الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة ـ الجزائر ـ
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER –

MEMOIRE

PRESENTE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE :

MAGISTERE EN SCIENCES VETERINAIRES

OPTION : GESTION DES MALADIES INFECTIEUSES ANIMALES

Contribution à une étude de la séroprévalence de l'Anémie Infectieuse des Equidés dans la Wilaya de Tiaret

Présenté par : **MOHAMED-CHERIF Abdellah**

DEVANT LES MEMBRES DE JURY:

PRESIDENT:	D[r]. HAMDI T.M.	Professeur	ENSV -ALGER-
PROMOTRICE:	D[r]. AÏT-OUDHIA KH.	Maître de conférences A	ENSV -ALGER-
EXAMINATEUR:	P[r]. KHELEF DJ.	Professeur	ENSV -ALGER
EXAMINATEUR:	D[r]. BOUZID R.	Maître de conférences B	ENSV -ALGER-
EXAMINATRICE:	D[r]. OUSLIMANI-RAHAL S.	Maître assistante A	ENSV -ALGER-

SOUTENU LE : 09/ 03 /2014

Remerciements

Je remercie le Bon DIEU tout puissant de m'avoir donné la force et la volonté de continuer mes études,

Je tiens à remercier ma promotrice Melle.AIT-OUDHIA Kh., pour avoir pris la responsabilité de diriger mon travail et de le mener jusqu'au bout. Et pour sa présence, son aide et ces précieux conseils.

Je tiens également à exprimer mes remerciements au. Professeur HAMDI T.M. de m'avoir honoré de sa présence en temps que président de jury, et Professeur KHELEF DJ, Dr. BOUZID R et Dr. OUSLIMANI-RAHEL S. pour avoir accepté d'examiner ce travail et pour toute l'attention qu'ils y auront portée.

J'exprime mes vifs remerciements aux personnels des centres : ONDEEC, CE, Haras National Chaou-Chaoua, Haras el-Mesk, Association Ouled Sidi Mansour, et aux personnels des laboratoires des services de « Parasitologie » du CHU Mustapha et d'hématologie du CHU de Sougueur,

Il m'est agréable d'adresser mes remerciements à tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents,

A mes frères et mes sœurs,

A mes beaux-frères et mes belles-sœurs,

A toute ma famille,

A mes amis,

A toutes les personnes que j'aime,

A toutes les personnes qui m'aiment.

A tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin à la réalisation de ce travail.

MOHAMED-CHERIF Abdellah.

RESUME

Entre juin et octobre 2013, une enquête sérologique a été menée chez les équidés dans la Wilaya de Tiaret, dans le but d'estimer le niveau de séroprévalence de l'infection de l'Anémie Infectieuse des équidés. Cette enquête a permis d'étudier le taux d'infection des équidés par *l'EIAV*, de préciser la situation actuelle de l'AIE dans la wilaya de Tiaret, de constituer une première étape d'une approche nationale visant à contrôler l'émergence de cette maladie. Des échantillons de sérums ont été prélevés sur 293 chevaux et 30 ânes et testés par techniques d'ELISA. Tous les résultats obtenus par le test ELISA se sont révélés totalement négatifs pour tous les échantillons étudiés. L'anémie infectieuse des équidés est une maladie d'actualité. Elle est cependant mal connue et très rarement recherchée sur le terrain. Pourtant les conséquences de l'apparition d'un foyer peuvent être très lourdes sur le plan économique.

MOTS CLES

Anémie infectieuse des équidés, *Lentivirus*, *EIAV*, enquête sérologique, ELISA.

ABSTRACT

Between June and October (2013), a serological survey was conducted in equines in Wilaya of Tiaret, in order to estimate the prevalence level of infection of equine infectious anemia (EIA). This survey has allowed to study the rate of infection by *EIAV* equine, to clarify the current situation of the EIA in the province of Tiaret, constitute a first step towards a national approach to control the emergence of this disease. Serum samples were collected from 293 horses and donkeys 30 and tested by ELISA technique. All results obtained by the ELISA test proved totally negative for all the samples studied. The equine infectious anemia is a topical disease. It is not well known and rarely sought on the ground. Yet the consequences of an outbreak can be very heavy on the economy.

KEYWORDS

Equine Infectious Anemia, *Lentivirus*, *EIAV*, serological survey, ELISA.

الملخص:

في الفترة الممتدة بين شهري جوان و أكتوبر2013 تم إجراء مسح مصلي للخيول بولاية تيارت من أجل معرفة مدى انتشار مرض فقر الدم المعدي عند الخيول، وقد استخدم هذا المسح لدراسة معدل الإصابة بفيروس فقر الدم المعدي للخيول و كذا لتوضيح الوضع الحالي للمرض في الولاية، و تعتبر هذه الدراسة كخطوة أولى نحو نهج وطني للسيطرة على ظهور هذا المرض، تم جمع عينات المصل من 293 حصان و 30 حمار واختبارها بتقنية ELISA ، حيث كانت النتائج التي تحصلنا عليها سلبية تماما لجميع العينات المدروسة. فقر الدم المعدي الخيلي هو مرض غير معروف جيدا ، ولا يلاقي أهمية كبيرة ميدانيا ، إلا أنه في حالة إنتشاره في منطقة ما يخلف أثار إقتصادية وخيمة.

الكلمات الرئيسية:

فقر الدم المعدي للخيول، فيروس فقر الدم المعدي للخيول، مسح مصلي، تقنية ELISA

SOMMAIRE

page

REMERCIEMENTS I

DEDICACES II

RESUME EN FRANÇAIS/ANGLAIS III

RESUME EN ARABE IV

TABLE DES MATIERES V

LISTE DES TABLEAUX VIII

LISTE DES FIGURES IX

LISTE DES ANNEXES X

LISTE DES ABREVIATIONS XI

INTRODUCTION ET PROBLEMATIQUE 01

***1ERE PARTIE* : SYNTHESE SUR L'ANEMIE INFECTIEUSE DES EQUIDES**

1. Définition et Historique 04
2. Importance 04
3. Epidémiologie 05
   - 3.1 Espèces affectés 05
   - 3.2. Aspects étiologiques 05
     - 3.2.1 Caractéristiques du Virus 05
       - 3.2.1.1 Classification 06
       - 3.2.1.2 Morphologie et structure 06
       - 3.2.1.3 Génome et protéines 07
       - 3.2.1.4 Résistance et sensibilité 08
     - 3.2.2 Caractéristiques du vecteur 08
       - 3.2.2.1 Classification et Taxonomie 08
       - 3.2.2.2 Description et biologie 10
     - 3.2.3 Pathogénie 13
   - 3.3. Modalités de transmission 14
     - 3.3.1 Transmission vectorielle 15
     - 3.3.2 Transmission par voie digestive 15
     - 3.3.3 Transmission par voie respiratoire 15
     - 3.3.4 Transmission par transfusion sanguine 15
     - 3.3.5 Transmission par voie placentaire 16
     - 3.3.6 Transmission par injection ou par matériel souillé 16

3.3.7 Autres modes de Transmission 16
3.4. Répartition géographique 16
4. Symptomatologie 17
4.1 Distribution du virus dans les organes d'un équidé 17
4.2 Manifestations cliniques 18
4.2.1 Période d'incubation 18
4.2.2 Evolution clinique 18
4.3 Modifications pathologiques 21
4.3.1 Modifications hématologiques 21
4.3.2 Modifications histologiques 22
5. Réponse immunitaire 22
6. Diagnostic 24
6.1 Diagnostic épidémio-clinique 24
6.2 Diagnostic de laboratoire 24
6.2.1 Identification de l'agent pathogène 24
6.2.2 Epreuves sérologiques 25
6.2.2.1 Immunodiffusion en gélose (IDG) 25
6.2.2.2 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 27
6.2.2.3 Western blotting (WB) 27
6.3 Diagnostic différentiel 28
7. Prophylaxie 29
7.1 Prophylaxie sanitaire 29
7.2 Prophylaxie médicale 29

***2EME PARTIE* : ENQUETE SERO-EPIDEMIOLOGIE DE L'ANEMIE INFECTIEUSE DES EQUIDES A TIARET**

1. Objectifs 31
2. Matériels et Méthodes 31
2.1 Présentation de la région d'étude 31
2.2 Population équine étudiée 33
2.2.1 Méthode d'échantillonnage 33
2.2.2 Examen clinique 34
2.2.3 Prélèvement du matériel biologique 34
2.3 Test sérologique Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay (ELISA) 36
3. Résultats 38

4. Discussion 39
4.1 Séroprévalence de l'AIE 39
4.2 Détection de l'infection 42
4.3 L'émergence de l'AIE 43
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS 45
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 47
ANNEXES

LISTE DES TABLEAUX

N°	Intitulé	Page
I	Séroprévalence de l'AIE dans quelques pays du bassin méditerranéen (OMS, 2012)	17
II	les principaux signes cliniques rencontrés lors d'anémie infectieuse chez le cheval (*Pitel et al.,* 2009)…….....	28
III	renseignements sur les équidés prélevés	34

LISTE DES FIGURES

N°	Intitulé	Page
1	Morphologie et structure du virus *EIAV*	06
2	Organisation du génome proviral d'*EIAV*	07
3	Classification des *Tabanidae* et des *Muscidae* dans l'ordre des Diptères	09
4	Genre *Tabanus* (A) Genre *Chrysops* (B)	10
5	Cycle de développement du Genre *Tabanus*	11
6	*Stomoxys calcitans*	11
7	Cycle de développement de *Stomoxys calcitrans*	12
8	Différentes étapes du cycle lentiviral dans la cellule cible	13
9	Profils d'expression clinique et virale chez un équidé expérimentalement infecté par l'*EIAV*	19
10	Maturation de la réponse immunitaire dirigée contre l'*EIAV* chez un animal infecté	23
11	Représentation schématique de la distribution des réactifs dans les cupules creusées dans la gélose pour le test de Coggins	26
12	Situation géographique de la zone d'étude	32
13	(**A**) La perception tactile de la veine jugulaire. (**B**) Ponction veineuse à l'aide d'une aiguille 1.2 x 40 mm montée sur un porte-vacutainer. (**C**) Recueil du sang dans un tube sec stérile de 5 ml	35
14	Kit commercial ID Screen® Equine Infectious Anemia Double Antigen/ID.VET innovative diagnostic. Montpellier. France	36
15	(**A**) Distribution du tampon de dilution puis les sérums et les C+ et C-. (**B**) Lavage à la solution de lavage après incubation de 45±4min. (**C**) Distribution du conjugué et mise en incubation 30±3min. (**D**) Après lavage, ajout de la solution de révélation et mise en incubation 15±2min. (**E**) Distribution de la solution d'arrêt. (**F**) Mesure de la densité optique	37
16	Lecture visuelle de la plaque ELISA après l'ajout de la solution de révélation et les densités optiques obtenues après lecture au spectrophotomètre à 450 nm	38

