*, 2009) et le Brésil (Costa et *al.*, 2013). Alors, qu'au Zimbabwe, Tembue et collaborateurs (2011a), ont rapporté des séroprévalences très élevées (> 75%) à *B. bovis* et *B. bigemina* et ils ont suggéré alors un état d'enzootie stable envers la babésiose bovine dans la région étudiée.

IV. 5 Étude de la comparaison des deux méthodes de diagnostic

Dans ce travail, les performances de la méthode du frottis sanguin ont été évaluées par le calcul de la sensibilité, la spécificité, l'exactitude relative, le coefficient kappa de Cohen et le test de Mc Nemar, par rapport aux tests sérologiques (IFAT ou cELISA) pris comme références, et ce pour les 4 hémopathogènes étudiés à savoir : *B. bovis, B. bigemina, A marginale* et *A. phagocytophilum.*

Globalement, la méthode du frottis sanguin a montré une bonne spécificité variant de 98 à 100%, une faible sensibilité entre 20 à 36% et une exactitude variant de 70 à 83%, comparée aux titres seuils en IFAT et en cELISA. Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré des valeurs variant de 0,27 à 0,38 ce qui correspond à une concordance faible entre les deux techniques. Les résultats du test de McNemar ont montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement non différentes ($p > 0,05$). Si on considère les titres en IFAT à une dilution $\geq 1/100$ et en cELISA $\geq$ 50%, on remarque de ce fait, l'augmentation de la spécificité et la diminution de la sensibilité de ces tests sérologiques. Le FS a révélé toujours une bonne spécificité (89-98%) et une exactitude relative élevée (83-95%), la sensibilité s'est améliorée (46-66%) mais elle reste toujours faible comparée aux tests sérologiques.

Ce manque de sensibilité constaté pour le FS expliquerait donc l'énorme différence obtenue entre les résultats parasitologiques et sérologiques pour les 4 hémopathogènes étudiés. Les résultats obtenus dans cette étude peuvent être comparés avec ceux publiés par Akinboade et Dipeolu (1984) qui rapportent également une faible sensibilité de FS pour la détection de *Babesia* et d'*Anaplasma* chez des bovins comparée à l'IFAT. En effet, en utilisant le FS, ils ont obtenu des prévalences de 9%, 3,33% et 8,9% pour *B. bigemina, B. bovis* et *A. marginale* respectivement, alors qu'ils ont observé des prévalences beaucoup plus élevées en IFAT, de 93%, 55% et 68%, respectivement pour les 3 espèces d'hémopathogènes sus-citées. Ils ont conclu alors que la sérologie est mieux adaptée pour les études de prévalences.

La faible sensibilité de FS par rapport aux tests sérologiques peut s'expliquer, d'une part, par la faible parasitémie (ou bactériémie) qui caractérise le portage chronique de ces affections. En effet, sauf dans certains cas de recrudescence d'accès parasitémiques ou bactériémique, *Babesia* et *Anaplasma* ne peuvent être aisément détectés dans des étalements sanguins après l'épisode clinique (Blandino et *al.*, 1995 ; OIE, 2008). De plus, il a été démontré que des bovins peuvent s'infecter par *Babesia* sans présenter d'accès aigu thermique ni parasitaire, ce phénomène est appelé "infection latente d'emblée" (Sergent et *al.*, 1945). D'autre part, le principe de la sérologie qui repose sur la détection des anticorps dirigés contre ces hémopathogènes chez un animal, ne signifie pas que ce dernier est porteur, puisque les anticorps peuvent persister après un traitement curatif ou une guérison spontanée pendant une durée variable selon l'agent pathogène en cause. Autrement dit, la sérologie n'atteste pas la présence de l'agent pathogène au moment du prélèvement, mais bien une trace de son passage chez l'individu, ce qui est tout à fait adapté aux études épidémiologiques.

Nos résultats confirment les nombreux données de la littérature (Friedhoff et Bose, 1994 ; Bose et *al.*, 1995 ; Costa-Junior et al., 2006 ; Aubry et Geale, 2010 ; Ekici et Sevinc, 2011; Galuppi et al., 2012 ; Nayel et *al.*, 2012) qui indiquent que le FS, du fait de son principe qui est basé sur l'observation directe des hémopathogènes au microscope, sa fiabilité provient de la mise en évidence des infections actives, lui conférant les avantages d'un diagnostic de certitude, et par conséquent, une bonne spécificité, comme nous l'avons constaté dans cette étude. Son inconvénient majeur est le manque de sensibilité, à cause de nombreux faux négatifs pendant les phases chroniques des infections. Dans ce dernier cas, le recours aux tests sérologiques pour la détection des anticorps dirigés contre ces hémopathogènes est l'outil le plus adapté pour les études épidémiologiques afin d'évaluer l'importance de ces affections dans une population donnée.

IV. 6 Étude hématologique et biochimique

Les affections causées par les hémopathogènes, en particulier celles causées par les espèces de *Babesia* et d'*Anaplasma*, s'accompagnent souvent par des troubles hématologiques. La connaissance de ces anomalies est d'un grand secours pour le diagnostic complémentaire de ces maladies, en particuliers dans les formes subcliniques, ainsi que pour le pronostic (Merlin, 1986). Dans cette étude, nous avons tenté d'apporter une contribution, par une analyse comparative ayant pour but de mettre en évidence d'éventuels changements du profil

hématologique et biochimique chez des bovins naturellement atteints de la babésiose et de l'anaplasmose, en comparant les résultats à ceux des bovins gardant une bonne santé.

Les variations des paramètres hématologiques observées ont concerné principalement le nombre des érythrocytes, le taux d'hématocrite et d'hémoglobine. Pour l'infection par *B. bovis* et *B. bigemina* et dans toutes les situations, une différence significative entre les animaux sains (nombre des érythrocytes, taux d'hématocrite et d'hémoglobine plus élevés) et les animaux infectés (nombre des érythrocytes, taux d'hématocrite et d'hémoglobine plus bas) a été constatée. Seules les valeurs déterminées chez le groupe cas clinique (séropositifs et présentant des signes cliniques), étaient inférieures aux valeurs usuelles alors que celles observées dans le groupe cas chronique, étaient considérées comme normales. De façon similaire, pour *A. marginale* ces variations sont apparues particulièrement intenses chez les bovins présentant des signes cliniques (groupe de cas clinique), comparées aux bovins séropositifs mais sans signes cliniques (porteurs chroniques). Ces résultats indiquent une influence significative de ces 3 espèces d'hémopathogènes sur les paramètres érythrocytaires particulièrement prononcées pour le groupe cas clinique reflétant ainsi une anémie, qui constitue la plus fréquente manifestation clinique observée chez les bovins atteints de babésiose et d'anaplasmose (Kocan et *al.*, 2010 ; Suarez et Noh, 2011).

Nos résultats corroborent les observations rapportées par Zulfiqar et collaborateurs (2012) qui ont obtenu chez des bovins infectés naturellement par *B. bovis* des taux d'hémoglobine inférieurs à ceux des bovins non infectés. De même, Saleh (2009), a montré des valeurs significativement diminuées chez des bovins infectés naturellement par *B. bigemina* comparés aux contrôles et ceci pour l'hémoglobine, l'hématocrite et le nombre d'érythrocytes. Ashuma et collaborateurs (2013), ont également obtenu des variations similaires pour ces trois paramètres érythrocytaire, chez des bovins infectés naturellement par *A. marginale* en les comparant au groupe contrôle.

L'action synergique de ces trois hémopathogènes dans la dégradation des globules rouges expliquait l'anémie sévère observée dans les cas d'infections mixtes chez le groupe de cas clinique, comme celles associant *B. bovis-B .bigemina*, *B. bovis-A. marginale* et *B. bovis-B .bigemina- A. marginale*. Cette opinion corrobore les observations rapportées par Ekpetsi Bouka et collaborateurs (2001) ayant constaté un phénomène similaire dans la baisse de l'hématocrite chez des taurins co-infectés par *Babesia* et *Trypanosoma* (un autre hémoprotozoaire reconnu également par son effet anémiant chez les animaux infectés).

De plus, pour la co-infection associant *B. bovis*-*B .bigemina*- *A. marginale*, les valeurs de CCMH étaient significativement diminuées chez le groupe cas clinique comparé au groupe contrôle, alors que celles de VGM sont apparues relativement élevées que chez le groupe de cas clinique. Ceci indique une anémie de type régénérative macrocytaire-hypochrome (Bellier et Cordonnier, 2010), reflétant une activation compensatrice de l'hématopoïèse au niveau de la moelle osseuse en réponse à une destruction massive des érythrocytes par une lyse directe (principalement par *B. bovis* et *B .bigemina*) et indirecte par une phagocytose via les macrophages de la rate (Morel, 2000). Ceci rejoint les constations d'autres auteurs qui ont noté les même variations au niveau de ces deux indices érythrocytaires chez des bovins infectés par *A. marginale* (Atif et *al.*, 2012 ; Ashuma et al., 2013).

Si on regarde la situation pour *d'A. phagocytophilum* on remarque également que le nombre des érythrocytes, le taux d'hématocrite et d'hémoglobine ont été significativement diminués chez les bovins de groupe cas clinique et ceux de cas chronique par rapport aux bovins contrôles. Cependant, les valeurs déterminées sont restées dans l'intervalle des valeurs usuelles rapportées dans la littérature. Il semble donc que les paramètres érythrocytaires n'ont relativement pas été modifiés par l'infection à *A. phagocytophilum*. Selon la littérature, une leucopénie caractérisée par une lymphopénie, une neutropénie et une éosinopénie sont généralement reconnues comme les modifications hématologiques majeures de l'infection par *A. phagocytophilum* (Gokce et Woldehiwet, 1999 ; Woldehiwet, 2010). Toutes ces altérations n'ont pas été relevées dans notre étude.

Si on considère maintenant les paramètres biochimiques, nos résultats ont montré que seules les concentrations sanguines en ALAT, chez le groupe cas clinique infecté par *B. bovis* et *A. marginale* sont apparues significativement supérieures à celles du groupe contrôle et sont situées au-delà de la borne supérieure de l'intervalle des valeurs usuelles. De façon similaire, les bovins co-infectés par *B. bovis* et *A. marginale* et présentant des signes cliniques ont affiché des concentrations sanguines en ALAT significativement supérieures à celles du groupe contrôle. Des résultats comparable ont été décrits sur des bovins infectés naturellement par *B. bovis* (Zulfiqar et *al.*, 2012) et *A. marginale* (Coskun et *al.*, 2012 ; Ashuma et *al.*, 2013). L'augmentation de l'ALAT a été également rapportée chez les ovins (Yeruham et *al.*, 1998) et les chiens (Furlanello et *al.*, 2005 ; Zygner et *al.*, 2007) atteints de la babésiose. Cette élévation sérique de l'activité de l'ALAT, chez les bovins présentant des signes cliniques et infectés par *B. bovis* et *A. marginale*, résulte principalement de la destruction des érythrocytes, de la

dégénérescence et de la nécrose des hépatocytes, mais aussi des dommages tissulaires qui sont dus à l'anoxie permanente engendrée par l'anémie (Figueroa et Camus, 2010).

IV. 7 Étude épidémiologique des populations de tiques rencontrées chez le bovin dans la région d'étude

1. Prévalence globale de l'infestation par les tiques

Sur les 200 bovins examinés, 36 ont été infestés avec au moins une espèce de tique, correspondant à une prévalence de 18%. Cette prévalence est inférieure à celle rapportée par Boulkaboul (2003) à Tiaret qui montre une prévalence de 30%. Ce faible taux d'infestation peut être expliqué, d'une part par la variation saisonnière de l'activité des tiques, ainsi que la concentration des espèces dans des microclimats différents les un des autres. D'autre part, par l'application des traitements acaricides dans la plupart des fermes prélevées, pratique inévitable pour ce type d'enquête transversale. Par ailleurs, nous n'avons pas récolté de stades immatures sur les bovins. En effet, les larves et les nymphes sont de petite taille et nécessitent une recherche attentive pour les déceler. Ainsi, l'infestation des bovins par les tiques est certainement sous-estimée dans notre étude.

2. Étude des facteurs de risque associés à l'infestation par les tiques

Nous avons étudiés certains facteurs susceptibles d'influencer positivement ou négativement l'infestation des bovins par ces tiques. Les résultats ont montré que seuls les facteurs tels l'état d'hygiène de la ferme, la saison, la zone AGE et la commune, se sont montrés significativement associés à la présence des tiques sur les bovins.

En effet, pour l'état d'hygiène de la ferme, nous avons constaté que plus l'hygiène est mauvaise, plus le taux d'infestation par les tiques est élevé. Ceci va dans le même sens que les résultats de l'étude de séroprévalence qui indiquait que le facteur état d'hygiène est fortement corrélé avec les taux de séropositivité vis-à-vis des hémopathogènes transmis par les tiques. Pour ce qui est de la saison, nos résultats ont révélé une prévalence des tiques nettement plus élevée en été comparés aux autres saisons. Ceci est à mettre en relation avec la période d'activité maximale des espèces de tiques récoltées qui appartenaient pour la plupart au genre *Hyalomma* ayant un caractère thermophile, actives principalement en saison chaude (Sergent et *al.*, 1945 ; Boulkaboul, 2003). Concernant la zone prospectée, nous avons montré que les bovins de la région du Sahel algérois sont les plus exposés à l'infestation par les tiques, suivis par ceux du Littoral. Les prévalences les plus élevées ont été rapportées dans les communes de Beni-

messous, de Draria (situées dans le Sahel) et de Zeralda (située dans le Littoral). Ces taux d'infestations élevés semblent être en étroite corrélation avec l'abondance du couvert végétal qui caractérise ces zones. En effet, la pluparts des élevages sont situés à proximité des forêts et des oueds, ce qui constitue des biotopes très favorables pour le développement des tiques.

3. Identification et prévalence par espèces de tiques

Parmi les 193 tiques récoltées sur une période de huit mois (de mars à octobre 2013), huit espèces ont été identifiées. *Hyalomma lusitanicum* (68,91%) est la plus abondante suivie par *H. m. marginatum* (16,58%). Cette même tendance a été notée à Tiaret par Boulkaboul (2003).