LISTE DES ANNEXES

N°	Intitule
I	JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 16
II	Fiche d'enquête
III	Dentition du cheval
IV	KIT ELISA ID.VET
V	Résultats en DO par plaque
VI	Hygiène et état du site de l'étude

LISTE DES ABREVIATIONS

°C	Degré *Celsius*
µl	Microlitre
Ac	Anticorps
AGID	Agar Gelose Immuno Diffusion
AIE	Anémie Infectieuse des Equidés
ARN	Acide Ribonucléique
ARNm	Acide Ribonucléique messager
BIV	Immunodéficience Bovine
C3	Complément 3
CA	Capside
DO	Densité Optique
UV	Ultraviolet
EIAV	Equine Infectious Anemia Virus
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent assay
Env	Enveloppe
FIV	Immunodéficience Féline
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
HIV	Immunodéficience Humaine
HIV1	Human immunodeficiency virus 1
IDG	Immuno-diffusion en gélose
IgG	Immunoglobuline G
IN	Intégrase
JO	Journal Officiel
L	Late
LTR	Long terminal repeat
MA	Matrice
MRC	Maladie Réputée Contagieuse
NC	Nucléocapside
nm	Nanomètre
OIE	Office International des Epizooties
PCR	Polymerase Chain Reaction
PO	Peroxydase.
Pol	Polymérase
PR	Protéase
Rev	Regulator of expression of viral proteins
RRE	Revresponsive Element
RT	Reverse transcriptase
RT-PCR	Reverse transcriptase Polymerase Chain Reaction
SRLV	Small Ruminant Lentivirus
SU	Surface
Tat	Transactivator of transcription
TM	Transmembrane
WB	Western Blotting

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'anémie infectieuse des équidés (AIE) est une maladie virale, transmissible et potentiellement mortelle, aussi connue sous le nom de "fièvre paludéenne", "fièvre des marais" ou encore "Swamp Fever" (*Ishii & Ruizo,* 1975). Elle a été documentée dans de nombreuses aires géographiques bien diversifiées, et considérée aujourd'hui comme une maladie cosmopolite, rencontrée dans le monde entier.

L'AIE est due à l'infection par un *Lentivirus EIAV* (Equine Infectious Anemia Virus) appartenant à la famille des *Retroviridae*. Seuls les équidés sont sensibles à l'infection par *l'EIAV*, dont les chevaux, les mulets, les zèbres et les ânes (*Sendel,* 2010). Cependant, les ânes ne semblent pas développer de maladie clinique, à l'inverse des chevaux (*Hans et al.,* 2012). La particularité caractéristique de l'infection des équidés par *l'EIAV* est qu'elle peut être maîtrisée par la réponse immunitaire après un ou plusieurs accès fébriles, et demeurer ainsi totalement asymptomatique pendant le reste de la vie de l'animal (*Cadoré et al.,* 2007).

Les signes cliniques associés à l'infection apparaissent après une période d'incubation variant de 7 à 21 jours en fonction du statut immunitaire de l'hôte ainsi que de la charge virale lors de l'infection. Ils se distinguent principalement par de la fièvre, de l'anémie, des œdèmes et différents signes d'abattement.

Suite à l'infection, plusieurs formes cliniques, pouvant se succéder, sont rencontrées : une forme dite aiguë caractérisée par l'apparition de signes cliniques graves pouvant conduire à la mort, une forme chronique qui est caractérisée par des phases cliniques récurrentes (fièvre, anémie, abattement, thrombopénie…), et enfin une forme asymptomatique (*Hammond et al.,* 2000 ; *Leroux et al.*, 2001). Suite à la primo-infection, les équidés sont infectés à vie et resteront des sources de contagion pour leurs congénères, même en l'absence de signes cliniques (*Issel et al.,* 1982). Les animaux en phase asymptomatique peuvent également développer des signes cliniques sous l'effet du stress (*Hans et al.,* 2012).

L'AIE est ce que l'on appelle une maladie vectorielle, c'est-à-dire qu'un vecteur est nécessaire à la transmission de l'agent pathogène. Dans le cas de cette pathologie, ce sont des mouches des types taon ou stomox, voire certains moustiques, qui véhiculent le virus. Ce dernier peut également se transmettre par le sang, d'un animal infecté à un animal réceptif, par l'intermédiaire d'une seringue, une aiguille, un matériel médical non stérile ou au moment de l'accouplement via le sperme d'étalons infectés (*Hawkins et al.,* 1973 ; *Foil et al.,* 1983).

Le test sérologique de l'AIE, officiellement reconnu dans le monde, est le test d'immunodiffusion en gélose (IDG ; test de Coggins) (*Coggins et al.,* 1970). Toutefois, depuis les années 1990, l'épreuve ELISA-AIE est devenue le test sérologique le plus largement utilisé dans divers pays. Sa rapidité, sa spécificité et sa performance par rapport au test de Coggins ont été des facteurs déterminants pour la validation de cette technique comme méthode de première intention (*Charles et al.,* 1993 ; *Paré & Simard,* 2004).

L'AIE est une maladie réputée légalement contagieuse chez les équidés au titre du l'article 2 du décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, fixant la liste des maladies animales à déclaration obligatoire et les mesures générales qui leur sont applicables. La réglementation algérienne prévoit obligatoirement de soumettre les chevaux à une épreuve de dépistage avant de les introduire en Algérie (JO-N°16).

Même si cette maladie ne présente aucun risque pour la salubrité des aliments et la santé publique, l'absence de mesures de lutte contre l'AIE pourrait avoir des effets dévastateurs sur l'industrie équine, dont les conséquences économiques et sanitaires peuvent s'avérer très préjudiciables pour l'ensemble des professionnels de la filière équine. La plupart des pays du monde exigent en effet que les animaux importés soient officiellement certifiés exempts d'AIE.

En Algérie, la recherche et l'identification des différentes pathologies équines ne sont pas prises en charge. Il n'existe aucun programme national permettant de lutter contre la propagation des maladies virales en général, et du *Lentivirus EIAV* plus particulièrement, et l'unique action des services vétérinaires se limite à la mise en œuvre d'un traitement symptomatique des infections bactériennes secondaires. Les équidés ne subissent pas de contrôle systématique au cours de leur vie. En effet, le diagnostic de l'AIE, même s'il est réglementairement obligatoire, n'est exigé que pour certaines importations et certaines exportations d'équidés, et lors des contrôles pour la reproduction chez les étalons (déclaration personnelle du Directeur des Services Vétérinaires).

Ce travail a été entrepris dans le but d'étudier le taux d'infection des équidés par *l'EIAV*, de préciser la situation actuelle de l'AIE dans la wilaya de Tiaret, de constituer la première étape d'une approche nationale et de formuler par la suite des recommandations visant à contrôler l'émergence ou la réémergence de cette maladie.

Nous avons, dans un premier temps, étudié l'agent pathogène responsable de l'AIE, l'épidémiologie de la maladie, son aspect clinique, avec notamment l'étude des symptômes et des

lésions. Nous nous somme intéressés aux différentes étapes de l'examen en vue d'établir le diagnostic. Nous avons par la suite présenté les méthodes de lutte et de prévention. Dans la partie expérimentale, nous avons effectué une étude préliminaire afin d'estimer la prévalence de l'AIE sur la population équine de la wilaya de Tiaret.

1ERE PARTIE

SYNTHESE SUR L'ANEMIE INFECTIEUSE DES EQUIDES

1. Définition et Historique

L'Anémie infectieuse des équidés (AIE), aussi appelée "la fièvre paludéenne", "la fièvre des marais" ou encore "Swamp Fever" (*Ishii & Ruizo,* 1975), est une virose infectieuse, inoculable et exceptionnellement contagieuse, due au développement et à la multiplication d'un *Lentivirus EIAV* de la famille des *Retroviridae*. Ce dernier est transmis par la piqûre d'un insecte vecteur appartenant à la famille des *Tabanidae* et/ou des *Muscidae* (*Truffert,* 2011).

Maladie persistante, évoluant sur plusieurs mois à bas bruit, elle est caractérisée par la récidive d'épisodes fébriles associant une virémie, une hyperthermie et une thrombocytopénie. La maladie est difficilement curable, fréquemment sujette à des rechutes. Elle évolue sous différentes formes, elle est mortelle pour un certain nombre d'individus infectés et ceux qui survivent restent porteurs à vie (*Amory & Pitel,* 2007).

Les premières mentions de l'AIE remontent à plusieurs siècles. Ligné, médecin vétérinaire, fait la première description de la maladie en France en 1843. Il publie en cette occasion "Mémoire et observations sur une maladie de sang sous le nom d'Anémie, hydrohémie, cachexie aqueuse du cheval" (*Ligné*, 1843).

C'est Anginiard qui, en 1859, décrit la nature infectieuse de la maladie. Elle est ensuite documentée en France par Bouley et Ledru en 1861, en Suisse par Zschokke en 1883, en Allemagne par Frohner, au Japon en 1893, aux États-Unis en 1896 par Watson et Torrance, puis au Canada en 1902 (*Ishii*, 1963). La maladie est ensuite couramment reconnue dans tous les pays d'Europe, sur le continent africain, sur le continent américain et en Asie. La démonstration de la nature infectieuse de la maladie est apportée par Vallée et Carré en 1904 (*Vallée & Carré, 1904*).

Malgré le développement majeur, au cours de l'ère pasteurienne, des techniques de diagnostic en virologie, l'agent responsable de l'anémie infectieuse s'avère difficile à cultiver. Jusqu'à la mise au point par Coggins au début des années soixante-dix d'un test d'immunodiffusion en gélose, aucun moyen de dépistage n'était fiable (*Coggins & Norcross*, 1970).

2. Importance

L'importance de l'AIE est très grande, tant sur le plan médical et économique que réglementaire :

- Son importance médicale est majorée par la difficulté du diagnostic, liée d'une part à sa longue durée d'incubation et à l'existence de chevaux porteurs asymptomatiques, et

d'autre part à une expression clinique polymorphe, difficilement curable et à rechutes habituelles.

- Son importance économique est liée : (i) au coût du diagnostic, dont les frais sont non négligeables, d'autant qu'il est parfois nécessaire de réaliser plusieurs examens complémentaires pour obtenir une confirmation du diagnostic ; (ii) au coût du traitement et au suivi médical et sérologique qui s'avèrent parfois indispensables ; (iii) à la mise en place de moyens de protection des équidés (insecticides) ; (iv) au coût intrinsèque des animaux, pour des catégories particulières, comme les chevaux de sport et de course.
- D'un point de vue réglementaire, l'AIE est une maladie réputée légalement contagieuse en Algérie et figure parmi les maladies notifiables à l'OIE.

3. Épidémiologie

L'AIE est présente sur les cinq continents. La transmission s'effectue par échange de sang infecté : arthropodes hématophages par transmission mécanique (taons,...), aiguilles, matériel chirurgical mal stérilisé,... La transmission est conditionnée par le titre viral dans le sang du cheval porteur et par la densité de la population d'insectes et de leur biologie (*Cadoré et al.,* 2007).

On se trouve ainsi devant une liaison triangulaire où l'AIE est tributaire de l'environnement par l'intermédiaire d'insectes vecteurs. Le complexe épidémiologique forme donc une structure complexe, dont la connaissance est indispensable à la maîtrise du fonctionnement des foyers d'infection.

3.1 Espèces affectées

Dans les conditions naturelles, seuls les équidés sont sensibles à l'infection par *l'EIAV*, dont les chevaux, les poneys (*Equus caballus*), les ânes (*Equus asinus*), les zèbres et les mulets (*Equus caballus X Equus asinus*) (*Sendel,* 2010). Bien que sensibles à l'infection, les ânes ne développent pas de signes cliniques spécifiques et la charge virale circulante reste faible (*Hans et al.,* 2012). L'AIE n'est pas une zoonose. Elle n'est pas transmissible à l'homme ou à d'autres espèces animales (*Tuffert,* 2011).

3.2. Aspects étiologiques

3.2.1 Caractéristiques du virus

3.2.1.1 Classification

EIAV est un virus à ARN, enveloppé, codant une transcriptase reverse, appartenant au genre *Lentivirus* qui regroupe également le virus de l'Immunodéficience Humaine (HIV), Bovine (BIV) et Féline (FIV), ainsi que le virus Visna-Maedi du mouton et de l'Arthrite Encéphalite Caprine (*Thiry*, 2006 ; *Truffert,* 2011). La classification du genre, d'après Narayan & Clements (1989), est la suivante :

KINGDOM :	Viruses
GROUPE VI :	ssRNA-RT
FAMILLE :	*Retroviridae* (*Dalton et al.,* 1975)
SOUS FAMILLE :	*Orthoretrovirinae*
GENRE :	*Lentivirus* (*Charman et al.,* 1976)
ESPÈCE :	***Equine Infectious Anemia Virus* (*EIAV*)**

3.2.1.2 Morphologie et structure

L'*EIAV* est un virus enveloppé qui contient à sa surface une protéine de fusion ainsi qu'une molécule servant à lier les récepteurs de la cellule cible. C'est sous la bicouche lipidique que se trouve la matrice (MA) qui elle-même protège la capside (CA) de forme conique. Cette dernière protège à son tour la nucléocapside (NC), les deux copies du génome viral ainsi que la protéase, la transmembrane (TM) et l'intégrase (IN) (figure 1). Le diamètre de la particule virale varie de 100 à 120 nm (*Gonda et al.,* 1985 ; *Knipe & Howley*, 2007)

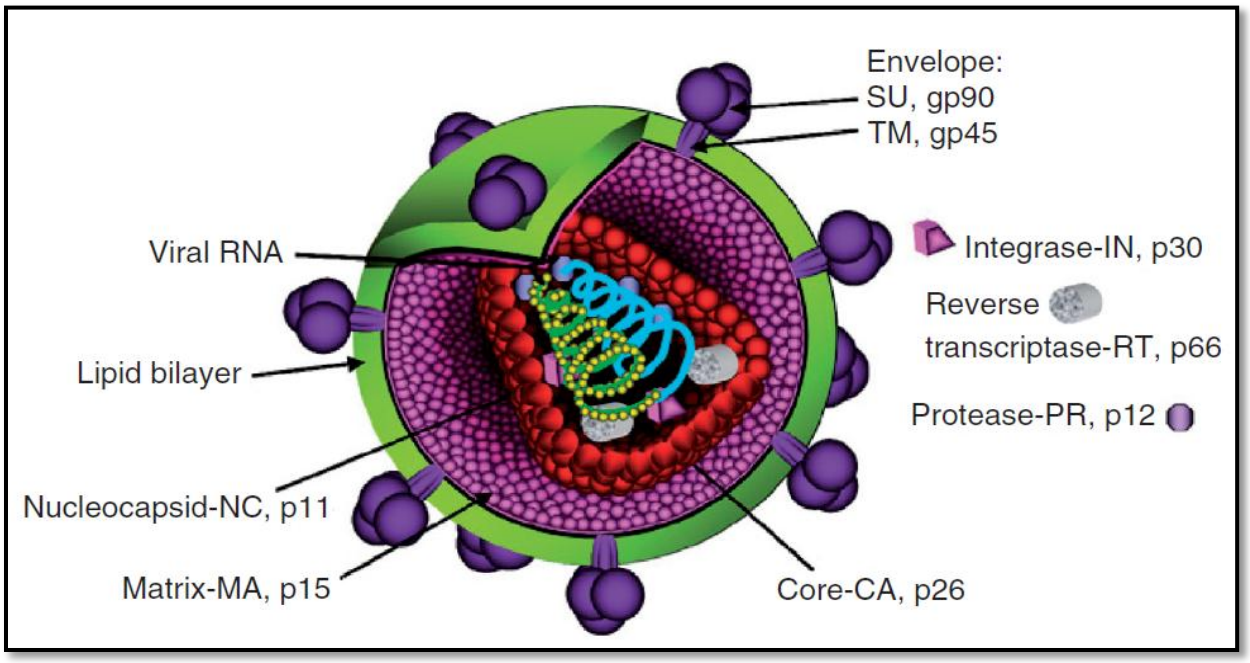


Figure 1 : Morphologie et structure du virus EIAV (*Craigo & Montelaro*, 2008)

3.2.1.3 Génome et protéines

Avec 8,2 kb et seulement 6 gènes (*gag*, *pol*, *env*, *tat*, *rev* et *s2*), le génome *d'EIAV* est le plus petit et le plus simple parmi ceux des lentivirus. En plus des gènes *gag*, *pol* et *env* codant les protéines structurales et les activités enzymatiques, il contient trois petits cadres de lecture *tat*, *rev* et *s2*, codant des protéines régulatrices (figure 2). L'ADN proviral intégré au génome cellulaire est encadré en 5' et 3' par les régions LTR (*long terminal repeat*), sites d'induction de la transcription des lentivirus comprenant les segments U3 (région unique 3'), R (*repeat*) et U5 (région unique 5'). Différentes études ont montré l'importance de la région U3 pour le déterminisme du tropisme cellulaire (*Carvalho & Derse*, 1993).

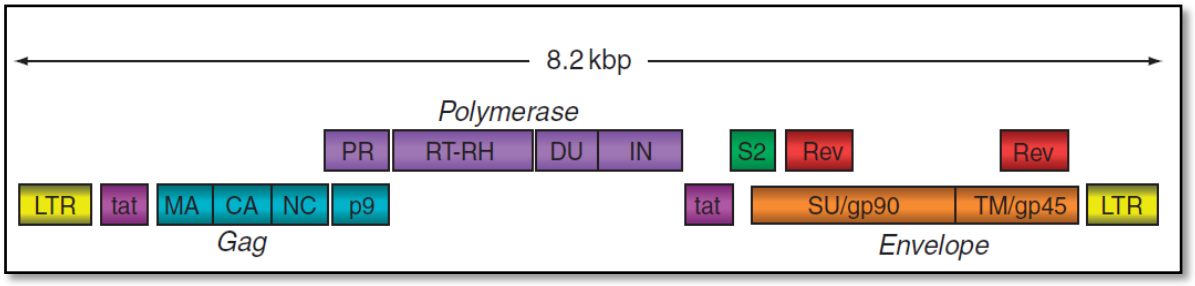


Figure 2 : Organisation du génome proviral d'EIAV. D'après *Leroux et al.* (2004)
LTR : *long terminal repeat* ; MA : matrice ; CA : capside ; NC : nucléocapside ; PR : protéase ; RT : *reverse transcriptase* ; DU : dUTPase ; IN : intégrase ; SU : surface ; TM : transmembrane.

Les produits des gènes *gag* et *pol* sont transcrits à partir de l'ARNm non épissé. Le précurseur protéique Gag, Pr55gag, est clivé par la protéase virale en quatre protéines structurales : la matrice (MA) p15, la capside (CA) p26 et les protéines de nucléocapside (NC) p9 et p11. L'assemblage des protéines Gag à la membrane plasmique est indispensable pour le bourgeonnement viral à la surface cellulaire. Des petites régions, appelées domaines L (*late*), sont essentielles à l'adressage au site de bourgeonnement et à la libération des particules virales.

Des études par mutagenèse dirigée ont montré que seuls les 31 acides aminés situés en position N terminale de p9 sont nécessaires au maintien de la réplication virale et que p9 n'était pas absolument nécessaire pour le bourgeonnement viral, suggérant que d'autres protéines virales d'*EIAV* remplissent cette fonction (*Chen et al.,* 2001). Une étude récente (*Chen et al.,* 2004) confirme le rôle important des filaments d'actine polymérisée dans le ciblage des polyprotéines Gag d'*EIAV* du ribosome vers la membrane plasmique. La dépolymérisation de l'actine est essentielle pour la libération des particules virales *via* un mécanisme dépendant du domaine L (*Leroux et al.*, 2005).

Parmi les petites protéines accessoires, la protéine Tat (transactivator of transcription), codée par la région intergénique *pol* et *env*, est nécessaire pour la production de protéines précoces.

Le gène S2, spécifique d'*EIAV*, chevauche la partie terminale du gène *env*. La protéine S2, n'ayant pas d'homologue de séquence ou de fonction chez les autres lentivirus, est cytoplasmique et pourrait interagir avec Gag. Elle n'est pas incorporée dans la particule, mais est exprimée pendant l'infection, comme le montre la présence d'anticorps anti-S2 chez les animaux séropositifs pour l'*EIAV* (*Cadoré et al.*, 2007).

La protéine Rev (*regulator of expression of viralproteins*), nécessaire pour la production de protéines tardives des lentivirus, permet la translocation d'ARNm du noyau vers le cytoplasme, étape indispensable pour la production des protéines virales. La protéine Rev d'*EIAV* permet le transport des ARNm du noyau vers le cytoplasme grâce à l'élément RRE (*Revresponsive element*). RRE est une séquence de 55 nucléotides, située à la fin du gène *env*, qui, contrairement au RRE d'autres lentivirus, ne présente pas de structure secondaire bien définie (*Chung & Derse*, 2001).

3.2.1.4 Résistance et sensibilité

La résistance de *l'EIAV* semble assez élevée dans le milieu extérieur (plusieurs semaines à plusieurs mois expérimentalement) ou les produits biologiques. Le virus semble néanmoins sensible au glutaraldéhyde à 2% frais, à l'hypochlorite à 2%, à l'iode, aux dérivés phénoliques et, dans une moindre mesure, au NaOH, à l'isopropanol et à l'éthanol à 70% (*Druce et al.,* 1995).
Il est inactivé par les rayons ultraviolets (UV) et par une température de 60°C pendant 30 minutes (*Tjotta et al.,* 1991), ainsi que par les techniques de purification des sérums thérapeutiques ou d'extraction des globulines (*Tuffert*, 2011). Cependant, la résistance sur les pièces buccales de tabanidés n'excède pas quatre heures alors qu'elle est de plusieurs jours sur les aiguilles contaminées (*Issel et al.*, 1988).
L'EIAV peut demeurer viable pendant 42 jours dans le sang contenu dans une seringue à la température ambiante, et jusqu'à 11 jours dans le sang prélevé dans le cadre d'une autopsie (*Abdala et al.*, 2000)

3.2.2 Caractéristiques du vecteur

3.2.2.1 Classification et Taxonomie

La transmission du virus de l'AIE peut être assurée par des insectes suceurs de sang appartenant aux familles des Tabanidae et Muscidae, de l'ordre des diptères (figure 3).