Rh. (Boophilus) annulatus est celle qui nous intéresse le plus, vu notamment son rôle majeur dans la transmission de *B. bovis*, *B. bigemina* et *A. marginale*. Cette tique a été retrouvée avec une abondance de 3,11% et une prévalence de 1,5%. Ce parasitisme paraît faible, alors qu'un bon nombre de bovins étaient séropositifs vis-à-vis de trois hémopathogènes dont elle est le vecteur. Cette observation peut s'expliquer soit, par le fait, qu'un traitement contre les tiques soit appliqué aux troupeaux juste avant la récolte des tiques et du sang, soit, d'autres espèces de tiques existent mais non encore identifiées à ce jour et qui seront impliquées dans la transmission de ces maladies en Algérie.

La tique *H. d. detritum,* vecteur de *T. annulata*, a été très peu abondante (1,04%), avec une prévalence relativement très faible (0,5%). Ce faible taux d'infestation a été également rapporté par Benchikh-elfegoun et collaborateurs (2007) dans la région de Jijel, une ville caractérisée par un climat humide comme celui qui couvre notre région d'étude. Selon ces auteurs, cette espèce est plutôt adaptée à l'étage du maquis méditerranéen chaud.

Les autres espèces identifiées semblent être également peu abondantes dans notre région d'étude et occasionnent une infestation réduite sur les bovins. II s'agit de *H. anatolicum excavatum, H. impeltatum* et de *Rh. sanguineus*. En effet, pour cette dernière qui est une tique de chien nettement thermophile, nous avons remarqué que tous les bovins infestés (100%) cohabitaient avec des chiens. Ce qui confirme les observations de Yousfi-Monod et Aeschlimann (1986), qui ont constaté que le bétail parasité par cette espèce est en général celui qui cohabite avec les chiens domestiques.

Parmi les espèces de tiques identifiées dans d'autres régions du pays et qui appartiennent au même étage bioclimatique que celui décrit dans notre région d'étude (Benchikh-elfegoun, 2007), *Rh. bursa* et *Rh. turanicus* sont celles qui n'ont pas été retrouvées. Bien que, *Rh. bursa*

soit aussi impliquée dans la transmission de *B. bovis*, *B. bigemina* et *A. marginale* chez les bovins comme pour les *Boophilus* (Sahibi et Rhalem, 2007). Cependant, Bouattour, en 2009, a signalé sa raréfaction au Nord de la Tunisie, sa prévalence est passée de 44,4% en 1944, à 1% durant ces dernières années. Selon cet auteur, cela devrait être la conséquence de l'augmentation de la température suite aux changements climatiques. S'agit-il d'une raréfaction de cette espèce en Algérie? Des investigations complémentaires sont nécessaires pour répondre à cette question.

De même, Boulkaboul (2003), dont l'étude a été réalisée à Tiaret, a mis en évidence treize espèces de tique dont cinq n'ont pas été identifiées dans notre travail : *Rh. bursa*, *Rh. turanicus*, *Haemaphysalis punctata*, *Dermacentor marginatus* et *I. ricinus.* Cette dernière espèce (vecteur de *B. divergens* et d'*A. phagocytophilum*) possède un caractère mésophile et pour s'adapter au climat méditerranéen chaud de l'Afrique du Nord a inversé son rythme d'activité saisonnière par rapport à l'Europe et s'est localisée aux stations les plus humides (Bouattour, 2002). En Algérie, comme nous l'avons déjà signalé, l'activité des adultes, qui sont le principal stade infestant les bovins, s'observe durant l'hiver avec un maximum au mois de février (Sergent et *al.*, 1945). C'est ce qui explique en partie pourquoi nous n'avons pas trouvé cette espèce (la période de l'étude ne coïncidant pas avec l'activité des adultes) malgré la séropositivité rapportée pour *A. phagocytophilum*.

Par ailleurs, dans la présente étude nous avons mis en évidence la présence de *H. m. rufipes* chez un bovin avec une proportion de 1,03% et une prévalence de 0,5%. Cette tique est considérée comme vecteur du virus de la fièvre de Crimée-Congo chez l'homme et d'*A. marginale* chez le bovin (Horak et *al.*, 2001 ; Walker et *al.*, 2003 ; Jongejan et Uilenberg, 2004 ; Camus et Uilenberg, 2010 ; Estrada-Peña et *al.*, 2012). Elle existe à l'état endémique dans les régions subsahariennes d'Afrique, cependant, elle a connu une progression de son aire de distribution ses dernières années (Bouattour, 2009 ; Estrada-Peña et *al.*, 2012). Elle n'a pas pu jusqu'à présent s'installer en Afrique du Nord bien que plusieurs spécimens ont été récoltés en Tunisie et en Libye (Bouattour, 2002 ; 2009). Par conséquent, sa présence dans cette région devrait être le fait d'un parasitisme accidentel, probablement suite à son introduction par les oiseaux migrateurs qui sont les hôtes des stades immatures (Bouattour, 2009).

Enfin, parmi les tiques récoltées, nous avons identifié un nouveau spécimen du genre *Hyalomma*, jamais répertorié auparavant en Afrique du Nord. Sur le plan morphologique, ce spécimen est caractérisé principalement par un prolongement exagéré des plaques accessoires

contrairement aux autres espèces de *Hyalomma* identifiées jusqu'-ici. Pour pouvoir l'identifier, nous envisagerons ultérieurement de réaliser le séquençage moléculaire de gène codant la fraction 12S de l'ADN ribosomal.

IV. 8 Étude de la relation entre la présence de tiques et la prévalence des 4 hémopathogènes identifiés chez le bovin

Nous avons tenté de rechercher l'existence d'un éventuel lien entre la présence des différentes espèces de tiques chez le bovin et la positivité vis-à-vis des 4 hémopathogènes étudiés. Il est important de préciser dès à présent, que l'existence d'un tel lien statistique n'est qu'un indicatif d'un rôle vectoriel possible d'une espèce de tique donnée. Par conséquent, pour pouvoir prouver une telle implication, la biologie moléculaire reste incontournable. En effet, l'usage de la PCR en vue de détecter la présence de séquences spécifiques des différents agents pathogènes au sein des tissus des différentes espèces de tiques a déjà été réalisée avec succès (Lempereur et *al.*, 2010). Cela étant dit, même si l'agent infectieux existe bien chez une tique, son niveau reste à déterminer, ainsi que la capacité réelle de la tique à pouvoir le propager parmi le cheptel, c'est ce qu'on appelle l'étude de la capacité vectorielle.

Globalement, nos résultats ont révélé une association significative entre la prévalence parasitologique de *B. bovis* et la présence de *Rh. (Boophilus) annulatus* chez le bovin. Ceci semble logique puisque cette espèce de tique est le vecteur principal de ce protozoaire (Sergent et *al.*, 1945). En revanche, ce qui nous a paru surprenant, c'est l'association significative constatée entre le nombre de bovins positifs (par FS et par sérologie) à *B. bovis* et l'infestation par *H. lusitanicum* et *H. m. marginatum.* De même, pour *B. bigemina,* nous avons pu mettre en évidence une association significative entre les bovins positifs au FS et l'infestation par *H. lusitanicum,* en plus de *H. d. detritum* et *Hyalomma spp.* Ces résultats laissent suggérer que ces espèces appartenant au genre *Hyalomma* pourraient assurer la transmission de ces deux *Babesia*.

Comparativement à la littérature, plusieurs espèces de *Hyalomma spp* ont été signalées comme pouvant être des vecteurs potentiels de différentes espèces de *Babesia*. À titre d'exemple, en Russie, ce sont des nymphes de *H. anatolicum* qui étaient impliquées dans la transmission de *B. beliceri* (Chaudhri et *al.*, 1975), en Afrique du Sud, *B. ocultans* a été transmise par des nymphes et des adultes de *H. marginatum* (Gray et DeVos, 1981). En Chine, il a été rapporté que les nymphes issues des femelles d' *H. anatolicum* collectées dans l'environnement pouvaient être des vecteurs de *Babesia spp* (Luo et al., 2002). Enfin, toujours dans le même

pays, Luo et collaborateurs (2003), ont démontré que trois espèces de *Hyalomma* (*H. anatolicum*, *H. detritum* et *H. rufipes*) pouvaient transmettre expérimentalement une espèce de Babesia (désignée *Babesia U sp*) nouvellement identifiée chez les bovins. De plus, ils ont constaté que chez ces tiques, la transmission s'effectue à la fois de façon transtadiale et transovarienne.

Pour le cas d'*A. marginale*, et d'après les sources de la littérature, il existe une vingtaine d'espèces de tiques impliquées dans sa transmission expérimentale (Kocan et *al*., 2004 ; OIE, 2008 ; Aubry et Geale, 2011). Parmi ces espèces, *H. excavatum* et *H. m. marginatum* ont été d'une part, identifiées dans notre travail et d'autre part, elles se sont montrées significativement associées à la séropositivité vis-à-vis de d'*A. marginale,* en plus de la tique *H. lusitanicum* qui n'a été pourtant pas répertoriée parmi les tiques vectrices d'*A. marginale.*

Ces résultats sont à mettre en relation avec notre hypothèse qui stipule l'existence d'autres espèces de tiques impliquées dans la transmission de *B. bovis*, *B. bigemina* et *A. marginale* en Algérie. Ces observations suscitent des interrogations sur le rôle vectoriel réel de ces tiques, particulièrement celles dont la dominance numérique a été la plus marquée, à savoir : *H. lusitanicum* et *H. m. marginatum.* Dans le même sens que nos observations, Boulkaboul (2003) souligne l'importance d'approfondir les investigations concernant l'incidence pathologique indirecte de ces deux espèces de tiques.

Par ailleurs, pour *A. phagocytophilum,* aucune association significative n'a été mise en évidence entre la présence des différentes espèces de tiques récoltées, à savoir celles du genre *Hyalomma* et *Rhipicephalus* et la positivité des bovins pour cette bactérie. Ce résultat corrobore certaines données de la littérature qui spécifient qu'*Ixodes ricinus* semble être le principal voire l'unique vecteur de cette rickettsie en Afrique du Nord (M'ghirbi et *al.*, 2012).

Conclusion générale et perspectives

Ce travail nous a permis de mettre en évidence, par examen parasitologique et/ou sérologique, la présence de différentes espèces de *Babesia* et d'*Anaplasma* dans la population bovine de la région d'Alger, avec notamment une prédominance de *B. bovis* suivie d'*A. marginale* et de *B. bigemina.* Par ailleurs, et pour la première fois, *A. phagocytophilum* a été décrite chez le bovin en Algérie alors que d'habitude elle est considérée se cantonnant qu'en Europe.

Les cas de co-infections ont été très fréquents, ce qui confirme une certaine communauté de vecteurs de transmission (tiques), évoquant ainsi l'existence de complexes de maladies infectieuses transmises via les tiques. Ces derniers peuvent interagir et induire un tableau clinique inhabituel chez le bovin. Nos résultats mettent aussi en exergue la présence de nombreux facteurs de risque de transmission de *Babesia* et d'*Anaplasma* aux bovins, tels que l'âge, la race, l'origine, l'état d'hygiène de la ferme, la pratique du pâturage, la présence des tiques ou encore leur contrôle, la commune et la saison.

De plus, au cours de ce travail, nous avons recensé et identifié les différentes espèces de tiques infestant les bovins de la région. Parmi ces dernières, *H. lusitanicum* a eu la prévalence la plus élevée. Les espèces reconnues comme vecteurs de *Babesia* et d'*Anaplasma* en Algérie ont été peu fréquentes (*Rh. annulatus*) voire absentes (*Rh. bursa et I. ricinus*). Par ailleurs, nous avons identifié la présence de *H. m. rufipes* chez le bovin avec la description d'un nouveau spécimen du genre *Hyalomma* jamais répertorié auparavant en Afrique du Nord.

Les séroprévalences obtenues vis-à-vis des hémopathogènes étudiés indiquent que ces derniers sont largement distribués dans la région d'Alger et sévissent probablement sous forme d'enzooties instables. La meilleure méthode de contrôle qui permettrait d'établir ou de rétablir une situation de stabilité enzootique au sein des élevages étudiés serait l'immunisation des animaux susceptibles associée à un traitement efficace des cas cliniques et à un contrôle régulier des infestations par les tiques.

Cette étude a révélé aussi la difficulté pour les éleveurs de reconnaitre ces maladies et de les traiter à temps, ainsi que le manque d'information sur le rôle vecteur des tiques. Les conditions et les pratiques d'élevage semblent être globalement favorables à la transmission des infections par les tiques. Par conséquent, un programme de sensibilisation des éleveurs aux différents facteurs de risque et aux mesures de préventions et de traitements serait bénéfique.

Les résultats de nos travaux permettent d'entrevoir aussi une série d'études en perspectives visant à améliorer davantage les connaissances et les moyens de contrôle concernant ces maladies transmises par les tiques en Algérie.

Dans une première étape, il serait intéressant de poursuivre ce type d'études épidémiologiques dans d'autres régions du pays caractérisées par des situations écologiques très diverses. Ceci permettra d'acquérir des connaissances approfondies sur ces maladies et une meilleure maitrise des facteurs de risque au sein des différents systèmes de production animale, dont le but de construire des modèles de lutte standard adaptée à chaque contexte épidémiologique voire à chaque élevage. En parallèle, des études expérimentales devraient viser à mieux comprendre les relations entre les agents infectieux et leurs vecteurs, en précisant la capacité vectorielle de certaines espèces de tiques, en mettant en évidence les nombreuses infections concomitantes chez les différents hôtes et les interactions possibles.

Dans une étape ultérieure, d'orienter les recherches visant le développement de vaccins efficaces, notamment les vaccins recombinants qui subissent actuellement une phase de test en plein champ et l'insérer dans une approche globale de lutte.

Enfin, il n'en demeure pas moins intéressant de compléter par d'autres investigations visant d'autres maladies transmises par les tiques chez le bovin jusqu'ici non étudiées, telle que la borréliose de Lyme.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

ABBOTT J.R., PALMER G.H., HOWARD C.J., HOPE J.C., BROWN W.C. Anaplasma marginale major surface protein 2 CD4+ T cell epitopes are evenly distributed in conserved and hypervariable regions (HVR), whereas linear B cell epitopes are predominantly located in the HVR. Infect Immun., 2004, 72, 1096–106.

AGOULON A., MALANDRIN L., LEPIGEON F., VENISSE M., BONNET S., BECKER C.A.M., HOCH T., BASTIAN S., PLANTARD O., BEAUDEAU F. A vegetation Index qualifying pasture edges is related to *Ixodes ricinus* density and to Babesia divergens seroprevalence in dairy cattle herds. Veterinary Parasitology, 2012, 185, 101-109.