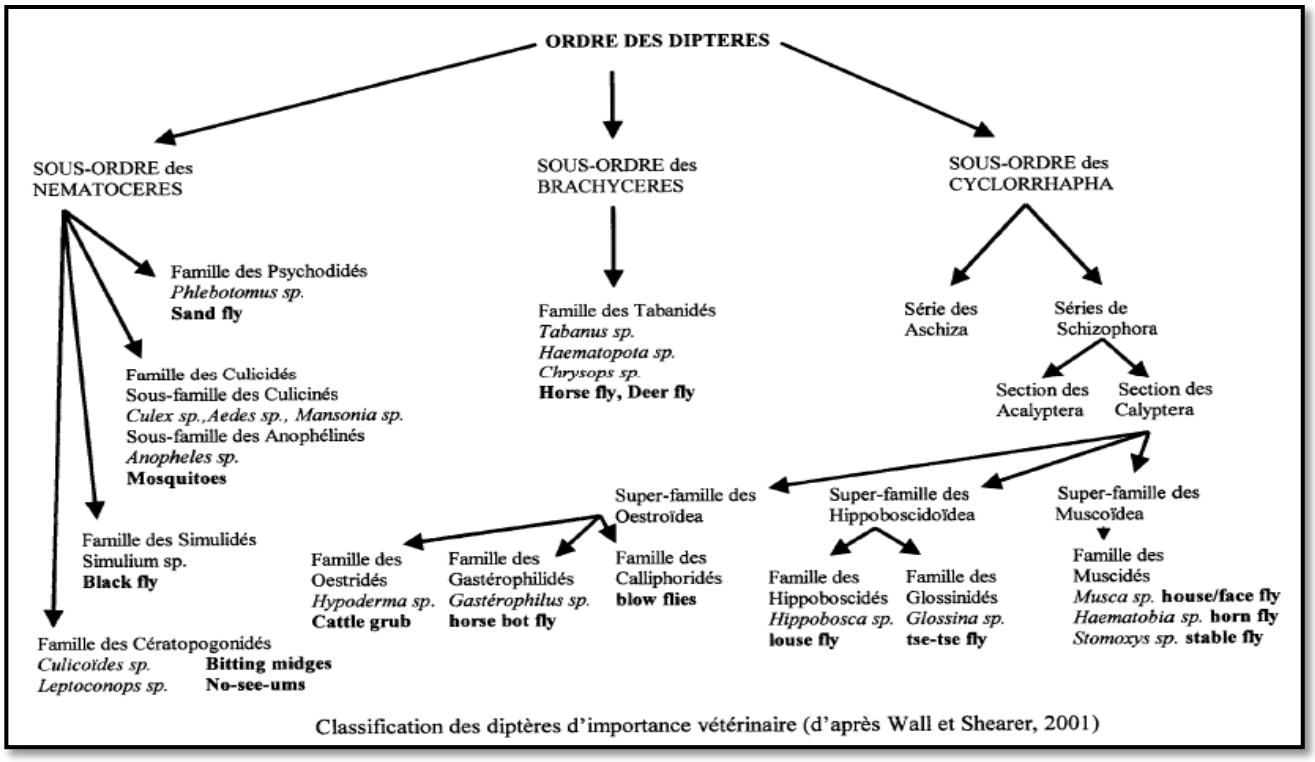


Figure 3 : Classification des *Tabanidae* et des *Muscidae* dans l'ordre des Diptères

Les principaux vecteurs sont les taons ou "mouches à cheval" (*Tabanus*) et les "mouches à chevreuil" (*Chrysops*), de la famille des *Tabanidae*, les mouches piquantes des étables (*Stomoxys*), de la famille des *Muscidae*, ainsi que les moustiques et certains moucherons (*Foil et al.*, 1983). Lorsqu'un insecte commence un repas de sang sur un cheval infecté et, après avoir été chassé par celui-ci, finit son repas sur un cheval réceptif, il peut y avoir transmission du virus.

- **Famille des *Tabanidae***

RÈGNE :	Animalia
EMBRANCHEMENT :	Arthropoda
SOUS-EMBRANCHEMENT :	Mandibulata
CLASSE :	Insecta
SOUS-CLASSE :	Pterygota
ORDRE :	Diptera
SOUS-ORDRE :	Brachycera
SECTION :	Cyclorrhapha
FAMILLE :	*Tabanidae*
GENRE :	*Tabanus* ***(Tabanus fuscicostatus)*** *;* *Chrysops* ***(Chrysops flavidus)***

- **Famille des *Muscidae***

RÈGNE :	Animalia
EMBRANCHEMENT :	Arthropoda
SOUS-EMBRANCHEMENT :	Mandibulata
CLASSE :	Insecta
SOUS-CLASSE :	Pterygota
ORDRE :	Diptera
SOUS-ORDRE :	Cyclorrhapha
SECTION :	Schizophora
SUPER-FAMILLE	Muscoidae
FAMILLE :	*Muscidae*
SOUS-FAMILLE	Stomoxyinae
GENRE :	*Stomoxys* ***(Stomoxys calcitrans)***

3.2.2.2 Description et biologie

- **Famille des *Tabanidae***

Les espèces les plus couramment rencontrées appartiennent aux genres *Chrysops* "deer fly", *Tabanus* "hors fly" et *Haematopota*. Les tabanidés sont les plus gros diptères : 7 à 25 mm. Le corps massif porte des ailes puissantes leur conférant de bonnes capacités au vol (figure 4).

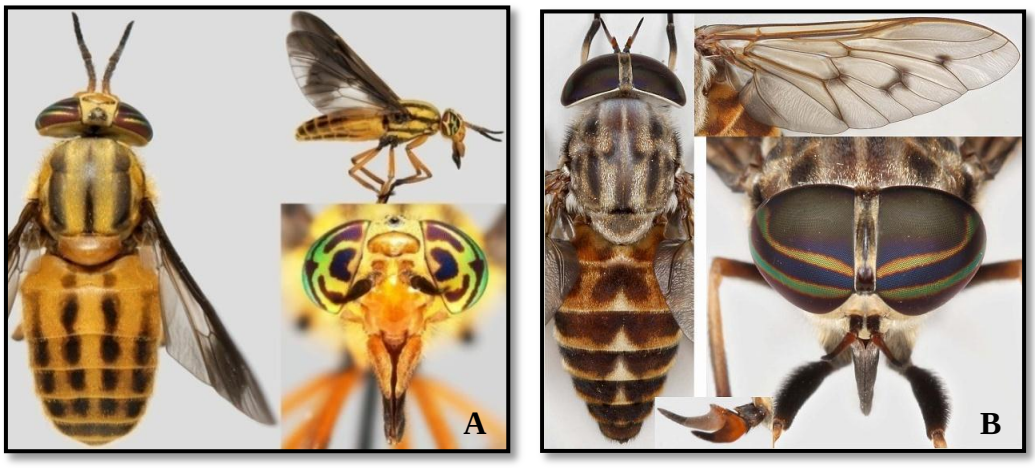


Figure 4 : (A) Genre *Tabanus* (Barney, 2008) ; (B) Genre *Chrysops* (Cameron, 2008)

La distribution des taons est cosmopolite. Les conditions climatiques et géographiques de prédilection varient selon les espèces. En général, ils sont présents dans les régions à climat tempéré, notamment à proximité des zones boisées et des points d'eau. Ils sont actifs dès les premières chaleurs printanières, jusqu'au début de l'automne (*Buge*, 2008).

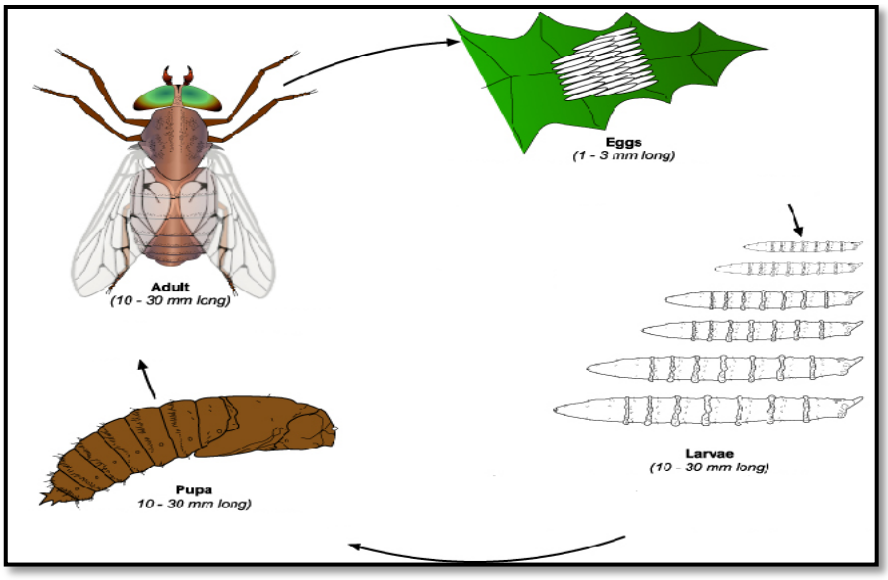


Figure 5 : Cycle de développement du genre *Tabanus* (*Hill & MacDonald, 2010)*

L'accouplement a lieu 3 à 5 jours après l'éclosion. Les œufs sont pondus en masse sur les sols boueux ou une surface verticale (tige, roche…). Les œufs éclosent en quelques jours, une semaine au plus. La larve issue de l'œuf tombe sur le sol humide et s'enfonce pour commencer une très longue vie larvaire, caractérisée pas une croissance très lente, de 7 à 9 stades larvaires.

- **Famille des *Muscidae***

Le genre *Stomoxys*, originaire de l'Ancien Monde, inclut 18 espèces identifiées (*Zumpt*, 1973). Seule *S. calcitrans*, espèce anthropophile, a une distribution mondiale.

Ce sont des mouches hématophages, ressemblant aux mouches domestiques, mais facilement reconnaissables à leur appareil buccal adapté à la piqûre. Il s'agit d'un long proboscis (trompe rigide), porté horizontalement, dépassant la tête vers l'avant et capable de percer la peau (figure 6).

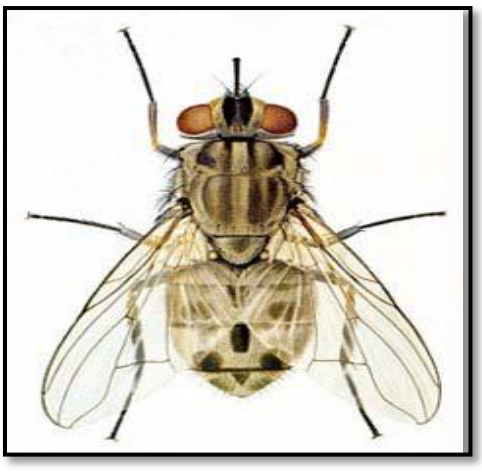


Figure 6 : *Stomoxys calcitrans* (*Kendrick et al.,* 1989)

Stomoxys calcitrans est nuisible pour le bétail et les chevaux dans presque tous les pays du monde. Il peut voler plus de 100 km de son habitat larvaire. Il vit dans du fumier et sur des matières organique en décomposition (*Salem*, 2012).

Le cycle est constitué de plusieurs stades : l'œuf, 3 stades larvaires, la pupe et l'adulte (*Zumpt*, 1973 ; *Skidmore*, 1985) (figure 7). Le passage d'un stade à l'autre est fonction de la température et de l'humidité (*Lysyk*, 1998). Les larves cherchent une humidité proche de la saturation, une température de 15 à 30°C, et sont fortement attirées par l'odeur de fèces de cheval ou de vache, et de certains produits comme l'ammoniaque, l'éthylamine, la triméthylamine et l'acétone. À l'approche de la pupaison, les larves préfèrent une humidité de 75 à 83% et une température de 15 à 25°C.

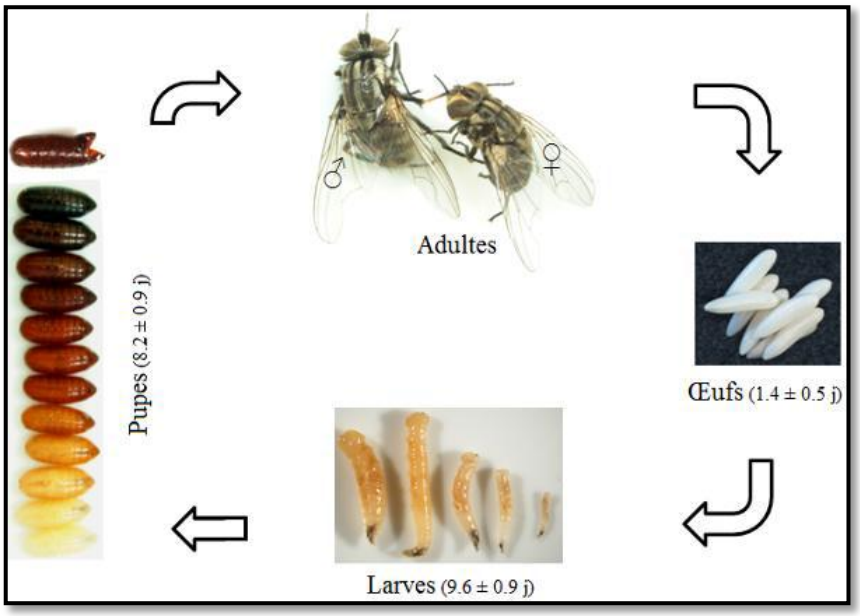


Figure 7 : Cycle de développement de *Stomoxys calcitrans* (*Salem*, 2012)

Le cycle de développement de *S. calcitrans* est d'environ 12 jours à 30°C et 60 jours à 15°C et se déroule en six stades (l'œuf, les trois stades larvaires, la nymphe et l'adulte). L'accouplement a généralement lieu après un premier repas sanguin. Les œufs (100 à 400 par femelle), d'environ 1 mm, se développent dans le fumier (ou toute matière organique en décomposition) en 12 heures à 3 jours selon les conditions climatiques (24 heures à 25°C). Les trois stades larvaires se déroulent en 10 à 22 jours (12 jours à 25°C), la pupe se développe en 6 à 8 jours. Dans les conditions optimales, le cycle se réalise en 3 semaines (température comprise entre 20 et 30°C). La durée de vie d'un adulte varie de 2 à 4 semaines, La longévité des adultes est optimale à 20°C. Au-dessus de 35°C, toutes les mouches meurent en moins de trois jours (*Cauquil*, 2011 ; *Salem*, 2012).

3.2.3 Pathogénie

Comme tous les *Lentivirus*, il infecte les cellules de la lignée monocyte-macrophage. À ce jour, le récepteur cellulaire permettant son entrée dans les cellules reste inconnu. Il se réplique activement *in vivo* dans les tissus riches en macrophages : rate, foie, poumons, ganglions lymphatiques et moelle osseuse (*Harrold et al.*, 2000).

Les monocytes sanguins sont permissifs à l'infection virale, permettant l'entrée du virus, la transcription inverse de son ARN, mais pas sa réplication ; leur différenciation en macrophages matures est une étape essentielle pour la réplication virale (figure 8) (*Sellon et al.*, 1992).

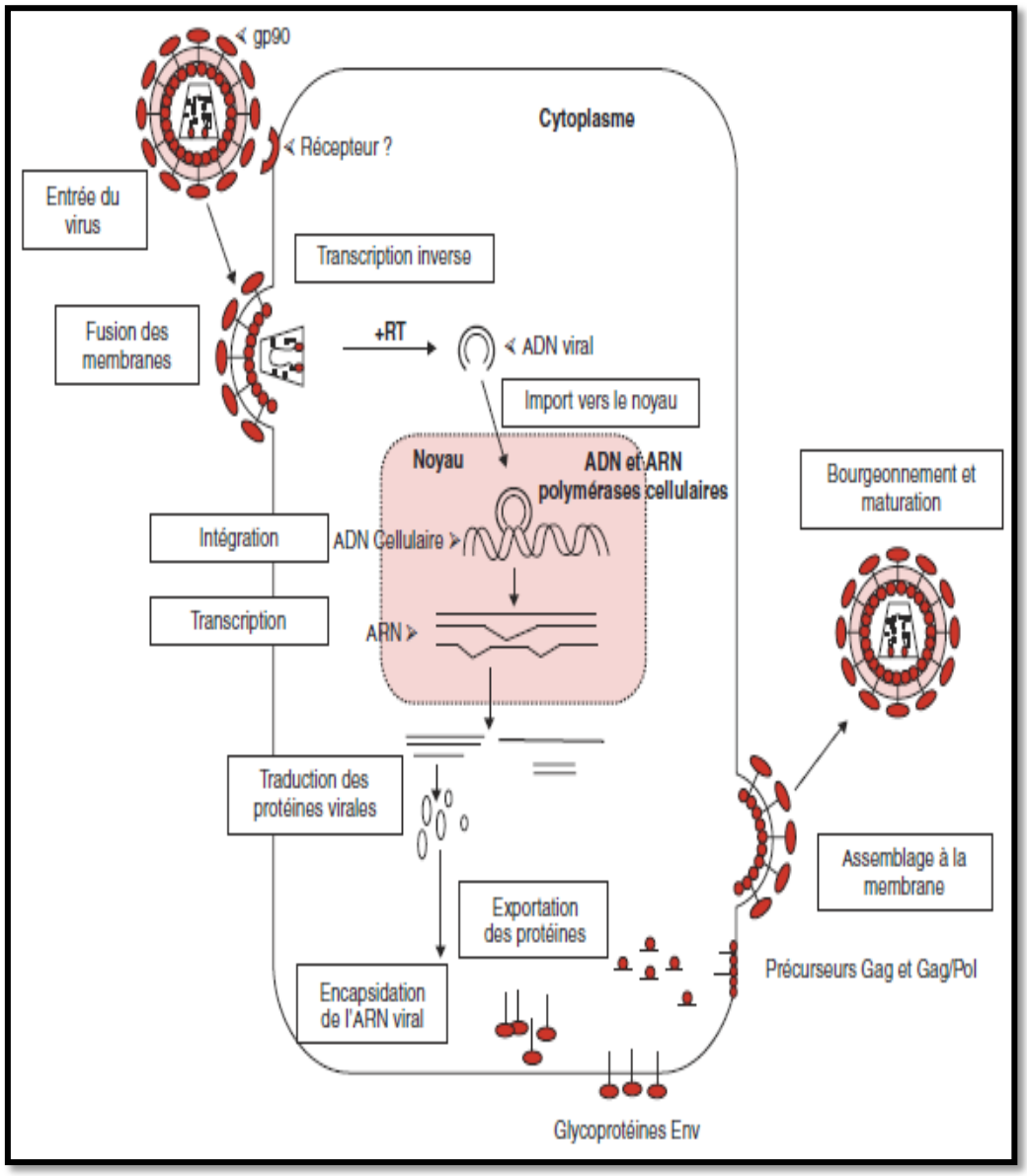


Figure 8 : Différentes étapes du cycle lentiviral dans la cellule cible (*Leroux et al.*, 2005)

L'ARN viral a aussi été détecté dans les cellules endothéliales vasculaires, mais seulement au cours des phases symptomatiques de l'infection (*Oaks et al.*, 1999). L'infection des cellules endothéliales pourrait participer au développement de la thrombocytopénie, l'un des signes cliniques les plus précoces de l'infection, en favorisant l'adhérence ou l'agrégation des plaquettes. De nombreux types cellulaires permettent de propager l'infection *in vitro* : macrophages dérivés de monocytes sanguins, macrophages tissulaires dérivés de rate ou de moelle osseuse, cellules endothéliales ou fibroblastes. Les souches virales d'*EIAV* disponibles diffèrent par leur virulence et leur capacité à se multiplier *in vitro* (*Leroux et al.,* 2005)

La pathogénie de l'AIE est de mieux en mieux connue. L'anémie résulte de deux mécanismes : (i) d'une part, une hémolyse de nature vraisemblablement immunologique, intra et extravasculaire, d'autre part une diminution de fonctionnement de la moelle osseuse. Sentsui et Kono ont montré que l'hémolyse résulte vraisemblablement de l'adhérence de l'hémagglutinine virale aux globules rouges ; ceux-ci sont alors rapidement phagocytés (sidéroleucocytes) et également hémolysés sous l'action du complément (*Sentsui & Kono***,** 1987a ; 1987b). Cette hémolyse est accélérée en présence d'anticorps dirigés contre le virus de l'AIE. (ii) Dans la glomérulite des chevaux atteints d'une forme aiguë d'AIE, on peut mettre en évidence des IgG anti-*EIAV* et du C3. Ceci suggère que cette lésion est due au dépôt dans le rein de complexes circulants virus-anticorps. McGuire *et al.* ont signalé, en 1972, la présence de ces complexes circulants et montré que 99% du virus infectieux présent dans le sérum se trouve sous forme de tels complexes (*McGuire et al.,* 1972). Parallèlement à la fixation de C3 sur les hématies et les glomérules, on note une diminution du taux de C3 circulant chez les chevaux malades (*Toma et al.,* 1990).