AISSAOUI C., BENAKHLA A., BENAKHLA SH., BENOUERETH J.E. Identification des principales espèces de tiques des bovins dans la région d'El-Tarf (Nord-Est Algerian). Renc. Rech. Ruminants, 2002, 9.

AIT HAMOU S., RAHALI T., SAHIBI H., BELGHYTI D., LABOUDI M., RHALEM A. Séroprévalences de *Babesia bovis* et de *Babesia bigemina* chez les bovins au Nord Centre du Maroc. ScienceLib Editions Mersenne, 2011, 3 (111103), 2111-4706.

AIT HAMOU S., RAHALI T., SAHIBI H., BELGHYTI D., LOSSON B., GOFF W., RHALEM A. Molecular and serological prevalence of *Anaplasma marginale* in cattle of North Central Morocco. Research in Veterinary Science, 2012b, 93, 1318–1323.

AIT HAMOU S., RAHALI T., SAHIBI H., BELGHYTI D., LOSSON B., RHALEM A. Séroprévalences des hémoparasitoses bovines dans deux régions irriguées du Maroc. Revue Méd. Vét., 2012a, 163, 10, 480-485.

AKINBOADE O.A., DIPEOLU O.O. Comparison of blood smear and indirect fluorescent antibody techniques in detection of haemoparasite infections in trade cattle in Nigeria. Vet Parasitol., 1984,14 (2), 95-104.

AKTAS M., ALTAY K., OZUBEK S., DUMANLI N. A survey of ixodid ticks feeding on cattle and prevalence of tick-borne pathogens in the Black Sea region of Turkey. Veterinary Parasitology, 2012, 187, 567–571.

ALFREDO A.A.N., JONSSON N.N., FINCH T.M., NEVES L., MOLLOY J.B., JORGENSEN W.K. Serological Survey of Babesia bovis and Anaplasma marginale in cattle in Tete Province, Mosambique. Tropical Animal Health and Production, 2005, 37, 121-131.

ALKAREEM I.B.G., ABDELGADIR A. E., ELMALIK KH. H. Study on prevalence of parasitic diseases in cattle in Abyei area: Sudan. J. Cell Anim. Biol., 2012, 6 (6), 88-98.

ALLRED D.R., AL-KHEDERY B. Antigenic variation as an exploitable weakness of babesial parasites. Veterinary Parasitology, 2006, 138, 50-60.

ALLRED R.D. Antigenic variation in babesiosis: is there more than one 'why'? Microbes and Infection, 2001, 3,481-491.

ALONSO M., ARELLANO-SOTA C., CERESER V.H., CORDOVES C.O., GUGLIELMONE A.A., KESSLER R., MANGOLD A.J., NARI A., PATARROYO J.H., SOLARI M.A., VEGA C.A., VIZCAÍNO O., CAMU E. Epidemiology of bovine anaplasmosis and babesiosis in Latin America and the Caribbean. Rev. Sci. Tech. Off. Int Epiz., 1992, 11 (3), 713-733.

AMIEL C., ABADIA G., CHOUDAT D. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe.

Médecine et maladies infectieuses, 2004, 34, 111–122.

AMUSATEGUI N., SAINZ A., TESOURO M.A. Serological Evaluation of *Anaplasma phagocytophilum* Infection in Livestock in North western Spain. Ann. N.Y. Acad. Sci., 2006, 1078, 487-490. doi: 10.1196/annals. 1374.091.

ANDERSON J.F., MAGNARELLI L.A. Biology of Ticks. Infect Dis Clin N Am, 2008, 22, 195–215.

APPLEWHAITE L.M., CRAIG T.M., WAGNER G.G. Serological prevalence of bovine babesiosis in Guyana. Trop. Anim. Health Prod., 1981, 13, 13–18.

ARAUJO F.R., MADRUGA C.R., LEAL C.R.B., SCHENK M.A.M., KESSLER R.H., MARQUES A.P.C., LEMAIRE D.C. Comparison between enzyme-linked immunosorbent assay, indirect fluorescent antibody and rapid conglutination tests in detecting antibodies against *Babesia bovis*. Veterinary Parasitology, 1998, 74, 101–108.

ASHUMA, SHARMA A., DAS SINGLA L., KAUR P., BAL M. S., BATTH B.K., JUYAL P.D. Prevalence and haemato-biochemical profile of Anaplasma marginale infection in dairy animals of Punjab (India). Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 2013, 139-144.

ATIF F.A., KHAN M. S., IQBAL H. J., ARSHAD G.M., ASHRAF E., ULLAH S. Prevalence of Anaplasma marginale, *Babesia bigemina* and *Theileria annulata* infections among cattle in Sargodha District, Pakistan. Afr. J. Agric. Res., 2012, 7 (22), 3302-3307.

ATIF F.A., KHAN M.S., ROHEEN T., MUHAMMAD F., YOUNUS M., AVAIS M., ULLAH S. Seroprevalence of *Anaplasma marginale* infection among cattle from three districts of the northern Punjab, Pakistan. The Journal of Animal and Plant Sciences, 2013, 23 (4), 995-998.

AUBRY P., GEALE D.W. A Review of Bovine Anaplasmosis. Transboundary and Emerging Diseases, 2011, 58, 1–30.

AZZAG N. Etude de l'infection par les principales bactéries hémotropes transmises par les arthropodes hématophages chez les carnivores domestiques dans la région d'Alger. 257 pages. Thèse de Doctortat-ENSV/ENVA, 2012.

BAGGIOLINI M., DEWALD B., MOSER B. Interleukine-8 and related chemotactic cytokines – CXC and CC chemokines. Adv Immunol., 1994, 55, 97-179.

BARKER S.C., MURRELL A. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. Parasitology, 2004, 129, S15–S36.

BARRE N., UILENBERG G. Ticks. In: Lefeve P-C., Blancou J., Chermette R., Uilenberg G. (Eds), Infectious and Parasitic Diseases of Livestock. Second edition. Lavoisier: Italie, 2010, 93-136.

BARROS S.L., MADRUGA C.R., ARAÚJO F.R., MENK C.F., DE ALMEIDA M.A.O., MELO E.P.S., KESSLER R.H. Serological survey of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Anaplasma marginale* antibodies in cattle from the semi-arid region of the state of Bahia, Brazil, by enzyme-linked immunosorbent assays. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2005, 100 (6), 613-617.

BELLIER S., CORDONNIER N. Les valeurs usuelles en hématologie vétérinaire. Revue Francophone Des Laboratoires, 2010, 420, 27-42.

BENCHIKH-ELFEGOUN M.C., BENAKHLA A., BENTOUNSI B., BOUATTOUR A., PIARROUX R. Identification et cinétique saisonnière des tiques parasites des bovins dans la région de taher (Jijel) Algérie. Ann. Méd. Vét., 2007, 151, 209-214.

BITAM I. Vectors of rickettsiae in Africa. Ticks Tick Borne Dis., 2012, 3 (5-6), 382-6. doi: 10.1016/j.ttbdis.2012.10.011.

BITAM I., PAROLA P., MATSUMOTO K., ROLAIN J.M., BAZIZ B., BOUBIDI S.C., HARRAT Z., BELKAID M., RAOULT D. First molecular detection of *R. conorii*, *R. aeschlimannii*, and *R. massiliae* in ticks from Algeria. Ann N Y Acad Sci., 2006, 1078 : 368-72.

BLANDINO T., BARRERA M., ALONSO M., FAURE M., RODRIGUEZ DIEGO J.G. Diagnostic de *Babesia bigemina* avec le test à I'immunoperoxydase. Revue Elev. Méd. Vét. Pays trop., 1995, 48 (3), 244-246.

BOCK R., JACKSON L., DE VOS A., JORGENSEN W. Babesiosis of cattle. Parasitology 2004, 129, S247-S269.

BOCK R.E., DEVOS A.J., MOLLOY J.B. Tick-borne diseases of Cattle. Australian and New Zealand Standard Diagnostic Procedures, 2006, 1-29.

BOSE R., JORGENSEN W.K , DALGLIESH R.J., FRIEDHOFF K.T., DE VOS A.J. Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis. Vet Parasitol, 1995, 57, 61–74.

BOUATTOUR A. Clé dichotomique et identification des tiques (Acari : Ixodidae) parasites du bétail au Maghreb. Archs. Inst. Pasteur Tunis, 2002, 79, 1-4.

BOUATTOUR A. Les changements climatiques et leurs impacts sur les systèmes vectoriels. In : Bulletin de la Société vétérinaire pratique de France (Ed.), avril/mai/juin, 2009, 2 (93), 3-10.

BOUATTOUR A., DARGHOUTH M.A. First report of *Babesia divergens* in Tunisia. Vet. Parasit., 1996, 63, 161-165.

BOUATTOUR A., GHAMMAM M., DARGHOUTH M., TOUIL S., TAHRI M., BEN HAMOUDA F. Séroépidémiologie de la babésiose bovine à *Babesia divergens* en Tunisie. Revue Élev. Méd. Vét. Pays trop., 2004, 57 (1-2), 59-64.

BOULKABOUL A. Parasitisme des tiques (Ixodidae) des bovins à Tiaret, Algérie. Rev. Elev. Med. Vét. Pays Trop., 2003, 56, 157-162.

BOURDOISEAU G., L'HOSTIS M. Les babésioses bovines. Point vét., 1995, 27, 125-131.

BOWN K.J., BEGON M., BENNETT M., BIRTLES R.J., BURTHE S., LAMBIN X., TELFER S., WOLDEHIWET Z., OGDEN N.H. Sympatric Ixodes trianguliceps and Ixodes ricinus ticks feeding on field voles (Microtus agrestic): potential for increased risk of Anaplasma phagocytophilum in the united Kingdom? Vector Borne Zoonotic Dis., 2006, 6, 404-410.

BRAYTON K., KAPPMEYER L.S., HERNDON D.R., DARK M.J., TIBBALS D.L., PALMER G.H., MCGUIRE T.C., KNOWLES D.P. Complete genome sequencing of *Anaplasma marginale* reveals that the surface is skewed to two superfamilies of outer membrane proteins. Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A, 2005, 102 (3), 844-849.

BRAYTON K.A., LAU A.O.T., HERNDON D.R., HANNIC K.L., KAPPMEYER L.S., BERENS S.J.,BIDWELL S.L., BROWN W.C., CRABTREE J., FADROSH D., FELDBLUM T., FORBERGER H.A., HAAS B.J., HOWELL J.M., KHOURI H., KOO H., MANN D.J., NORIMINE J., PAULSEN I.T., RADUNE D., REN Q., SMITHJR R.K., SUAREZ C.E., WHITE O., WORTMAN J.R., KNOWLESJR. D.P., MCELWAIN T.F., NENE V.M. Genome sequence of *Babesia bovis* and comparative analysis of apicomplexan hemoprotozoa. PLoS Pathog, 2007, 3 (10), e148.

BROUQUI P. Ehrlichiosis in Europe. In: Rickettsiae and rickettsial diseases at the turn of the third millennium. Paris: Elsevier, 1999, 393-405.

BROWN W.C. Adaptive immunity to *Anaplasma* pathogens and immune dysregulation: implications for bacterial persistence. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 2012, 35, 241-252.

BROWN W.C., NORIMINE J., GOFF W.L., SUAREZ C.E., MCELWAIN T.F. Prospects for recombinant vaccines against Babesia bovis and related parasites. Parasite Immunology, 2006a, 28, 315-327.

BROWN W.C., NORIMINE J., KNOWLES D.P., GOFF W.L. Immune control of *Babesia bovis* infection, Veterinary Parasitology, 2006b, 138, 75-87.

BULING A., CRIADO-FORNELIO A., ASENZO G., BENITEZ D., BARBA-CARRETERO J.C., FLORIN-CHRISTENSEN M. A quantitative PCR assay for the detection and quantification of *Babesia bovis* and *B. bigemina*. Veterinary parasitology, 2007, 147, (1-2), 16-25.

BURRI C., DUPASQUIER C., BASTIC V., GERN L. Pathogens of Emerging Tick-Borne Diseases, *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia spp*., and *Babesia spp*., in Ixodes Ticks Collected from Rodents at Four Sites in Switzerland (Canton of Bern). Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 2011. DOI: 10.1089 /vbz.2010.0215.

CAMUS E., UILENBERG G. Anaplasmosis. In: Lefeve P-C., Blancou J., Chermette R., Uilenberg G. (Eds), Infectious and Parasitic Diseases of Livestock. Second edition. Lavoisier: Italie, 2010, 1247-1263.

CARLYON J.A., FIKRIG E. Invasion and survival strategies of Anaplasma phagocytophilum. Cell. Microbiol., 2003, 5, 743-754.

CARRIQUE J.J., MORALES G.J., EDELSTEN M. Endemic instability for babesiosis and anaplasmosis in cattle in the Bolivian Chaco. Vet. J., 2000, 160,162–164.

CHAUDHRI R.P., GILL B.S., KHAN N.H. Studies on transmission of Babesia bigemina. Ann. Soc. Belg. Med. Trop., 1975, 55,327–332

CHAUVIN A., MALANDRIN L., AGOULON A., BASTIAN S., CESBRON N., L'HOSTIS M. B. La babésiose bovine à *B. divergens* : stabilité, émergence et interactions avec les protozoaires co-circulants chez le bovin ou la tique vectrice. Renc. Rech. Ruminants, 2008, 15.

CHAUVIN A., MOREAU E., BONNET S., PLANTARD O., MALANDRIN L. Babesia and its hosts : adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. Vet. Res., 2009, 40, 37 doi: 10.1051/vetres/2009020.

CHEN S.M., DUMLER J.S, BAKKEN J.S, WALKER D.H. Identification of a granulocytotropic Ehrlichia species as the etiologic agent of human disease. J. Clin. Microbiol. 1994, 32, 589-595.

COOKE B.M., MOHANDAS N., COWMAN A.F., COPPEL R.L. Cellular adhesive phenomena in apicomplexan parasites of red blood cells. Veterinary Parasitology, 2005, 132, 273-295 doi:10.1016/j.vetpar.2005.07.002.

COSKUN A, EKICI OD, GUZELBEKTES H, AYDO GDU, SEN I. Acute phase proteins, clinical, haematological and biochemical parameters in dairy cows naturally infected with *Anaplasma marginale*. Kafkas. Univ. Vet. Fak. Derg., 2012, 18 (3), 497-502.