3.3. Modalités de transmission

L'infection naturelle lors d'AIE peut être établie par plusieurs voies. La transmission par des insectes hématophages semble être le mode le plus fréquent de l'infection naturelle, puisque l'AIE a été plutôt observée chez les chevaux élevés sur des pâturages, en particulier dans la période estivale. L'infection est limitée aux animaux du genre *Equus* (*More et al.*, 2008).

Le virus est transmis mécaniquement par les pièces buccales des insectes piqueurs. Chez les chevaux, ce virus persiste dans les leucocytes sanguins pour la vie, et se retrouve également dans le plasma au cours des épisodes fébriles. Les chevaux symptomatiques sont plus susceptibles de transmettre la maladie que les animaux atteints d'infections inapparentes ; après avoir visité un porteur asymptomatique, un seul sur 6 millions de mouches est susceptible de devenir un vecteur

potentiel. Des niveaux élevés de virémie ont également été rapportés au cours des premiers stades de l'infection chez les mules, et des titres significativement plus faibles ont été signalés chez les ânes (*Cook et al.,* 2001 ; *Craigo & Montelaro*, 2008).

3.3.1 Transmission vectorielle

La Commission japonaise (1914) a reconnu que l'infection naturelle de l'AIE s'est produite principalement par l'intervention des insectes hématophages, en particulier les taons de la famille des *Tabanidae* (*Hawkins et al.*, 1976 ; *Foil et al.*, 1988). Un cas rare de l'infection naturelle par l'intermédiaire de sangsues *Limnatis* (*L. nilotica*) a été rapporté.

D'autres espèces d'insectes, y compris *Aedes togoii*, *Maculipennis anopheles*, *Psorophora columbiae* et *Stomoxys calcitrans*, ont été mis en évidence expérimentalement, mais leur rôle en tant que vecteurs n'a été établi que dans les années quatre vingt (*Foil et al.*, 1983 ; *Issel & Foil*, 1984). Les puces, mouches, moucherons, mites, tiques n'ont pas été considérés comme des vecteurs. Plusieurs études expérimentales montrent que les moustiques ne sont pas capables de transmettre le virus. Deux raisons sont suspectées : le volume de sang transporté est trop faible et les sécrétions buccales des moustiques désactivent rapidement le virus (*Sellon et Mealey*, 2007).

3.3.2 Transmission par voie digestive

La voie digestive a été revendiquée par des chercheurs français et allemands, mais n'a jamais été confirmée expérimentalement. Cette voie semble avoir été identifiée lors infection naturelle de chevaux dans des écuries, surtout pendant l'hiver. Dans des conditions expérimentales, l'infection ne peut généralement pas être établie, à moins qu'une grande quantité de matériel viral soit utilisé pour une longue exposition d'animaux sensibles (*Ishii & Ishitani,* 1975 ; *Craigo & Montelaro*, 2008).

3.3.3 Transmission par voie respiratoire

La possibilité d'une infection par la voie nasale a été suggérée. Des expériences réussies ont été effectuées à partir de secrétions collectées, pendant la phase fébrile de l'infection, de chevaux infectés (*Ishii & Ishitani,* 1975). Cependant, aucun document n'a été publié permettant de vérifier ce mode de transmission à l'état naturel.

3.3.4 Transmission par transfusion sanguine

La transmission de l'infection par transfusion sanguine a été rapportée et confirmée expérimentalement par *Freita et al.* (2006) et *Tabar et al.* (2008). Récemment, c'est la transmission vénérienne qui a été signalée (*Silva et al.*, 2009).

3.3.5 Transmission par voie placentaire

Ishii *et al.* (1940) et Stein & Mott (1946) ont rapporté que les juments infectées avaient donné naissance à des poulains qui, immédiatement après mise-bas, ont été infectés par le virus de l'AIE. L'infection du poulain *in utero* est possible. Cook et Issel (2007) ont montré que cette voie de transmission représentait 10% chez les femelles infectées de façon latente, un peu plus chez les juments exprimant des symptômes cliniques.

3.3.6 Transmission par injection ou par du matériel souillé

Le non respect des mesures d'hygiène, notamment la réutilisation d'aiguilles souillées par du sang pour les injections de chevaux différents, peut être à l'origine de la transmission de la maladie, le virus pouvant survivre plusieurs jours sur des aiguilles contaminées. Selon certaines sources (*Cook & Issel*, 2007), la transmission indirecte peut également faire intervenir les instruments de chirurgie, les objets de pansage, mors, harnais...

3.3.7 Autres modes de transmission

Ishii (1938) a prouvé que le virus de l'AIE était présent dans le sperme d'un cheval infecté. En dépit d'essais répétés, cependant, il ne pouvait pas produire un cas d'infection coïtale. Bien que la transmission vénérienne ne semble pas être une voie de propagation, un étalon semble avoir transmis le virus à une jument présentant une blessure vaginale en période de reproduction. Aucune autre étude n'a pu confirmer ce mode de transmission.

D'autres routes secondaires de transmission pourraient être possibles. *EIAV* ne semble pas être retrouvé dans la salive ou l'urine. Cependant, il peut être trouvé dans le lait des chevaux. Ces derniers peuvent également être infectés par inoculation sous-cutanée de ces sécrétions (*Cook* et *Issel*, 2007). La possibilité de transmission par aérosol de matières infectieuses, lors d'un contact proche, a été soulevée lors de l'épidémie en Irlande en 2006 (*More et al.,* 2008).

3.4. Répartition géographique

L'Anémie Infectieuse des Équidés (AIE) est une maladie cosmopolite à distribution mondiale. Elle est présente en grande majorité dans les régions tropicales, subtropicales, mais également dans les régions tempérées d'Afrique du Nord, d'Europe et d'Asie (*Craigo & Montelaro*, 2008). Rencontrée plus particulièrement dans les zones humides à semi-humides, favorisant l'abondance des insectes vecteurs susceptibles de transmettre l'*EIAV*. Bien que la probabilité d'infection des insectes vecteurs par *l'EIAV* soit plus grande au cours des saisons chaudes, les infections

peuvent se produire tout au long de l'année *via* des transferts mécaniques de sang par les aiguilles hypodermiques et autres instruments vétérinaires.

La maladie a été diagnostiquée un peu partout dans le monde. Or, le nombre réel d'animaux infectés dans une région géographique précise dépend de plusieurs facteurs : (i) la densité de la population équine ; (ii) la proportion d'animaux porteurs ; (iii) la densité de la population des insectes vecteurs ; et (iv) la mise en place de mesures de lutte (*Sendal*, 2010).

Le pourtour du bassin méditerranéen est touché par cette affection, qui a été rapportée dans presque tout les pays riverains de la Méditerranée, avec des prévalences relativement faibles (tableau I). Cette pathologie est également présente dans beaucoup de pays européens (Allemagne, Autiche, Belgique, Danemark, Finlande, Grande-Bretagne, Irlande, Pologne, Pays-Bas, Slovénie, Suède) (*Hans et al.,* 2012). L'AIE est passée, aux États-Unis d'Amérique, de 1% en 2003 à 25% en 2011 (*Camargo*, 2012).

Tableau I- Séroprévalence de l'AIE dans quelques pays du bassin méditerranéen (*OMS*, 2012)

Pays	**Prévalence**	
	Chevaux	**Ânes et Mulets**
Croatie	4,85%	0,3%
Chypre	0,2%	//
France	2,2%	9,63%
Grèce	4,5%	0,04%
Israël et Palestine	0,12%	3,1%
Italie	0,15%	7,1%
Lybie	0,04%	//
Malte	0,9%	//
Maroc	0,6%	2,1%
Portugal	1,04%	//
Tunisie	0,22%	1,1%
Turquie	00%	00%

En Algérie, aucun cas d'AIE n'a été jusqu'à présent rapporté, ou déclaré par la Direction des Services Vétérinaires.

4. Symptomatologie

4.1 Distribution du virus dans les organes d'un équidé

Le virus *EIAV* reste dans le sang des chevaux infectés pendant une longue période (*Fortner*, 1944 ; *Bindrich*, 1958). *Stein et al.* (1955) ont rapporté qu'un cheval apparemment guéri de cette maladie avait gardé le virus dans son organisme 18 années successives. Le virus était présent dans le sang d'un cheval infecté en forte concentration lors de fièvre. Cependant, les organes, les ganglions, la moelle osseuse, la rate, le foie et les ganglions lymphatiques de la cavité abdominale contiennent le virus en très haute concentration (*Sellon*, 1993).

4.2 Manifestations cliniques

Outre les chevaux et poneys (*Equus caballus*), chez lesquels de très nombreuses études ont été menées, *l'EIAV* infecte également les ânes (*Equus asinus*) et les mules (*Equus caballus X Equus asinus)*. Bien que sensibles à l'infection, les ânes ne développent pas de signes cliniques spécifiques et la charge virale circulante reste faible.

La plupart des *lentivirus*, incluant HIV1 (*human immunodeficiency virus 1*) chez l'homme ou SRLV (*small ruminant lentivirus*) chez les petits ruminants, sont responsables d'une maladie chronique dégénérative d'évolution lente conduisant à la mort en quelques mois ou années. Au contraire, l'infection par *EIAV* se caractérise par l'évolution d'une maladie chronique à un stade asymptomatique, où les équidés, bien qu'infectés à vie, ne présentent plus aucune manifestation clinique de l'infection (*Issel et al.,* 1982).

4.2.1 Période d'incubation

La période d'incubation de l'infection naturelle par l'AIE est variable, et dépend de la virulence de la souche du virus et de l'état du cheval. Généralement, la période d'incubation de l'AIE est considérée comme étant de 1 à 4 semaines. Dans le cas d'une infection expérimentale, l'apparition de fièvre est observée 10 à 21 jours après l'injection sous-cutanée avec une certaine dose de virus (*Cadoré et al.,* 2007).

4.2.2 Évolution clinique

Depuis les premières descriptions cliniques du début du siècle dernier, la physionomie des différentes formes cliniques n'a pas fondamentalement changé. Les infections expérimentales d'équidés ont permis de déterminer avec précision les différentes phases cliniques suivant l'inoculation de virus.

La primo-infection peut passer inaperçue ou se traduire par un syndrome hyperthermique au cours duquel des modifications hématologiques, principalement une anémie mais surtout une thrombopénie, peuvent être notées. Après un retour à la normale, un premier accès typho-anémique peut survenir, généralement dans un délai de deux à trois semaines (*Dauphin et al.*, 2005).

Dans les mois ou les années qui suivent, le cheval infecté peut présenter de façon récurrente le même type d'accès, progressivement accompagné d'autres signes plus constants dans le temps (abattement, anémie chronique, hyperthermie récidivante, etc.). Parfois, ces états cliniques peuvent passer inaperçus jusqu'à l'apparition d'un purpura hémorragique (*Sublime,* 2006).

Classiquement, trois phases sont décrites (*Cadoré et al.,* 2007) :

- La phase aiguë survient dans les 10-15 jours post-infection puis en crises récurrentes. L'animal peut succomber lors de cette phase mais elle peut aussi passer inaperçue.

- La phase chronique est une période plus ou moins longue qui succède à la phase aiguë pendant laquelle l'animal infecté exprime des symptômes frustes et évoluant lentement.

- La phase latente est une phase durant laquelle l'animal infecté n'exprime aucun symptôme tout en restant infecté. Elle peut survenir d'emblée après l'incubation ou après la phase chronique. À l'inverse, un cheval en phase de latence peut, à la faveur d'une immunodépression, à nouveau passer dans une phase symptomatique.

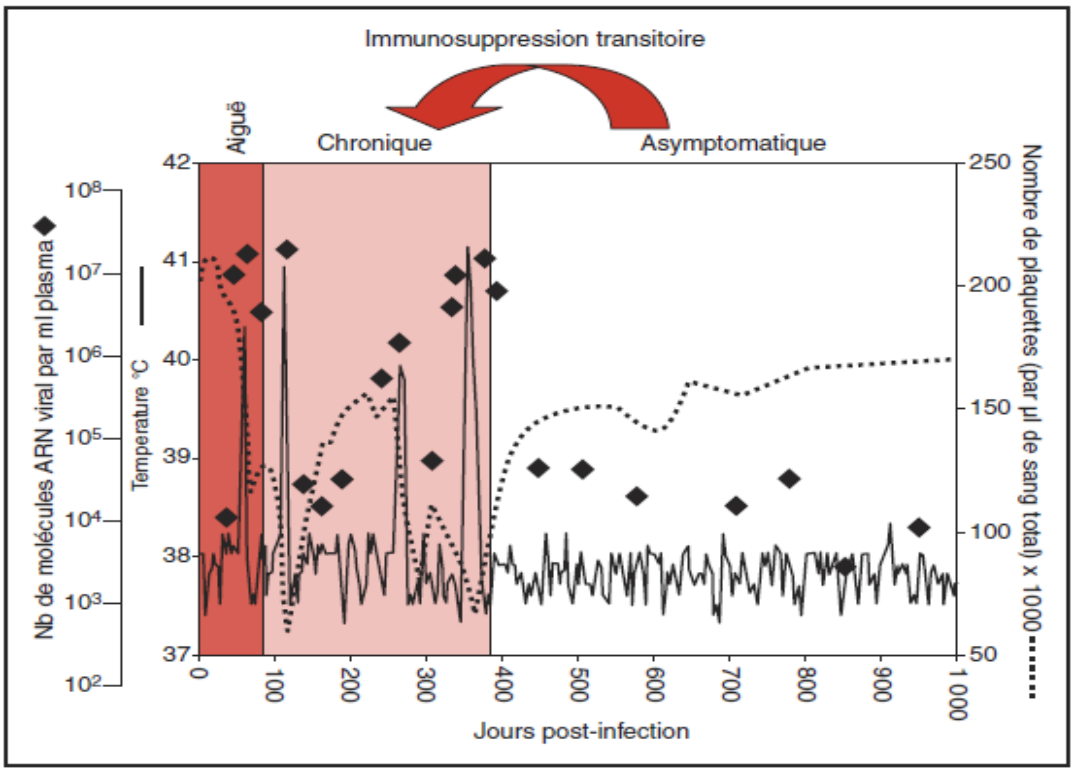


Figure 9 : Profils d'expression clinique et virale chez un équidé expérimentalement infecté par l'EIAV. Les épisodes fébriles sont définis par une élévation de la température corporelle au-dessus de 39°C, en conjonction avec une diminution du nombre de plaquettes par µl de sang total. La charge virale plasmatique est indiquée par (♦) (*Leroux et al.,* 2004*)*

- **Forme suraiguë**

Elle est rare et atteint surtout les jeunes. Le début est brutal, avec de la fièvre (41°C), un abattement intense, une anorexie, et une atteinte intestinale avec entérorragie. La mort survient en 1 à 3 jours. L'anémie n'a pas le temps de se mettre en place (*Ishii & Ishitami*, 1975 ; *Toma et al.*, 1990 ; *Tuffert*, 2011).

- **Forme aiguë**

On observe cette forme suite à l'infection ou lors des épisodes aigus entre lesquels le cheval ne présente pas de symptômes. Elle dure en général 3 à 5 jours.

La phase de début est marquée par des symptômes généraux (fièvre à 40-41°C, tachycardie, tachypnée, anorexie) et des symptômes locaux oculaires (larmoiement, muqueuse conjonctivale jaunâtre sur fond rouge, avec parfois des pétéchies). Elle s'accompagne d'une thrombocytopénie majeure (< 100.000/µl), premier paramètre sanguin modifié. Le cheval atteint

présente, en outre, une faiblesse et un essoufflement à l'effort (*Ishii & Ishitami*, 1975 ; *Toma et al.*, 1990 ; *Tuffert*, 2011).

La phase d'état est marquée par une aggravation des symptômes généraux (abattement plus marqué,...) et oculaires (pétéchies plus nombreuses) et la formation de pétéchies sur la muqueuse buccale et la face inférieure de la langue. Certains chevaux présentent, en outre, isolés ou associés, des symptômes d'atteinte hépatorénale (polyurie, albuminurie), une diarrhée fétide striée de sang, avec de légères coliques, des symptômes de myocardite et des œdèmes déclives.

Des symptômes nerveux tels que l'ataxie et des encéphalites sont également rapportés (*Sellon et Mealey,* 2007). Le cheval présentant une phase aiguë évolue vers les formes chroniques, latentes ou vers la mort. Dans ce dernier cas, la phase terminale est associée à l'aggravation des symptômes précédents (œdèmes déclives nets,...), une émaciation musculaire importante et la mort après une évolution de 8 à 12 jours (*Cadoré et al.,* 2007).

- **Forme subaiguë**

Les symptômes présentés sont les mêmes que dans la phase aiguë, mais atténués et étalés dans le temps, survenant sous forme de crises durant quelques jours, entrecoupées de phases de rémission plus ou moins longues, simulant une guérison.

Au cours des crises, la température s'élève mais de manière moins marquée que pour les formes aiguës (autour de 39°C), les œdèmes déclives sont nets et l'anémie marquée. L'animal s'amaigrit. Des avortements sont également observés (*Ishii & Ishitami*, 1975 ; *Toma et al.*, 1990 ; *Tuffert*, 2011).

- **Forme chronique**

Elle succède aux formes précédentes. Elle se traduit par une évolution longue et des symptômes frustes : amaigrissement, baisse de forme, légère hyperthermie, tachycardie d'effort. Les muqueuses sont sub-ictériques et l'anémie est plus ou moins accusée ("œil gras"). Des épisodes aigus peuvent survenir. La mort survient habituellement au bout de plusieurs mois ou années (*Ishii & Ishitami*, 1975 ; *Toma et al.*, 1990 ; *Tuffert*, 2011).

- **Forme latente**

La forme latente fait suite à une ou plusieurs crises et apparaît comme une guérison apparente. C'est l'évolution la plus fréquente. L'animal reste porteur du virus et donc infecté. Il peut néanmoins, à la faveur d'une immunodépression, repasser en phase a aiguë (*Ishii & Ishitami*, 1975 ; *Toma et al.*, 1990 ; *Tuffert*, 2011).

4.3 Modifications pathologiques

Les changements pathologiques de l'AIE décrites par de nombreux chercheurs sont : une dégénérescence parenchymateuse, la dégénérescence et la nécrose des tissus lymphatiques ainsi que des cellules réticulo-endothéliales, des troubles circulatoires, l'activation des cellules du système réticulo-endothélial, et la prolifération des cellules lymphoïdes (*Konno* et *Yamamoto*, 1970 ; *Sublime*, 2006).

4.3.1 Modifications hématologiques

Chez les animaux en phase aiguë, sont observés :

- Une anémie légère à marquée selon la virémie. Elle est la conséquence d'une hémolyse intra et extravasculaire,
- Une thrombocytopénie,
- La présence de sidéroleucocytes (macrophages contenant de l'hémosidérine, catabolites de l'hémoglobine : nombre supérieur à 14 pour 100.000 leucocytes),
- Parfois une leucopénie (leucopénie initiale puis, pendant les crises, associée à une lymphocytose et une monocytose),
- Une diminution du rapport albumine/globuline,
- Une augmentation de la vitesse de sédimentation (pendant les crises).

4.3.2 Modifications histologiques

- **Macroscopiques**

Les lésions viscérales retrouvées à l'autopsie sont variables selon la forme évolutive :

- ***Dans les formes suraiguës*** : des lésions de septicémie, congestion généralisée, hémorragies, hypertrophie ganglionnaire et congestion des nœuds lymphatiques.
- ***Dans les formes aiguës*** : outre l'émaciation musculaire, les œdèmes sous-cutanés en partie déclive, l'hypertrophie des nœuds lymphatiques et des lésions de néphrite (reins pâles et hypertrophiés), trois lésions essentielles, mais inconstantes, sont souvent retrouvées : myocardite (myocarde couleur feuille morte, tigré à la coupe et friable, avec pétéchies), hépatomégalie (foie couleur feuille morte, friable, pesant parfois 10 à 20 kg) et splénomégalie (rate ferme, bosselée, pesant parfois 4 à 8 kg). On peut également parfois noter la présence d'hémorragies intestinales.

- ***Dans les formes subaiguës et chroniques :*** les lésions retrouvées sont équivalentes à celles des formes aiguës mais la cachexie et les œdèmes sont plus marqués.

Microscopiques

Sur le foie, la rate et les ganglions, on retrouve une infiltration lymphocytaire et histiocytaire. Des lésions d'hémosidérose (liée à la destruction *in situ* des globules rouges par les macrophages) sont présentes dans le foie (cellules de Küpfer), la rate, les ganglions, les poumons et les reins.

5. Réponse immunitaire

Au cours de l'infection, et notamment de la phase asymptomatique, l'hôte développe une réponse immunitaire capable de maintenir la virémie en dessous du seuil critique de pathogénicité. La résolution du premier épisode clinique de la phase initiale est associée au développement d'une réponse humorale et cellulaire (*Hammond et al.,* 1997 ; 2000).

La réponse humorale évolue graduellement, sur une dizaine de mois, au cours de l'infection, lorsque les animaux progressent du stade chronique de récidive vers le stade asymptomatique (*Hammond et al.,* 2000) (figure 10). Reconnaissant préférentiellement les épitopes linéaires au début de l'infection, en quelques mois, la réponse anticorps devient dépendante de la conformation des épitopes. De façon intéressante, une maturation similaire a été mise en évidence chez des malades infectés par le VIH1 (*Cole et al.*, 1998).