COSTA V.M.M., RIBEIRO M.F.B., DUARTE A.L.L., MANGUEIRA J.M., A.F.A. PESSOA, AZEVEDO S.S., DE BARROS A.T.M., RIET-CORREA F., LABRUNA M.B. Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal, 2013, 22 (2), 207-213.

COSTA-JUNIOR L.M., RABELO E.M.L., FILHO O.A.M., RIBEIRO M.F.B. Comparison of different direct diagnostic methods to identify *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in animals vaccinated with live attenuated parasites. Veterinary Parasitology, 2006, 139, 231–236.

CRINGOLI G., OTRANTO D., TESTINI G., BUONO V., DI GIULIO G., TRAVERSA D., LIA R., RINALDI L., VENEZIANO V., PUCCINI V. Epidemiology of bovine tick-borne diseases in southern Italy. Vet. Res., 2002, 33, 421-426.

DANTAS-TORRES F., CHOMEL B.B., OTRANTO D. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. Trends in Parasitology, 2012, 28 (10), 437- 446.

DE LA FUENTE J., BLOUIN E.F., MANZANO-ROMAN R., NARANJO V., ALMAZÁN C., DE LA LASTRA J.M.P., ZIVKOVIC Z., JONGEJAN F., KOCAN K.M. Functional genomic studies of tick cells in response to infection with the cattle pathogen, Anaplasma marginale. Genomics, 2007, 90, 712–722.

DE LA FUENTE J., KOCAN K.M., BLOUIN E.F., ZIVKOVIC Z., NARANJO V., ALMAZAN C., ESTEVES E., JONGEJAN F., DAFFRE S., MANGOLD A.J. Functional genomics and evolution of tick–Anaplasma interactions and vaccine development. Veterinary Parasitology, 2010, 167, 175–186.

DE LA FUENTE J., LEW A., LUTZ H., MELI M. L., HOFMANN-LEHMANN R., SHKAP V., MOLAD T., J. MANGOLD, C. ALAMAZAN, V. NARANJO, C. GORTAZAR, A. TORINA, S. CARACAPPA, A. L. GARCIA-PEREZ A., BARRAL M., OPORTO B., CECI L., CARELLI G., BLOUIN E. F., KOCAN K. M. Genetic diversity of Anaplasma species major surface proteins and implications for anaplasmosis serodiagnosis and vaccine development. Anim. Health Res. Rev., 2005a, 6, 75–89.

DE LA FUENTE J., TORINA A., CARACAPPA S., TUMINO G., FURLA R., ALMAZA C., KOCAN K.M. Serologic and molecular characterization of Anaplasma species infection in farm animals and ticks from Sicily. Veterinary Parasitology, 2005b, 133, 357–362.

DE VOS A.J. Distribution, economic importance and control measures for Babesia and Anaplasma. In: Dolan T.T. (Ed), recent developments in the control of anaplasmosis, babesiosis and cowdriosis: Proceedings of a Workshop Held at ILRAD, Nairobi, Kenya, 1992.

DE WAALS D. T. Anaplasmosis Control and Diagnosis in South Africa. Ann. New York Acad. Sc., 2000, 916, 474-483.

DEVOS J., GEYSEN D. Epidemiological study of the prevalence of *Babesia divergens* in a veterinary practice in the mid-east of France. Veterinary Parasitology, 2004, 125, 237-249.

DIB L., AZZOUZ Z., BENSOUILAH M. Les tiques de bovins dans l'Est Algérien. Approche taxonomique et distribution spatio-temporelle. Renc. Rech. Ruminants, 2002, 9.

DIB L., BITAM I., TAHRI M., BENSOUILAH M., DE MEEÛS T. Competitive Exclusion between Piroplasmosis and Anaplasmosis Agents within Cattle. PLoS Pathog, 2008, 4 (1): e7. doi:10.1371/journal.ppat.0040007.

DONNELLY, J., PEIRCE M.A. Experiments on the transmission of *Babesia divergens* to cattle by the tick Ixodes ricinus. Int. J. Parasitol., 1975, 5, 3, 363–367.

DOUDIER B., OLANO J., PAROLA P., BROUQUI P. Factors contributing to emergence of *Ehrlichia* and *Anaplasma spp*. As human pathogens. Veterinary Parasitology, 2010, 167, 149–154.

DREHER U.M., DE LA FUENTE J., HOFMANN-LEHMANN R., MELI M.L., PUSTERLA N., KOCAN K.M.,

WOLDEHIWET Z., BRAUN U., REGULA G., STAERK K.D.C., LUTZ H. Serologic Cross-Reactivity between *Anaplasma marginale* and *Anaplasma phagocytophilum.* CLIN. DIAGN. LAB. IMMUNOL, 2005, 12, 1177–118.

DUMLER J.S. Anaplasma and Ehrlichia infection. Ann. N.Y. Acad. Sci., 2005, 1063, 361-373.

DUMLER J.S., BAKKEN J.S. Human erlichioses: newly recognized infections transmitted by ticks. Annu. Rev. Med., 1998, 49, 201-213.

DUMLER J.S., BARBET A.F., BEKKER C.P.J., DASCH G.A., PALMER G.H., RAY S.C., RIKIHISA Y., RURANGIRWA F.R.: Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2001, 51, 2145–2165.

DUMLER J.S., BROUQUI P. Molecular diagnosis of human granulocytic anaplasmosis. Expert Rev. Mol. Diagn., 2004, 4 (4), 559-569.

DUMLER J.S., TRIGIANI E.R., BAKKEN J.S., AUERO-ROSENDELD M.E., WORMSER G. Serum cytokine responses during acute human granulocytic ehrlichiosis. Clin. Diagn. Lab. Immunol., 2000, 7, 6–8.

DUNNING HOTOPP J.C., LIN M., MADUPU R., CRABTREE J., ANGIUOLI S.V., EISEN J., SESHADRI R, REN Q., WU M. et *al.* Comparative genomics of emerging human ehrlichiosis agents. PLOS Genetics, 2006, 2, 208-223.

EBANI V., CERRI D., FRATINI F., AMPOLA M., ANDREANI E. Seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in domestic and wild animals from central Italy. NEW MICROBIOLOGICA, 2008, 31, 371-375.

EGENVALL A., LILLIEHOOK I., BJOERSDORFF E., ENGVALL E., KARLSTAM E., ARTURSSON K. et al. Detection of granulocytic Ehrlichia species DNA by PCR in persistently infected dogs. Vet. Rec., 2000, 146,186-190.

EKICI O.D., SEVINC F. Comparison of cELISA and IFA tests in the serodiagnosis of anaplasmosis in cattle. Afr. J. Microbiol. Res., 2011, 5 (10), 1188-1191.

EKPETSI BOUKA C., BATAWUI K., NAPALA A., BASTIAENSEN P., FAYE N., HENDRICKX G. Parasitoses des veaux dans la région septentrionale du Togo. Revue Élev. Méd. vét. Pays trop., 2001, 54 (1), 17-27.

EL HAJ N., KACHANI M., BOUSLIKHANE M., OUHELLI H., AHAMI A.T., KATENDE J., MORZARIA S.P. Séroépidémiologie de la theiléiose à *Theileria annulata* et de la babésiose à *Babesia bigemina* au Maroc. Revue Méd. Vét. 2002a, 153 (3), 189-196.

EL HAJ N., KACHANI M., OUHELLI H., BOUSLIKHANE M., AHAMI A.T., EL GUENNOUNI R., EL HASNAOUI M., KATENDE J.M., MORZARIA S.P. Eudes épidémiologiques sur *Babesia bigemina* au Maroc. Revue Méd. Vét., 2002b, 153, 12, 809-814

ESTRADA-PEÑA A., AYLLON N., DE LA FUENTE J. Impact of climate trends on tick-borne pathogen transmission. Frontiers in Physiology, 2012, 3 (64), 1-12.

ESTRADA-PEÑA A., GRAY J.S., KAHL O., LANE R.S., NIJHOF A.M. Research on the ecology of ticks and tick-borne pathogens-methodological principles and caveats. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2013, 3 (29), 1-12.

EUZEBY J. Babésiidés et babésiidoses. In: Protozoologie médicale comparé. Éd.: Collection foundation Marcel Merieux, Press, Paris., 1988, 558 p.

FAROUGOU S., TASSOU A.W., TCHABODE D.M., KPODEKON M., BOKO C., YOUSSAO A.K.I. Tiques et hémoparasites du bétail dans le nord-Bénin. Revue Méd. Vét., 2007, 158, 8-9, 463-467.

FERNANDEZ-RUVALCABA M., CANTO ALARON G.J., ABOYTES TORRES R.: Seroprevalence of *Babesia spp*. and *Anaplasma spp* in the municipality of Santiago Ixcuintla, Mexico. Vet. Mexico, 1995, 26, 407-409.

FIGUEROA J.V., L'HOSTIS M., CAMUS E. Babesiosis. In: Lefeve P-C., Blancou J., Chermette R., Uilenberg G. (Eds), Infectious and Parasitic Diseases of Livestock. Second edition. Lavoisier: Italie, 2010, 1819-1833.

FIGUEROA J.V., PRECIGOUT E., CARCY B., GORENFLOT A. Identification of Common Antigens in *Babesia bovis*, *B. bigemina*, and *B.divergens.* Ann. N. Y. Acad. Sci., 2006, 1081, 382–396.

FLACH E.J., OUHELLI H., WADDINGTON D., OUDDICH M., SPOONER R.L.: Factors influencing the transmission and incidence of tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection in cattle) in Morocco. Vet. Parasitol., 1995, 59, 177-188.

FOLEY J.E., KRAMER V., WEBER D. Experimental infection of dusky-footed wood rats (Neotoma fuscipes) with Ehrlichia phagocytophila sensu lato. J.Wildl. Dis., 2002, 38, 194-198.

FRANZEN P., ASPAN A., EGENVALL A., GUNNARSSON A., ABERG L., PRINGLE J. Acute clinical, hematologic, serologic, and polymerase chain reaction findings in horses experimentally infected with a European Strain of *Anaplasma phagocytophilum*. J. Vet. Intern. Med., 2005, 19, 232-239.

FRENCH D.M., BROWN W.C., PALMER G.H. Emergence of *Anaplasma marginale* antigenic variants during persistent rickettsemia. Infect. Immun., 1999, 67, 5834-5840.

FRENCH D.M., MCELWAIN T.F., MCGUIRE T.C., PALMER G.H. Expression of Anaplasma marginale major surface protein 2 variants during persistent cyclic rickettsemia. Infect. Immun., 1998, 66, 1200–1207.

FRIEDHOFF K., BOSE R. Recent developments in diagnostics of some tick-borne diseases. In: UILENBERG G., PERMIN A., HANSEN J.W. (eds). Use of applicable biotechnological methods for diagnosing haemoparasites. Proceedings of the Expert Consultation, Merida, Mexico, October 4–6, 1993. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy, 1994, 46–57.

FURLANELLO T., FIORIO F., CALDIN M., LUBAS G., SOLANO-GALLEGO L.: Clinicopathological fndings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form Babesia from dogs of northeastern Italy. Vet. Parasitol., 2005, 134, 77-85.

GACHOHI J.M., NGUMI P.N., KITALAD P.M., SKILTON R.A. Estimating seroprevalence and variation to four tick-borne infections and determination of associated risk factors in cattle under traditional mixed farming system in Mbeere District, Kenya. Preventive Veterinary Medicine, 2010, 95, 208-223.

GALUPPI R., BONOLI C., AURELI S., CASSINI R., MARCER F., FOLEY J.E., TAMPIERI M.P. Comparison of diagnostic methods to detect piroplasms in asymptomatic cattle. Veterinary Parasitology, 2012, 183, 364–368.

GE Y., RIKIHISA Y. Identification of novel surface proteins of Anaplasma phagocytophilum by affinity purification and proteomics. J Bacteriol, 2007, 189, 7819–7828.

GEORGE J.E., POUND J.M., DAVEY R.B. Acaricides for controlling ticks on cattle and the problem of acaricide resistance. In: ed. Bowman A.S. and Nuttall P.A. (Eds), Ticks: Biology, Disease and Control. Cambridge University Press: United States, 2008, 408-423.

GHALMI F., CHINA B., GHALMI A., HAMMITOUCHE D., LOSSON B. Study of the risk factors associated with Neospora caninum seroprevalence in Algerian cattle populations. Research in Veterinary science, 2012, 93, 655-661.

GHARBI M., MHADHBI M., DARGHOUTH M.A. Diagnostic de la theiléria tropicale du bœuf (infection par *Theileria annulata*) en Afrique du Nord. Revue Méd. Vét. 2012, 163 (12), 563-571.

GHARBI M., UILENBERG G. Les rickettsioses des ruminants domestiques transmises par les tiques : éléments taxonomiques et diagnostic de laboratoire. Archs. Inst. Pasteur Tunis, 2004, 81, 1-4.

GIARDINA S., ASO P.M., BRETANA A. Antigen recognition on *Anaplasma marginale* and bovine erythrocytes: An electron microscopy study. Vet. Immunol. Immunopathol., 1993, 38, 183-191.

GOHIL S., KATS L., STURMAND A., COOKE B. Recent insights in to alteration of red blood cells by *Babesia bovis*: moovin 'forward. Trends in Parasitology, 2010, 26 (12) doi:10.1016/j.pt.2010.06.012.

GOKCE H. I., WOLDEHIWET Z. The effects of *Ehrlichia (Cytoecetes) phagocytophila* on the clinical chemistry of sheep and goats. J. Vet. Med. Biol., 1999, 46, 93-103.

GOKCE H.I., GENC O., AKCA A., VATANSEVER Z., UNVER A., ERDOGAN H.M. Molecular and serological evidence of *Anaplasma phagocytophilum* infection of farm animals in the black sea region of Turkey. Acta Veterinaria Hungarica, 2008, 56 (3), 281-292.

GOKCE H.I., WOLDEHIWET Z. Differential hematological effects of tick-borne fever in sheep and goats. Journal of Veterinary Medicine, 1999, 46 (B), 105–115.

GOMES A.F., KAGERUKA P., BRANDT J. Epidemiology of bovine babesiosis in South-Western Angola. Revue Elev. Méd. vét. Pays trop., 1991, 44 (4), 429-435.

GONÇALVES P.M. Epidemiologia e controle da tristeza parasitária bovina na região sudeste do Brasil. Ciência Rural, 2000, 30 (1), 187-194, 2000.

GOODMAN J.L., NELSON C., VITALE B., MADIGAN J.E., DUMLER J.S., KURTTI T.J., MUNDERLOH U.G. Direct cultivation of the causative agent of human granulocytic ehrlichiosis. N. Engl. J. Med., 1996, 334, 209-215.

GRAY J.S., DEVOS A. Studies on a bovine *Babesia* transmitted by *Hyalomma marginatum rufipes* koch. Onderstepoort J. Vet. Res., 1981, 48, 215–223.

GRAY J.S., HARTE L.N., An estimation of the prevalence and economic importance of clinical bovine babesiosis in the republic of Ireland. Irish vet. J., 1985, 39, 75-78.

GUERRERO F.D., MILLER R.J., DE LEÓN A.A.P. Cattle tick vaccines: Many candidate antigens, but will a commercially viable product emerge? International Journal for Parasitology, 2012, 42, 421–427.

GUIGUEN C., DEGEILH B. Les tiques d'intérêt médical : rôle vecteur et diagnose de laboratoire. Revue Française des Laboratoires, 2001, 338, 49-57.

HALL W.T.K., TAMMEMAGI L. ET JHONSTON L.A.Y. Bovine babesiosis: The immunity of calves to *Babesia bigemina* infection. Austt. Vet. J., 1968, 44, 259-264.

HALOS L., JAMAL T., MAILLARD R., BEUGNET F., LE MENACH A., BOULOUIS

H-J., VAYSSIER-TAUSSAT M. Evidence of *Bartonella sp*. in questing adult and nymphal *Ixodes ricinus* ticks from France and co-infection with *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Babesia sp*. Vet. Res., 2005, 36, 79–87.

HASLE G., BJUNE G.A., CHRISTENSSON D., RØED K.H., WHIST A.C., LEINAAS H.P. Detection of *Babesia divergens* in southern Norway by using an immunofluorescence Antibody test in cow sera. Acta Veterinaria Scandinavica, 2010, 52, 55.

HOFMANN-LEHMANN R., MELI M.L., DREHER U.M., GONCZI E., DEPLAZES P., BRAUN U., ENGELS M., SCH‹PBACH J., JORGER K., THOMA R., GRIOT C., STARK K.D.C., WILLI B., SCHMIDT J., KOCAN K.M., LUTZ H. Concurrent infections with vector-borne pathogens associated with fatal haemolytic anemia in a cattle herd in Switzerland. J. Clin. Microbiol., 2004, 42, 3775-3780.

HOLMAN P.J., FRERICHS W.M., CHIEVES L., WAGNER G.G. Culture confirmation of carrier status of *Babesia caballi*-infected horses. J. Clin. Microbiol., 1993, 31, 698–701.

HOMER M.J., AGUILAR-DELFIN I., TELFORD III S.R., KRAUSE P.J., PERSING D.H. Babesiosis. CLIN. MICROBIOL. REV., 2000, 13 (3), 451-469 doi:10.1128/CMR. 13.3.451-469.2000.

HORAK I.G., SWANEPOEL R., GUMMOW B. The distribution of *Hyalomma spp*. human cases of Crimean-Congo haemorrhagic fever in South Africa. In: Proceeding of the 10th Conference of the Association of Institutions for Tropical Veterinary Medicine, Copenhagen, Denmark, 2001; 501-509.

HUNFELD K.P., HILDEBRANDT A., GRAY J.S. Babesiosis: Recent insights in to an ancient disease. International Journal for Parasitology, 2008, 38, 1219-1237.

IBRAHIMA H.M., ADJOU MOUMOUNI P.F., MOHAMMED-GEBAA KH., SHEIRA S.K., HASHEMC I.S.Y., CAOB SH., TERKAWI M.A., KAMYINGKIRD K., NISHIKAWA Y., SUZUKI H., XUANB X. Molecular and serological prevalence of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in cattle and water buffalos under small-scale dairy farming in Beheira and Faiyum Provinces, Egypt. Veterinary Parasitology, 2013, 198: 187-192.

ITARD J. Trypanosomoses animales africaines. In: Chartier C., Itard J., Morel P.C., Troncy P.M. (Eds), Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Editions Médicales internationales, Cachan, Editions TEC et DOC, Paris, 2000, 206-447.

JAMES M.A., CORONADO A., LOPEZ W., MELENDEZ R., RISTIC M. Seroepidemiology of bovine anaplasmosis and babesiosis in Venezuela. Trop. Anim. Hlth Prod., 1985, 17, 9-18.

JAMMES C. L'anaplasmose bovine à *Anaplasma marginale* et les babésioses bovines. Situation en France métropolitaine et sur l'île de La Réunion. In : Bulletin de la Société vétérinaire pratique de France (Ed.), avril/mai/juin 2009, T.93, n°2, 34-41.

JONCOUR G. L'ehrlichiose granulocytaire bovine/ovine à Anaplasma phagocytophilum et la faune sauvage. Bulletin Des GTV, 2007, 40, 33-36.

JONGEJAN F., UILENBERG G. The global importance of ticks. Parasitology, 2004; 129, 3-14.

JONGEJAN F., UILENBERG G. Ticks and control methods. Rev. Sci. tech. Off. int. Epiz., 1994, 13 (4), 1201-1226.

KACHANI M., FLACH E, WILLIAMSON S., OUHELLI H., EL HASNAOUI M.,

SPOONER R.L. The use of an enzyme-linked immunosorbent assay for tropical theileriosis research in Morocco. Prev. Vet. Med., 1996, 26, 329-339.

KAUFMAN W.R. Ticks: Physiological aspects with implications for pathogen transmission. Ticks and Tick-borne Diseases, 2010, 1, 11–22.

KIM C., ALHASSAN A., VERDIDA R.A., YOKOYAMA N., XUAN X., FUJISAKI K., KAWAZU S., IGARASHI I. Development of two immunochromatographic tests for the serodiagnosis of bovine babesiosis. Veterinary parasitology, 2007, 148 (2), 137-143.

KIM C.M., BLANCO L.B., ALHASSAN A., ISEKI H., YOKOYAMA N., XUAN X., IGARASHI I. Development of a rapid immunochromatographic test for simultaneous serodiagnosis of bovine babesioses caused by *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*. The American journal of tropical medicine and hygiene, 2008, 78 (1), 117-121.

KISS T., CADAR D., SPÎNU M. Tick prevention at a crossroad: New and renewed solutions. Veterinary Parasitology, 2012, 187, 357-366.

KNOWLES D., TORIONI DE ECHAIDE S., PALMER G., MCGUIRE T., STILLER D., MCELWAIN T. Antibody against an Anaplasma marginale MSP5 epitope common to tick and erythrocyte stages identifies persistently infected cattle. J. Clin. Microbiol., 1996, 34, 2225-2230.

KOCAN K.M. Targeting ticks for control of selected hemoparasitic diseases of cattle. Vet. Parasitol, 1995, 57,121–151.

KOCAN K.M., BLOUIN E.F., BARBET A.F. Anaplasmosis control. Past, present, and future, Ann. N.Y. Acad. Sci., 2000, 916, 501-509.

KOCAN K.M., DE LA FUENTE J., BLOUIN E.F., COETZEE J.F., EWING S.A. The natural history of *Anaplasma marginale*. Veterinary Parasitology, 2010, 167, 95–107.

KOCAN K.M., DE LA FUENTE J., BLOUIN E.F., GARCIA-GARCIA J.C. *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae): recent advances in defining host–pathogen adaptations of a tick-borne rickettsia. Parasitology, 2004, 129, S285–S300.

KOCAN K.M., DE LA FUENTE J., GUGLIELMONE A.A., MELENDEZ R.D. Antigens and Alternatives for Control of *Anaplasma marginale* Infection in Cattle. Clinical Microbiology Reviews, 2003, 16 (4), 698–712.

KOCAN K.M., DELAFUENTE J., BLOUIN E.F. Characterization of the tick–pathogen–host interface of the tick-borne rickettsia *Anaplasma marginale*. In: ed. Bowman A.S. and Nuttall P.A. (Eds), Ticks: Biology, Disease and Control. Cambridge University Press: United States, 2008, 325-343.

KOCAN K.M., STILLER D., GOFF W.L., CLAYPOOL P.L., EDWARDS W., EWING S.A., MCGUIRE T.C., HAIR J.A., BARRON S.J. Development of *Anaplasma marginale* in male *Dermacentor andersoni* transferred from parasitemic to susceptible cattle. Am.J. Vet.Res. 1992, 53, 499–507.

KUTTLER K.L. *Anaplasma* infections in wild and domestic ruminants: a review. Journal of Wildlife, 1984, 20 (1), 12–20.

L'HOSTIS M., SEEGERS H. Tick-borne parasitic diseases in cattle: current knowledge and prospective risk analysis related to the ongoing evolution in French cattle farming systems. Vet. Res., 2002, 33, 599–611.

LEMPEREUR L., LEBRUN M., CUVELIER P., SÉPULT G., CARON Y., SAEGERMAN C., SHIELS B., LOSSON B. Longitudinal field study on bovine *Babesia spp* and *Anaplasma phagocytophilum* infections during a grazing season in Belgium. Parasitol Res, 2012, 110, 1525-1530.

LEVIN M.L., NICHOLSON W.L., MASSUNG R.F. Comparison of the reservoir competence of medium-sized mammals and Persulcatus leucopus for *Anaplasma phagocytophilum* in Connecticut. Vector Borne Zoonotic Dis., 2002, 2, 125-136.

LEWIS D., WILLIAM H., infection of the Mongolian gerbil with the cattle piroplasm Babesia divergens, Nature, 1979, 278:170-171.

LIN M., RIKIHISA Y. *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophilum* lack genes for lipid A biosynthesis and incorporate cholesterol for their survival. Infect Immun., 2003, 71, 5324-5331.

LIZ J.S., ANDERES L., SUMNER J.W. PCR detection of granulocytic ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks and wilde small mammals in western Switzerland. J. Clin. Microbiol., 2000, 38, 1002-1007.

LOEBERMANN M., FINGERLE V., LADEMANN M., FRITZSCHE C., REISINGER E. *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* coinfection. Emerg. Infect. Dis., 2006, 12, 2.

LUO J., CHEN F., LU W., GUAN G., MA M., YIN H. Experimental transmission of an unnamed bovine Babesia by *Hyalomma spp.*, *Haemaphysalis longicornis* and *Boophilus microplus.* Veterinary Parasitology, 2003, 116, 115–124.

LUO J.X., YIN H., GUAN G.Q., ZHANG Q.C., LU W.S. Description of a new *Babesia sp*. Infective for cattle in China. Parasitol. Res., 2002, 88, S13–S15.

M'GHIRBI Y., BOUATTOUR A. Séroprévalences de *Babesia bovis* et de *Babesia bigemina* chez les bovins en Tunisie. Revue Méd. Vét., 2009, 160 (4), 209-214.

M'GHIRBI Y., HURTADO A., BRANDIKA J., KHLIF K., KETATA Z., BOUATTOUR A. A molecular survey of *Theileria* and *Babesia* parasites in cattle, with a note on the distribution of ticks in Tunisia. Parasitol Res, 2008, 103, 435–442.

M'GHIRBI Y., YAÏCH H., GHORBEL A., BOUATTOUR A. *Anaplasma phagocytophilum* in horses and ticks in Tunisia. Parasites and Vectors, 2012, 5,180.

MADRUGA CR, KESSLER RH, GOMES A, SCHENK MAM, ANDRADE DF. Níveis de anticorpos e parasitemia de *Anaplasma marginale* em área enzoótica, nos bezerros da raça Nelore, Ibagé e cruzamentos de Nelore. Pesq Agropec Bras.1985, 20 (1), 135-142.

MAGNARELLI L.A., IJDO J.W., SHERMAN B.A., BUSHMICH S.L., LEVY S.A., FIKRIG E. Antibodies to Granulocytic Ehrlichia in cattle from Connecticut. J. Med. Microbiol., 2002, 51, 326-331.

MAHONEY D.F. The application of epizootiological principals in the control of Babesiosis in cattle. Bulletin of Office International Des Epizooties, 1974, 81, 123–138.

MAHONEY D.F., GOODGER B.V. *Babesia argentina*: immunogenicity of plasma from infected animals. Exp. Parasitol., 1972, 32, 71–85.

MARTIN M.E., BUNNELL J.E., DUMLER J.S. Pathology, immunohistology and cytokine responses in early phases of human granulocytic ehrlichiosis in a murine model. J. Infect. Dis., 2000, 181, 374–378.

MCDADE J.E., STAKEBAKE J.R., GERONE P.J. Plaque assay system for several species of Rickttsia. J. Bacteriol. 1969, 99, 910-912.

MCHARDY N. Immunization against anaplasmosis: a review. Prev. Vet. Med., 1984, 2, 135-146.

MCLEOD R., KRISTJANSON P. Final report of joint esys / ILRI/ ACIAR Tick Cost project– Economic Impact of ticks and tick-borne diseases to livestock in Africa, Asia and

Australia. International Livestock Research Institute, Nairobi. 1999.

MCQUISTON J.H., MCCALL C.L., NICHOLSON W.L. Ehrlichiosis and related infections. Vet Med Today: Zoonosis Update, 2013, 223 (12), 1750-1756.

MEDDOUR-BOUDERDA K., MEDDOUR A. Clés d'identification des Ixodina (Acarina) d'Algérie. Scienc.et Techno. 2006, 24, 32- 42.

MELIANI P., KHATIBI S., RANDAZZOB S., GORENFLOT A., MARCHOU B. Babésioses humaines. Médecine et maladies infectieuses, 2006, 36, 499-504.

MERINO O., ALBERDI P., DE LA LASTRA J.M.P., DE LA FUENTE J. Tick vaccines and the control of tick-borne pathogens. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2013, 3 (30), 1-10.

MERLIN P. Normes hématologiques du Zébu Gudali dans les hauts plateaux du Nord-Ouest camerounais. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop., 1986, 39 (3-4), 403-407.

MONDAL D.B., SARMA K., SARAVANAN M. Upcoming of the integrated tick control program of ruminants with special emphasis on livestock farming system in India. Ticks and Tick-borne Diseases, 2013, 4, 1– 10.

MOREL P.C. Maladies à tiques en Afrique. In: Chartier C., Itard J., Morel P.C., Troncy P.M. (Eds), Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Editions Médicales internationales, Cachan, Editions TEC et DOC, Paris, 2000, 452-761.

MORZARIA S.P. Ticks and Ticks-borne disease control. In: Proceeding of a joint OAU, FAO and ILRAD. Workshop held in Kampala, Uganda. 12-14 September 1991. Dolan T.T ed., 1991, 25.

MOSQUEDA J., OLVERA-RAMÍREZ A., AGUILAR-TIPACAMÚ G., CANTÓ G.J. Current Advances in Detection and Treatment of Babesiosis. Current Medicinal Chemistry, 2012, 19, 1504-1518.

MOTT J., RIKIHISA Y. Human granulocytic ehrlichiosis agent inhibits superoxyde anion generation by human neutrophils. Infect. Immun., 2000, 68, 6697-6703.

MOULINIER C. Parasitologie et mycologie médicale. Eléments de morphologie et de biologie. 2002, p 635-674.

MRIFAG R., BELGHYTI D., EL KHARRIM Kh., LAAMRI M., BOUKBAL M. Contribution à l'étude de la prévalence des hémoparasitoses vectorielles des bovins dans une localité : khnichet. Science Lib Editions Mersenne, 2011, 3 (110802), 2111 – 4706.

MTSHALI M.S., DE WAAL D.T., MBATI P.A. A seroepidemiological survey of blood parasites in cattle in the north-eastern Free State, South Africa. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 2004, 71:67-75.

MUNDERLOH U.G., LYNCH M.J., HERRON M.J., PALMER A.T., KURTTI T.J., NELSON R.D., GOODMAN J.L. Infection of endothelial cells with *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum*. Veterinary Microbiology, 2004, 101, 53–64.

MUNDERLOH U.G., MADIGAN J.E., DUMLER J.S., GOODMAN J.L., HAYES S.F., BARLOUGH J.E. et *al*. Isolation of the equine granulocytic ehrlichisis agent, *Ehrlichia equi*, in tick cell culture. J. Clin. Microbiol., 1996, 34, 664-670.

MUSOKE A.J., PALMER G.H., MCELWAIN T.F., NENE V., MCKEEVER D. Prospects subunits vaccines against tick-borne diseases. Br. Vet. J., 1996, 152, 621-639.

NARANJO V., RUIZ-FONS F., HOFLE U., FERNANDEZ DE MERA I.G., VILLANUA D., ALMAZAN C., et al. Moleculare pidemiology of Human and bovine

anaplasmosis in southern Europe. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2006, 1078, 95–99.

NAYEL M., EL-DAKHLY KH.M. ABOULAILA M., ELSIFY A., HASSAN H., IBRAHIM E., SALAMA A., YANAI T. The use of different diagnostic tools for *Babesia* and *Theileria* Parasites in cattle in Menofia, Egypt. Parasitol Res, 2012, 111, 1019-1024.

NELSON C.M., HERRON M.J., FELSHEIM R.F., SCHLOEDER B.R., GRINDLE S.M., CHAVEZ A.O., KURTTI T.J., MUNDERLOH U.G. Whole genome transcription profiling of *Anaplasma phagocytophilum* in human and tick host cells by tiling array analysis. BMC Genomics 2008, 9 (364), 1-16.

NORVAL R.A.I., PERRY B.D., YOUNG A.S. The epidemiology of theileriosis in Africa. NORVAL R.A.I., PERRY B.D. and YOUNG A.S. (Eds), Academic Press, London., 1992, pp.: 343-377.

OAKS S.C., OSTERMAN J.V., HETRICK F.M. Plaque assay and cloning of scrub tiphus rickettsia in irradiated L-929 cells. J. Clin. Microbiol., 1977, 6, 76-80.

OGDEN N.H., BOWN K., HORROCKS B.K., WOLDEHIWET Z., BENNETT M. Granulocytic Ehrlichia infection in Ixodid ticks and mammals in woodlands and uplands of the U.K. Med. Vet. Entomol., 1998, 12, 423-429.

OGUNRINADE A., ADEGOKE G.O. Bovine fascioliasis in Nigeria: Intercurrent parasitic and bacterial infections. Trop. Anim. Hlth. Prod., 1982, 14, 121-125.

OIE. Anaplasmose bovine, In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, Chapter 2.4.1., 2008.

OIE. Babésiose bovine, In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, Chapter 2.3.8., 2005.

OIE. Bovine anaplasmosis, In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, Chapter 2.4.1., 2012.

OIE. Bovine babesiosis, In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, Chapter 2.4.2, 2010.

OLIVEIRA J.B., MONTOYA J., ROMERO J.J., URBINA A, SOTO-BARRIENTOS N., MELO E.S.P., RAMOS C.A.N., ARAÚJO F.R. Epidemiology of bovine anaplasmosis in dairy herds from Costa Rica. Veterinary Parasitology, 2011, 177, 359–365.

OLWOCH J.M., REYERS B., ENGELBRECHT F.A., ERASMUS B.F.N. Climate change and the tick-borne diseases ECF in Sub-Sahara Africa. J. Arid Environ. 2008, 72, 108-120.

PALMER G., MCGUIRE T. Immune serum against Anaplasma marginale initial bodies neutralizes infectivity for cattle. Immunology, 1984, 133, 1010-1015.

PALMER G.H., BROWN W.C., RURANGIRWA F.R. Antigenic variation in the persistence and transmission of the ehrlichia Anaplasma marginale. Microbes and Infection, 200, 2, 167−176.

PARIZI L.F., GITHAKA N.W., LOGULLO C., KONNAI S., MASUDA A., OHASHI K., DA SILVAVAZ JR I. The quest for a universal vaccine against ticks: Cross-immunity insights. The Veterinary Journal, 2012, 194, 158–165.

PARK J., KIM K.J., CHOI K-S, GRAB D.J., DUMLER S. Anaplasma phagocytophilum AnkA binds to granulocyte DNA and nuclear proteins. Cell. Microbiol. 2004, 6 (8), 743-751.

PASSOS L.M., BELL-SAKYI L., BROWN C.G. Immunochemical characterization of in vitro culture-derived antigens of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina*. Vet Parasitol, 1998, 76, 239–249.

PEREZ-EID C. Les tiques : Identification, biologie, importance médicale et vétérinaire. 1ère ed. Lavoisier: Paris, 2007, 314 p.

PEREZ-EID C., GILOT B. Les tiques : cycles, habitats, hôtes, rôle pathogène, lutte. Méd Mal Infect., 1998, 28, 335-43.

PFÄFFLE M., LITTWIN N., MUDERS S.V., PETNEY T.N. The ecology of tick-borne diseases. International Journal for Parasitology, 2013. doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.06.009.

PITEL PH., LEGRAND L., JONCOUR G., MAILLARD R., HARY C., FORTIER G. L'ehrlichiose granulocytaire bovine. JVN– Recueil des interventions –, 2008, 1-6.

POBER J.S. Immunobiology of human vascular endothelium. Immunol. Res., 1999, 19, 225-232.

POTGIETER F.T., ELS H.J. An electron microscopic study of intra-erythrocytic stages of Babesia bovis in the brain capillaries of infected splenectomized calves. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 1979, 46:41-49.

POTGIETER F.T., ELS H.J. Light and electron microscopic observations on the development of *Babesia bigemina* in larvae, nymphae and non-replete females of *Boophilus decoloratus*. Onderstepoort J. Vet. Res., 1977, 44, 213-231.

PUSTERLA N., HUDER J., WOLFENSBERGER C., BRAUN U.AND LUTZ H. Laboratory findings in cows after experimental infection with *Ehrlichia phagocytophila*. Clin. Diag. Lab. Immun., 1997, 4, 643-647.

RAHMAN W.A., LYE Y.P., CHANDRAWATHANI P. The seroprevalence of bovine babesiosis in Malaysia. Tropical Biomedicine, 2010, 27 (2), 301-307.

RAR V., GOLOVLJOVA I. *Anaplasma*, *Ehrlichia*, and ''Candidatus Neoehrlichia'' bacteria: Pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. Infection, Genetics and Evolution, 2011, 11, 1842–1861.

REBAUDET S., BROUQUI P. Ehrlichioses et anaplasmoses humaines. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses, 2008, 8-037-I-25.

REINBOLD J.B., COETZEE J.F., SIRIGIREDDY K.R., GANTA R.R. Detection of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma phagocytophilum* in bovine peripheral blood samples by duplex real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay. J. Clin. Microbiol. 2010, 48, 2424–2432.

RICHEY E.J., PALMER G.H. Bovine anaplasmosis. Compend. Contin. Educ. Pract. Vet., 1990, 12, 1661–1668.

RIEK R.F. The life cycle of *Babesia argentina* (Lignieres, 1903) (Sporozoa: Piroplasmidea) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). Aust. J. Argric. Res., 1966, 17, 247-254.

RIKIHISA Y. Mechanisms of Obligatory Intracellular Infection with *Anaplasma phagocytophilum*. Clin. Microbiol. Rev., 2011, 24 (3), 469–489.

RIKIHISA Y. Molecular Events Involved in Cellular Invasion by Ehrlichia chaffeensis and *Anaplasma phagocytophilum*. Vet Parasitol. 2010, 167, 2-4.

RIKIHISA Y. The tribe Ehrlichieae and ehrlichial diseases. Clin. Microbiol. Rev., 1991, 4, 286-308.

RODRIGUEZ S.D., ORTIZ M.A.G., OCAMPO R.J., VEGA Y MURGUIA C.A. Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in Mexico. Infection, Genetics and Evolution, 2009, 9, 1092–1101.

RODRIGUEZ-VIVAS R.I., MATA-MENDEZ Y., PEREZ-GUTIERREZ E., WAGNER G. The Effect of management Factors on the

Seroprevalence of Anaplasma marginale in Bos indicus cattle in the Mexican Tropic. Tropical Animal Health and Production, 2004, 36, 135-143.

RYMASZEWSKA A. PCR for detection of tick-borne *Anaplasma phagocytophilum* pathogens: a review. Veterinarni Medicina, 2011, 56 (11), 529–536.

RYMASZEWSKA A., GRENDA S. Bacteria of the genus *Anaplasma* – characteristics of Anaplasma and their vectors: a review: Veterinarni Medicina, 2008, 53 (11), 573–584.

SAFIELDIN M.A., GADIR A.E., ELMALIK K.H. Factors affecting seasonal prevalence of blood parasites in dairy cattle in Omdurman locality, Sudan, J.Vet. Res., 2010, 3, 32–37.

SAHIBI H., RHALEM A. Tiques et Maladies transmises par les tiques chez les bovins au Maroc. Transfert de technologie en agriculture: Bulletin Mensuel d'Information et De Liaison du PNTTA., 2007, 151, 2-3.

SALEH M.A. Erythrocytic oxidative damage in cross bred cattle naturally infected with *Babesia bigemina.* Research in Veterinary Science, 2009, 86, 43–48.

SALIH D.A., ABDEL RAHMAN M.B., MOHAMMED A.S., AHMED R., KAMAL S., EL HUSSEIN A.M. Seroprevalence of tick-borne diseases among cattle in the Sudan. Parasitol Res, 2009, 104, 845–850.

SALIH D.A., EL HUSSEIN A.M., SEITZER U., AHMED J.S. Epidemiological studies on tick-borne diseases of cattle in Central Equatoria State, Southern Sudan. Parasitol Res, 2007, 101, 1035–1044.

SANTOS HQ, LINHARES GFC, MADRUGA CR. Estudo da prevalência de anticorpos anti-*Babesia bovis* e anti-*Babesia bigemina* em bovinos de leite da microrregião de Goiânia determinada pelos testes de imunofuorescência indireta e Elisa. Cien Anim Bras., 2001, 2 (2), 133-137.

SCHNITTGER L., RODRIGUEZ A.E., FLORIN-CHRISTENSEN M., MORRISON A. Babesia: A world emerging. Infection, Genetics and Evolution, 2012, 12, 1788-1809.

SCHOULS L., VAN DE POL I., RIJPKEMA S.G.T., SCHOT C.S., Detection and identification of Ehrlichia, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *Bartonella* Species in Dutch *Ixodes ricinus* Ticks, J. Clin. Microbiol., 1999, 37, 2215–2222.

SERGENT E., DONATIEN A., PARROT L., LESTOQUARD F. Études sur les piroplasmoses bovines. Arch. Inst. Pasteur Algérie, 1945, 816 p.

SEVERO M.S., STEPHENS K.D., KOTSYFAKIS M., PEDRA J.H.F. *Anaplasma phagocytophilum*: deceptively simple or simply deceptive?. Future Microbiol, 2012, 7, 719–731.

SEVGILI M., CAKMAK A., GOKCEN A., ALTAS M.G., ERGUN G. Prevalence of *Theileria annulata* and *Babesia bigemina* in Cattle in the Vicinity of Sanliurfa. Journal of Animal and Veterinary Advances, 2010, 9(2): 292-296.

SEVINC F., SEVINC M., BIRDANE F.M., ALTINOZ F. Prevalence of *Babesia bigemina* in cattle. Revue Méd. Vét., 2001, 152, 5: 395-398.

SILVA M.G., HENRIQUES G., SANCHEZ C., MARQUES P.X., SUAREZ C.E., OLIVA A. First survey for *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in cattle From Central and Southern regions of Portugal using serological and DNA detection method. Veterinary Parasitology, 2009, 166: 66-72.

SIMUUNZA M., WEIRA W., COURCIER E., TAITA A.,SHIELS B. Epidemiological analysis of tick-borne diseases in Zambia. Veterinary Parasitology, 2011, 175, 331–342.

SMITH K., KILBORNE F.L. Investigations in to the nature, causation and prevention of southern cattle fever. In: 8th and 9th Am. Rep. Bur. An. Ind., 1893, 177–1893.

SOCOLOVSCHI C., DOUDIER B., PAGES F., PAROLA P. Tiques et maladies transmises à l'homme en Afrique. Médecine Tropicale, 2008, 68, 119-133.

SOLORIO-RIVERA J.L., RODRIGUEZ-VIVAS R.I., PEREZ-GUTIERREZ E., WAGNER G. Management factors associated with Babesia bovis seroprevalence in cattle from eastern Yucatan, Mexico. Preventive Veterinary Medicine, 1999, 40, 261-269.

SONENSHINE D.E., LANE R.S., NICHOLSON W.L. Ticks (Ixodida). Medical and Veterinary Entomology, 2002, 24, 517-558.

SPARAGANO O., JONGEJAN F., Molecular characterization of ticks and tick-borne pathogens. Parassitologia, 1999, 41 (1), 101-105.

STICH R.W., SCHAEFER J.J., BREMER W.G., NEEDHAM G.R., JITTAPALAPONG S. Host surveys, ixodid tick biology and transmission scenarios as related to the tick-borne pathogen, Ehrlichia canis. Veterinary Parasitology, 2008, 158, 256–273.

STRLE F. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. International Journal of Medical Microbiology. 2004, 293, Suppl. 37, 27-35.

STUEN S. *Anaplasma phagocytophilum* –the Most Widespread Tick-Borne Infection in Animals in Europe. Veterinary Research Communications, 2007, 31 (Suppl.1), 79–84.

STUEN S., GRANQUIST E.G., SILAGHI C. *Anaplasma phagocytophilum*-a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2013, 3, (31), 1-33.

STUEN S.A., CASEY A.N., WOLDEHIWET Z., FRENCH N.P., OGDEN N.H. Detection by the polymerase chain reaction of *Anaplasma phagocytophilum* in tissues of persistently infected sheep. J. Comp. Pathol. 2006, 134, 101-104.

SUAREZ C.E., NOH S. Emerging perspectives in the research of bovine babesiosis and anaplasmosis. Veterinary Parasitology, 2011, 180, 109-125.

SUKANTO I.P., PAYNE R.C., PARTOUTOMO S. Bovine babesiosis in Indonesia. Prev. Vet. Med., 1993, 16, 151–156.

SUKUMARAN B., MASTRONUNZIO J.E., NARASIMHAN S., FANKHAUSER S., UCHIL P.D., LEVY R., GRAHAM M., COLPITTS T.M., LESSER C.F., FIKRIG E. *Anaplasma phagocytophilum* AptA modulates ErK1/2 signalling. Cell Microbiol, 2011, 13, 47-61.

SWAI E.S., E.D. KARIMURIBO, FRENCH N.P., FITZPATRICK J.L., BRYANT M.J., KAMBARAGE D.M., OGDEN N.H. Seroprevalence of *Babesia bigemina* in smallholder dairy cattle in Tanzania and associated risk factors. Journal of the South African Veterinary Association, 2007, 78 (1), 15–20.

SWAI E.S., FRENCH N.P., BEAUCHAMP G., FITZPATRICK J.L., BRYANT M.J., KAMBARAGE D., OGDEN N. A longitudinal study of sero-conversion to tick-borne pathogens in smallholder dairy young stock in Tanzania. Vet. Parasitol., 2005, 131,129–137.

SWAI E.S., KARIMURIBO E.D., FRENCH N.P., OGDEN N.H., FITZPATRICK J., KAMBARAGE D., BRYANT M.J. Cross-sectional estimation of *Babesia bovis* antibody prevalence in cattle in two contrasting dairying areas in Tanzania. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 2004, 71, 211–217.

SWANSON S.J., NEITZEL D., REED K.D., BELONGIA E.A. Coinfections Acquired from Ixodes Ticks. Clinical Microbiology Reviews, 2006, 19 (4), 708–72.

SWANSON S.J., NEITZEL D., REED K.D., BELONGIA E.A. Coinfections Acquired from Ixodes Ticks. CLIN. MICROBIOL. REV., 19, 2006, 708–72.

TEGLAS M., MATERN E., LEIN S., FOLEY P., MAHAN S.M., FOLEY J. Ticks and tick-borne disease in Guatemalan cattle and horses. Veterinary Parasitology, 2005, 131, 119-127.

TEMBUE A.A.M., SILVA F.J.M., SILVA J.B., SANTOS T.M., SANTOS H.A., SOARES C.O., FONSECA A.H. Risk factors associated with the frequency of antibodies against Babesia bovis and *Babesia bigemina* in cattle in southern Mozambique. Pesq. Vet. Bras., 2011a, 31 (8), 663-666.

TEMBUE A.A.M., SILVA J.B, SILVA F.J.M., PIRES M. S., BALDANI C.D., SOARES C.O., MASSARD C.L., DA FONSECA A.H. Seroprevalence of IgG antibodies against *Anaplasma marginale* in cattle from south Mozambique. Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal, 2011b, 20 (4), 318-324.

TERKAWI M.A., ALHASAN H., HUYENA N.X., SABAGH M., AWIER K., CAOA SH., GOOA H., ABOGE G., YOKOYAMA N., NISHIKAWA Y., KALB-ALLOUZ A.K., TABBAA D., IGARASHI I., XUAN X. Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle from central region of Syria. Veterinary Parasitology, 2012, 187, 307-311.

TERKAWI M.A., THEKISOE O.M.M., KATSANDE CH., LATIF A.A., MANS B.J., MATTHEE O., MKIZE N., MABOGOANE N., MARAIS F., YOKOYAMA N., XUANA X., IGARASHI I. Serological survey of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle in South Africa. Veterinary Parasitology, 2011, 182, 337-342.

THEILER A. Gall sickness of South Africa (anaplasmosis of cattle). J. Comp. Pathol. Ther., 1910, 23, 98–115.

TISSOT DUPONT H., RAOULT D. Maladies transmises par les tiques. Rev Med Interne 1993, 14, 300-06.

TORIONI DE ECHAIDE S., ECHAIDE I.E., GAIDO A.B., MANGOLD A.J., LUGARESI C.I., VANZINI V.R., GUGLIELMONE A.A. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay kit to detect *Babesia bovis* antibodies in cattle, Preventive Veterinary Medicine, 1995, 24, 277-283.

TRINDADE H.I., SILVA G.R.A., TEIXEIRA M.C.A., SOUSA M.G., MACHADO R.Z., FREITAS F.L.C., ALMEIDA K.S. Detection of antibodies against *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in calves from the region of Araguaína, State of Tocantins, Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet., 2010, 19(3), 169-173.

UILENBERG G. Babesia: A historical overview. Veterinary Parasitology, 2006, 138, 3-10.

UILENBERG G. Diagnostic microscopique des maladies transmises par les tiques au Maghreb. Archs. Inst. Pasteur Tunis, 2004, 81, 1-4.

UMEMIYA-SHIRAFUJI R., TANAKA T., BOLDBAATAR D., TANAKA T., FUJISAKI K. Akt is an essentiall player in regulating cell/organ grow that the adult stage in the hard tick *Haemaphysalis longicornis*. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2012, 42, 164-173.

URDAZ-RODRÍGUEZ J.H., FOSGATE G.T., WAGHELA S.D., ALLEMAN A.R., RAE D.O., DONOVAN G.A., MELENDEZ P. Seroprevalence estimation and management factors associated with high herd seropositivity for Babesia bovis in commercial dairy farms of Puerto Rico. Trop Anim Health Prod, 2009, 41:1465-1473.

VAYSSIER-TAUSSAT M. Co-infections bactériennes des tiques : marqueurs moléculaires et évaluation des risques en milieu

naturel. INRA Santé Animale, Séminaire bilan programme Zoonoses, 2004.

VIAL H.J., GORENFLOT A., Chemotherapy against babesiosis. Veterinary parasitology, 2006, 138 (1-2), 147-160.

WALKER A.R., BOUATTOUR A., CAMICAS J.-L., ESTRADA-PEÑA A., HORAK I.G., LATIF A.A., PEGRAM R.G. PRESTON P.M. Ticks of Domestic Animals in Africa: a Guide to Identification of Species. Ed. Bioscience Reports, Scotland, 2003, 222 p.

WALKER D.H., DUMLER J.S. Human monocytic and granulocytic ehrlichioses. Discovery and diagnosis of emerging tick-borne infections and the critical role of the pathologist. Arch Pathol Lab Med, 1997, 121,785-791.

WILLADSEN P. Tick control: Thoughts on a research agenda. Veterinary Parasitology, 2006, 138, 161–168.

WILLIAMS R.E. Ticks - biology and their control. Household & Structural, 2010, E-71-W.

WOLDEHIWET Z. *Anaplasma phagocytophilum* in Ruminants in Europe. Ann. N.Y. Acad. Sci., 2006, 1078, 446–460.

WOLDEHIWET Z. Immune evasion and immunosuppression by *Anaplasma phagocytophilum*, the causative agent of tick-borne fever of ruminants and human granulocytic anaplasmosis. The Veterinary Journal, 2008, 175, 37–44.

WOLDEHIWET Z. Lymphocyte subpopulations in peripheral blood of sheep experimentally infected with tick-borne fever. Res. Vet. Sci., 1991, 51 (1), 40-3.

WOLDEHIWET Z. The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. Veterinary Parasitology, 2010, 167, 108–122.

WOLDEHIWET Z. Tick- borne diseases, In: Diseases of Sheep, 4th Edn. Aitken I.D., Ed. Oxford: Blackwell publishing, 2007, 347–355.

WOLDEHIWET Z., SCOTT G.R. In vitro propagation of *Cytoecetes phagocytophila*, the causative agent of tick-borne fever. Vet. Microbiol. 1982, 7, 127-133.

WOODFORD J.S., JONES T.W., RAE P.F., BOYD R., BELL-SAIKYI L. Sero-epidemiological studies of bovine Babesiosis on Pemba Island, Tanzania. Vet. Parasitol., 1990, 37, 175-184.

YERUHAM I., HADANI A., GALKER F., AVIDAR Y., BOGIN E.: Clinical, clinico-pathological and serological studies of *Babesia ovis* in experimentally infected sheep. Zentralbl Veterinarmed B, 1998, 45, 385-394.

YILMA J., ADAMU G., ZERBINI E. Biossay of acaricide resistance on three common cattle tick species at Holotta Central Ethiopia. Rev. Méd. Vét. 2001, 152, 385-390.

YOKOYAMA N., OKAMURA M., GARASHI I. Erythrocyte invasion by Babesia parasites: Current advances in the elucidation of the molecular interactions between the protozoan ligands and host receptors in the invasion stage. Veterinary Parasitology, 2006, 138: 22-32.

YOSHIIE K., KIM H-Y., MOTT J., RIKIHISA Y. Intracellular infection by the human granulocytic ehrlichiosis agent inhibits human neutrophil apoptosis. Infect. Immun., 2000, 68, 1125-1133.

YOUSFI-MONOD R., AESCHLIMANN A. recherches sur les tiques (Acarina, ixodidae) parasites de bovidés dans l'Ouest algérien. Inventaire systématique et dynamique saisonnière. Ann. Parasitol. Hum. Comp., 1986, 61, 341-358.

ZADEH S.S., FATIH F., DEHAGHI M.M., ASL E.N., NEZHAD H.A. Survey of *Theileria annulata* and *Anaplasma marginale* in cattle in

Kerman, southeast of Iran. Sci Parasitol, 2011, 12 (2), 61-66.

ZHANG Y., WANG S., SHI Y., YU H., CAO M., MEI L., HUA G., YAO L., TIAN L., YU Q., ZHANG L. Anaplasmosis in farmers and domestic animals in Anhui province, China. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 2012, 27-30.

ZINTL A., MULCAHY G., SKERRETT H.E., TAYLOR S.M., GRAY J.S. Babesia divergens, a Bovine Blood Parasite of Veterinary and Zoonotic Importance. Clin Microbiol Rev. 2003, 16 (4), 622-636.

ZULFIQAR S., SHAHNAWAZ S., ALI M., BHUTTA A.M., IQBAL SH., HAYAT S., QADIR SH., LATIF M., KIRAN N., SAEED A., M. ALI, IQBAL F. Detection of *Babesia bovis* in blood samples and its effect on the hematological and serum biochemical profile in large ruminants from Southern Punjab. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2012, 104-108.

ZYGNER W., RAPACKA G., GÓJSKA-ZYGNER O., DŁUGOSZ E., WEDRYCHOWICZ H. Biochemical abnormalities observed in serum of dogs infected with large Babesia in Warsaw (Poland). Pol. J. Vet. Sci., 2007, 10, 245-253.

Annexes

Annexe 1: Fiche de renseignement sur l'animal prélevé

Fiche de renseignement sur l'animal prélevé
(2013)

Commune : ……

N° de la ferme :……..

1. Identification de l'animal

Numéro d'identification :…….. Race :……

Sexe…… Age……

Origine : ☐ né a la ferme ☐ importé ☐ acheté

BCS……. T° rectale……

2. Symptomes présents au moment du prélèvement

☐ hyperthermie	☐ ataxie	☐ anoréxie
☐ anémie	☐ Ictere	☐ hémoglobinurie
☐ œdème des paturons	☐ symptomes réspiratoires	☐ Antécédent d'avortement

Autres symptomes :…….

Pathologies antécédentes :…… /Traitements…….

Pathologie actuelle :……./Traitements……

3. Inféstation par les tiques au moment du prélèvement

Présence de tiques ☐

Absence de tiques ☐

Annexe 2 : Questionnaire épidémiologique

Questionnaire à l'intention des éleveurs

Date : ……..
Commune:……...
N° de la ferme :……..
Nom d'éleveur : ……Adresse :…… ..
N° Tel : ……..
Nom du vétérinaire traitant:……...Adresse …….. ……

Déscription de l'élevage

Effectif total …… …….. ……. Nombre d'animaux prélevés ……..
Race…….

Type de production	☐ laitiére	☐ mixte	☐ viande
Mode d'élevage:	☐ intensif	☐ semi-intensif	☐ extensif
Etat d'hygiène :	☐ bon	☐ moyen	☐ mauvais

Conduite d'élevage

Type d'alimentation…….
Pâturage : ☐ pratiqué ☐ non pratiqué

Si oui, sur quelle periode de l'année.. ?

☐ printemps ☐ été ☐ hiver ☐ automne

À propos d'anaplasmose et babésiose

Connaissez vous ces maladies ?..... oui ☐ non ☐
Avez-vous déjà eu des cas ? ……oui ☐ non ☐
Si oui, sur quelles periodes de l'année ?
☐ printemps ☐ été ☐ hiver ☐ automne
Signes d'appel : …….
Problèmes d'avortement dans la ferme ?..... oui ☐ non ☐
Type de traitement ☐ spécifique ☐ traditionnel ☐ pas de traitement
Résultats de traitement : ……
Antécédents d'autres maladies : oui ☐ non ☐
Si oui, lequelles ?.....

À propos des tiques

Présence de tiques : oui ☐ non ☐

Si oui, sur quelles periodes de l'année ?

☐ printemps ☐ été ☐ hiver ☐ automne

Traitement acaricide	☐ régulier	☐ occasionnel	☐ pas de traitement
La cible :	☐ animal	☐ étable	☐ les deux

La durée :…… ..... L'intervalle entre les traitements ……..
Periodes des traitements……

Nature de produits utilisés …… Résultats de traitement …….

Annexe 3 : Examens microscopique des frottis sanguins

1. Réactifs

Méthanol absolue,

May-Grünwald en solution d'éosine-bleu de méthylène,

Giemsa,

Eau distillée,

Huile à immersion.

2. **Procédure** (selon Itard, 2000) :

1) Réaliser un frottis sanguin mince selon la technique décrite dans la figure et laisser sécher à l'air ;

2) Fixer au méthanol absolu pendant 5 min ;

3) Verser sur la lame 10 (ou 20) gouttes de colorant de May-Grünwald, de façons à la recouvrir en totalité ;

4) Laisser agir 3 min en évitant l'évaporation du colorant (déposer au-dessus de la lame le couvercle d'une boite de Petri) ;

5) Préparer pendant ce temps une solution de Giemsa, dans une éprouvette graduée, en ajoutant, à 15 ml d'eau distillée, 10 gouttes de colorant de Giemsa ;

6) Les 3 min écoulées, ajouter sur l'étalement autant de gouttes d'eau distillée (10 ou 20), mélanger en inclinant doucement la lame en tous sens et laisser agir 1 min ;

7) Rejeter le colorant et rincer la lame à l'eau du robinet pendant quelques secondes ;

8) Recouvrir entièrement la lame avec la solution de Giemsa, laisser agir de 15 à 30 min, selon l'ancienneté du frottis ;

9) Laver à l'aide d'un jet d'eau, de façon à chasser le colorant et laisser sécher lentement par égouttage en position verticale.

L'examen s'effectue au microscope à fond clair voire bleu, à l'objectif à immersion x100. Le frottis doit être lu méthodiquement, par bondes parallèles, sur toute sa surface.

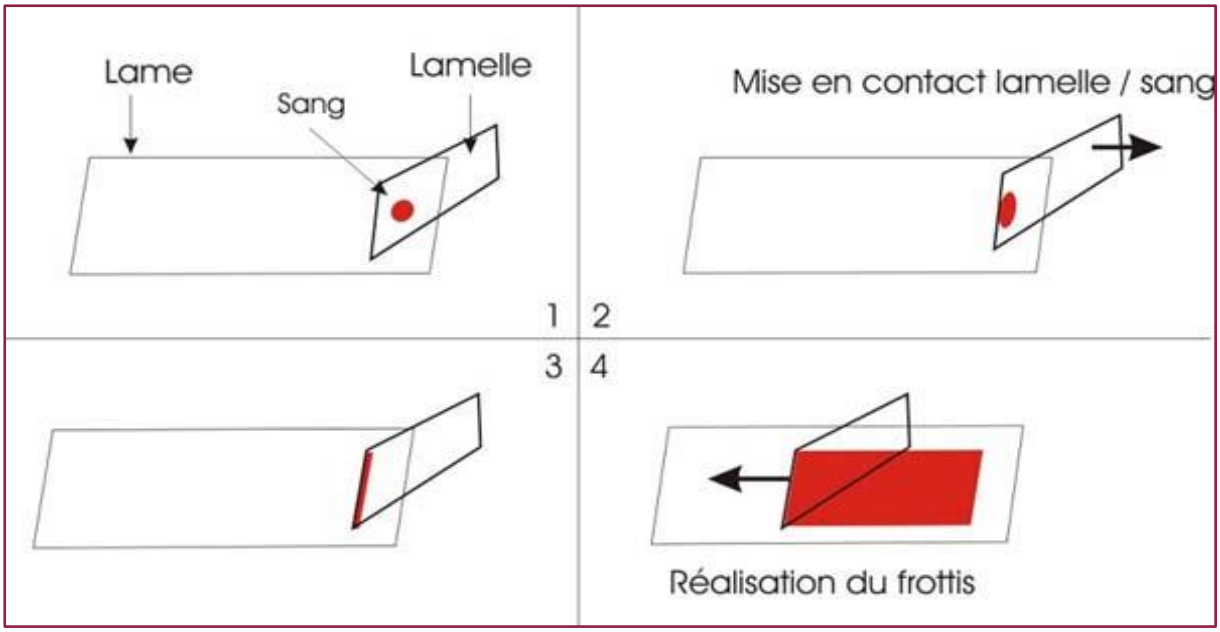


Figure : Démonstration de la technique de réalisation de frottis sanguin mince

Figure : Microscope Leica utilisé pour l'examen des frottis sanguins

Annexe 4 : Protocoles détaillés des tests sérologiques utilisés

1. *Anaplasma marginale* :

Test ELISA-c (Anaplasma Antibody Test Kit, cELISA, VMRD, Pullman, Washington, USA)

- **Réactifs du kit de diagnostic**

Une microplaque de 96-puits fixée avec l'antigène rMSP5,

Une plaque de 96-puits fixée pour l'absorption/transfert du sérum,

100 × l'anticorps monoclonal et le conjugué couplé à la peroxydase,

Solution de lavage 10× et du tampon de dilution pour le conjugué prêt à l'emploi,

Substrat et solution stop prêt à l'emploi,

Témoins positif et négatif.

- **Protocole**

1) Ajouter 70 µl du sérum non dilué à la plaque fixée pour l'absorption/transfert et incuber à température de 23± 2°C pendant 30 min ;

2) Transférer 50 µl par puits de sérum absorbé à la plaque fixée avec l'antigène rMSP5 et incuber à température de 23± 2°C pendant 60 min ;

3) Eliminer le sérum et laver la plaque 2 fois avec la solution de lavage diluée ;

4) Ajouter 50 µl/puits de l'anticorps monoclonal dilué et conjugué à la peroxydase à la plaque à laquelle a été fixée le rMSP5. Incuber à température de 23± 2°C pendant 20 min ;

5) Eliminer l'anticorps monoclonal dilué et conjugué à la peroxydase et laver la plaque 4 fois avec la solution de lavage diluée ;

6) Ajouter 50 µl/puits de la solution substrat, couvrir la plaque avec une feuille et incuber 20 min à température de 23± 2°C ;

7) Ajouter 50 µl/puits de solution stop à la solution substrat déjà dans les puits et tapoter le bord de la plaque pour mélanger doucement le mélange ;

8) Lire les plaques dans un lecteur à 620, 630 ou 650 nm.

- **Validation**

La moyenne de la densité optique (DO) du témoin négatif doit varier de 0,40 à 2,10. Le pourcentage d'inhibition du témoin positif doit être supérieur ou égal à 30 %.

- **Interprétation des résultats**

Le pourcentage d'inhibition est calculé comme suit :

% I = 100 [1-DO de l'échantillon ÷ moyenne de la DO du témoin négatif]

Les échantillons dont le pourcentage est inférieur à 30 % sont négatifs. Les échantillons dont le pourcentage est supérieur ou égal à 30 % sont positifs.

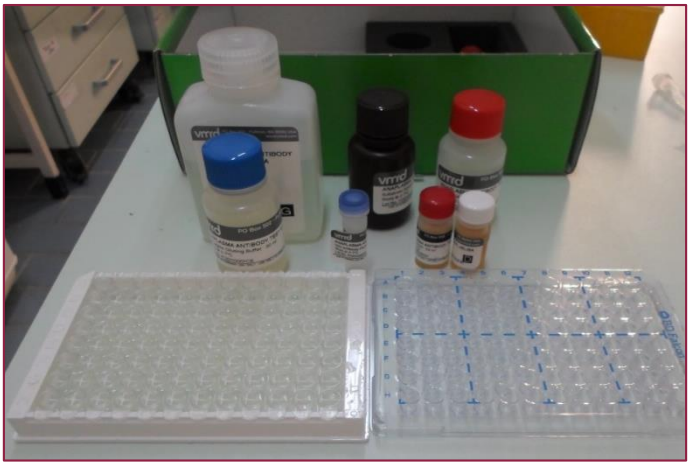


Figure : Réactifs de Kit cELISA, Anaplasma Antibody Test, VMRD

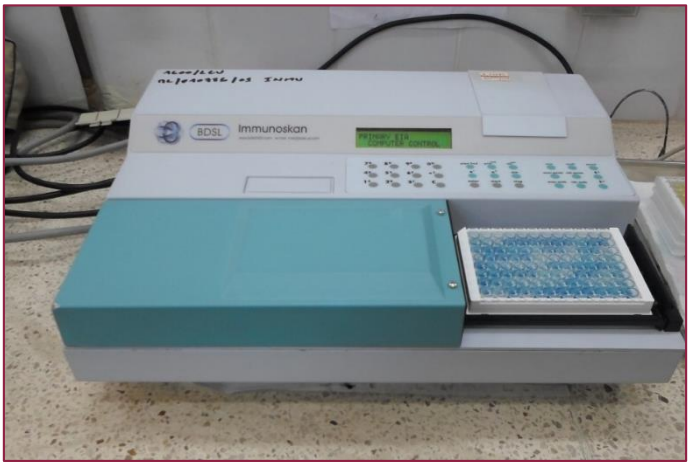


Figure : Lecteur utilisé pour la lecture des microplaques cELISA

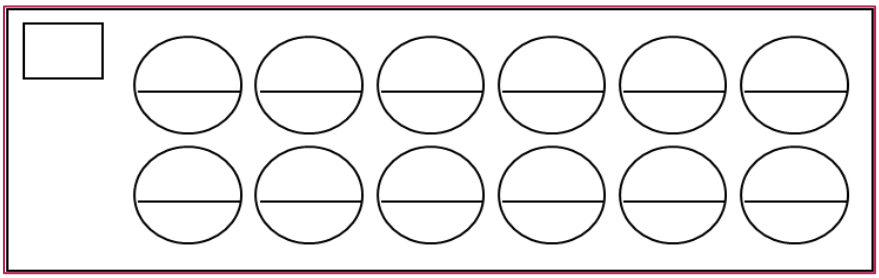


Figure : Plan de plaque d'immunofluorescence

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Figure : Plan de la microplaque cELISA

2. *Anaplasma phagocytophilum*

Test IFAT lames commerciales MegaScreen FLUOANAPLASMA ph. (MegaCorDiagnostik, Autriche)

- **Réactifs du kit de diagnostic**

10 lames de 12 puits coatées par des neutrophiles canins infectés par d'*A.phagocytophilum* ;

Le conjugué (anti Cattle-FITC Conjugate) ;

Témoins positif et négatif ;

Liquide de montage ;

- **Protocole**

1) Constitution du tampon PBS (BioMerieux) ;

2) Diluer chaque sérum à tester à 1/50 dans du PBS ;

3) Diluer les sérums témoins positif et négatif à 1/50 dans du PBS, ceux-ci sont inclus dans chaque épreuve ;

4) Répartir les sérums dilués dans les puits, identifiés au préalable sur chaque lame, à raison de 20 µL par puits, sur chaque lame, deux puits sont réservés aux sérums de contrôle positif et négatif ;

5) Incuber à 37°C en chambre humide pendant 30 min ;

6) Réaliser deux lavages de 10 minutes dans du PBS sous agitation, puis sécher les lames soigneusement ;

7) Ajouter dans chaque puits 1 goutte de conjugué (anti Cattle-FITC Conjugate) ;

8) Incuber à 37°C en chambre humide pendant 30 min ;

9) Réaliser deux lavages de 10 minutes dans du PBS sous agitation, puis sécher les lames soigneusement

10) Montage des lamelles sur les lames avec du Fluoprep (BioMerieux) ;

11) Les lames sont ensuite lues au microscope à fluorescence au grossissement x100 en immersion dans l'huile.

La lecture des lames doit de préférence avoir lieu le jour même de leur réalisation. Si pour une raison quelconque cela n'est pas possible il faut les conserver à 4°C au réfrigérateur pour les examiner le lendemain. Les examens effectués après un stockage de plus de 24 heures ne sont plus fiable.

- **Interprétation des résultats**

Un sérum est considéré comme positif lorsque des morulas vertes fluorescentes sont observées. Leur taille, leur forme et leur densité doivent être comparées avec les témoins positifs et négatifs. Toute fluorescence différente de celle observée dans le contrôle positif doit être considérée comme non spécifique.

Kit IFAT MegaScreen FLUOANAPLASMA ph.

Microscope à fluorescence utilisé pour la lecture des lames IFAT (Axioskop)

3. Les Kits *B. bovis* et *B. bigemina* utilisés

Kit IFAT MegaScreen *Babesia bigemina*

Kit IFAT VMRD *Babesia bovis*

4. Autres matériels utilisés pour la sérologie

Micropipettes et Tips

Flacons de PBS (BioMerieux)

Fluoprep et lamelles utilisés pour le montage des lames

Lavages des lames dans du PBS sous agitation

Dépôt des lames dans la chambre humide

Incubateur

Annexe 5 : Méthodes d'analyses des paramètres hématologiques et biochimiques

Paramètre analysé	Principe réactionnel	Automate	Kits
Numération-formule	Mesure de la taille cellulaire par variation d'impédance (principe Coulter)	Horiba Medical	ABX Vetpack
Urée	En présence d'uréase, l'urée est hydrolysée en ammoniaque (NH4+) et CO2. Les ions NH4+ réagissent avec le salicylate et le NaCLO en présence d'un catalyseur pour former de l'indophénol vert.	Vega Sys	Spinreact
Créatinine	Réaction en milieu alcalin entre la créatinine et du picrate avec formation d'un complexe coloré : mesure de la vitesse de formation de ce complexe.	Vega Sys	Spinreact
Créatinine kinase	Méthode standard optimisée selon les recommandations de la Deutsche Gesellschaft fur Klinische Chemie.	Lightwave II	Spinreact
Alanine aminotransférase	ALT catalyse le groupement amine de l'alanine à l'α-cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate formé est réduit en lactate par le lactate déhydogénase et le NADH. Le taux de dégradation de la concentration du NADH mesurée est proportionnel à la concentration catalytique de l'enzyme ALT présente dans l'échantillon.	Lightwave II	Spinreact
Aspartate aminotransférase	L'α-oxoglutarate réagit avec L-aspartate en présence d'ASAT pour former du L'glutamate et de l'oxaloacétate. L'indicateur de la réaction utilise l'oxaloacétate lors d'une détermination cinétique avec consommation de NADH.	Vega Sys	Spinreact
Gamma-glutamyltransferase	Mesure de la formation de 5-amino-2-nitro-benzoate après mise en contact de GGT avec du L-y-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide (réaction en présence de Glycylgycine)	Vega Sys	Spinreact
Bilirubine totale	Méthode basée sur le principe de JENDARASSIK et GROF (1938). La bilirubine totale est déterminée par dosage de la caféine (réaction en présence d'acide sulfanéique).	Erma INC	Spinreact