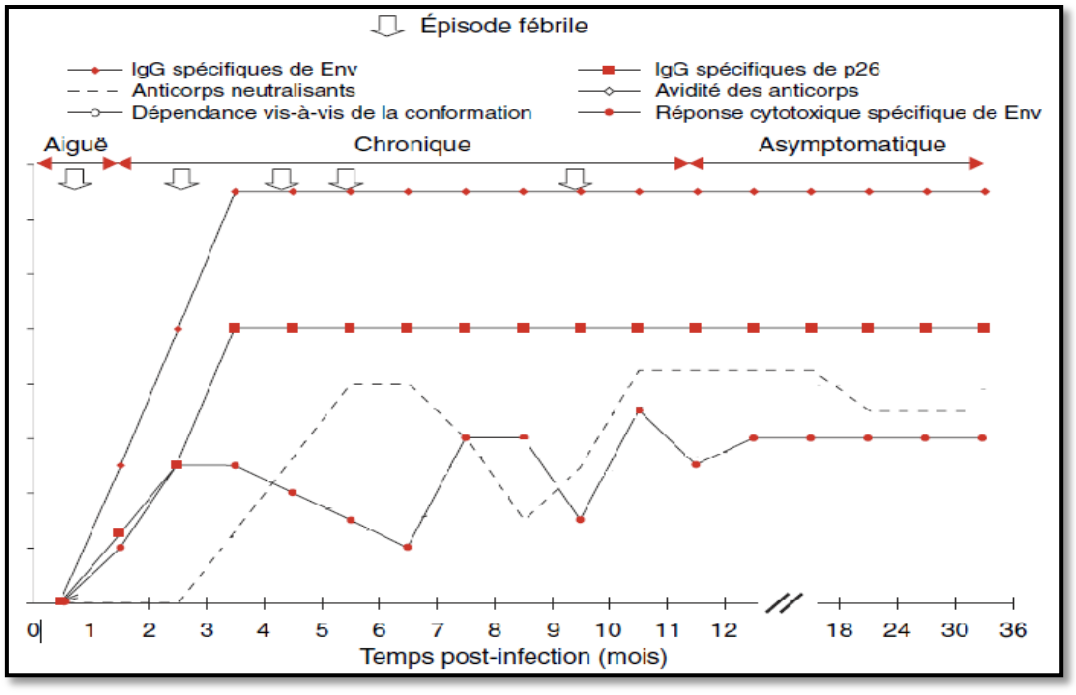


Figure 10 : Maturation de la réponse immunitaire dirigée contre l'EIAV chez un animal infecté (d'après *Hammond et al.,* 2000)

Les anticorps neutralisants capables de bloquer le virus n'apparaissent qu'après 2 à 3 mois et leur taux varie au cours de l'infection (*Hammond et al.,* 1997), suggérant qu'ils ne sont pas responsables de la résolution du premier épisode clinique.

Le taux d'anticorps neutralisants n'est pas corrélé au niveau de protection contre le virus chez des animaux infectés (*Hammond et al.,* 2000). Cependant, il a été démontré que la recrudescence des symptômes cliniques était associée à l'émergence de variants résistants à la neutralisation (*Leroux et al.,* 1997), suggérant que la réponse humorale neutralisante est efficace pour contrôler la réplication virale.

L'apparition de lymphocytes CD8+ est corrélée avec la résolution de l'épisode clinique initial. Au cours de l'infection, la plupart des animaux développent des lymphocytes T mémoires, CTLm, CD4+ et CD8+ (*Cole et al.,* 1997). Les lymphocytes CD8+ et CD4+ reconnaissent et lysent les cellules cibles exprimant Env. Seuls les CD8+ lysent les cibles exprimant Gag (*Mealey et al.,* 2003).

6. Diagnostic

L'AIE peut être diagnostiquée sur la base des signes cliniques, des lésions, de la sérologie et de techniques moléculaires. Les chevaux infectés demeurent porteurs du virus pendant toute leur vie et, à de rares exceptions, fournissent une réponse sérologique positive. Habituellement, les anticorps demeurent présents et les animaux à réponse positive, de plus de 6 à 8 mois, sont des porteurs du virus (chez les animaux âgés de moins de 6 mois, une réponse sérologique positive peut être due à des anticorps d'origine maternelle et le statut de ces animaux peut être confirmé par les techniques moléculaires). Les chevaux infectés sont des réservoirs potentiels de virus.

6.1 Diagnostic épidémio-clinique

Le diagnostic épidémio-clinique est difficile en raison du polymorphisme de la maladie et de l'absence de symptômes spécifiques. Cependant, l'AIE peut être suspectée lorsque certains critères de suspicion cliniques et lésionnels sont présents :

- Lorsqu'un cheval est atteint d'une maladie aiguë avec fièvre, abattement, tachycardie, anorexie, dyspnée d'effort et œdèmes.
- Lorsqu'un cheval est atteint d'une maladie chronique associant baisse de forme, amaigrissement, œdèmes, hyperthermie modérée, anémie et évoluant par crises.
- Lorsqu'un cheval présente une baisse de forme, et en particulier une contre-performance inexpliquée.

- Lorsque le bilan hématologique présente des sidéroleucocytes en quantité importante (leur nombre est normalement inférieur à 7 pour 100.000 leucocytes pour un cheval sain et peut atteindre 100 à 1.000 chez un cheval malade)
- À l'autopsie, si l'association d'une splénomégalie, d'une hépatomégalie et d'une myocardite est retrouvée.

6.2 Diagnostic de laboratoire

6.2.1 Identification de l'agent pathogène

À partir d'un cheval infecté, le virus peut être isolé par inoculation de sang suspect à un cheval indemne ou à une culture de leucocytes préparée à partir d'un cheval indemne.

L'isolement du virus sur culture de leucocytes de cheval peut être confirmé par inoculation du liquide de culture à des chevaux indemnes ou par des techniques moléculaires telles que la réaction d'amplification en chaîne par polymérase (PCR), par essai de transcriptase inverse. Cette dernière (RT-PCR) permet de détecter et de quantifier l'ARN viral présent dans le plasma des chevaux (*Malliga et al.,* 2001). Cela fonctionne même s'ils sont porteurs inapparents, sauf si la charge virale est très faible (défaut de sensibilité). L'intérêt de la technique est qu'elle est capable de détecter de l'ARN viral dès 3 jours post-inoculation (*Sublime*, 2006).

La détection du virus de l'AIE par PCR peut être mise en œuvre dans les circonstances suivantes :

- Résultats des tests sérologiques en désaccord ;
- Résultats sérologiques négatifs ou douteux en cas de suspicion d'infection ;
- Tests complémentaires pour confirmer des tests sérologiques positifs ;
- Confirmation d'une infection précoce avant apparition des anticorps ;
- Vérification que les chevaux utilisés pour la production d'antisérums, de vaccins ou donneurs de sang sont bien indemnes de l'infection par le virus de l'AIE ;
- Confirmation du statut de poulains nés de mères infectées.

La mise en évidence du virus est rarement faite à cause du temps nécessaire, des difficultés et du coût par rapport aux tests sérologiques.

6.2.2 Épreuves sérologiques

La reconnaissance de l'infection chez des chevaux infectés peut être faite au moyen de différentes techniques sérologiques permettant la mise en évidence d'Ac spécifiques dirigés contre les antigènes de *l'EIAV*. Les techniques les plus couramment employées par les laboratoires sont principalement l'épreuve d'immunodiffusion en gélose (IDG), l'Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), et récemment le Western Blotting (WB).

Du fait de leur simplicité et de leur rapidité d'exécution et de lecture, ces méthodes (ELISA, WB) sont les plus fréquemment utilisées, aussi bien dans les laboratoires de diagnostic que dans le cadre des enquêtes épidémiologiques.

6.2.2.1 Immunodiffusion en gélose ou test de Coggins (IDG)

Le test de Coggins est une réaction d'immunodiffusion en gélose utilisant l'antigène p26. C'est un antigène interne qui connaît une grande stabilité entre les souches virales. Il est préparé à partir d'une culture cellulaire (ED) et un sérum de référence (*Coggins & Norcross*, 1970). Ce test est aussi dénommé "AGID" (Agar Gelose Immuno-Diffusion) dans la littérature anglophone.

Lors d'infection par le virus de l'AIE, des anticorps précipitants sont rapidement produits et peuvent être détectés par l'épreuve d'IDG. Une réaction spécifique est attestée par la formation d'une ligne de précipité entre l'antigène AIE et le sérum testé et elle est confirmée par son identité avec la ligne de précipité apparaissant entre l'antigène et le sérum positif de référence (figure 13).

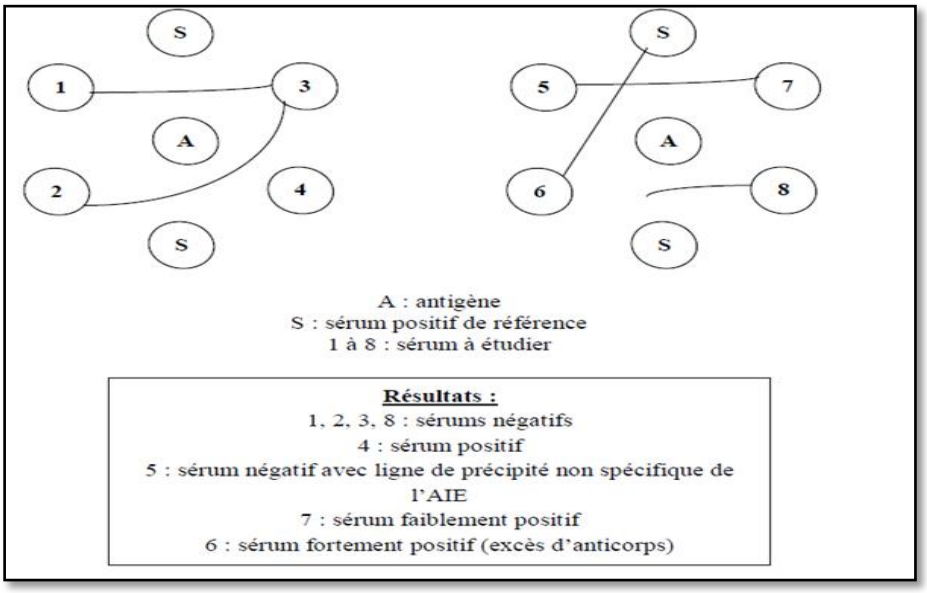


Figure 11 : Représentation schématique de la distribution des réactifs dans les cupules creusées dans la gélose pour le test de Coggins (*Chomel et al.,* 1982)

Au cours des 2 à 3 semaines suivant l'infection, les chevaux fournissent habituellement une réponse sérologique négative. Dans de rares cas, le délai d'apparition des anticorps après l'infection peut aller jusqu'à 60 jours.

Ce test est très spécifique et sensible, bien que l'appréciation de la ligne du précipité soit visuelle et donc l'interprétation du test reste subjective. Les résultats sont lisibles au bout de 48 h. L'interprétation tient compte de la cinétique des anticorps précipitants détectés par le test : ils apparaissent en moyenne entre 15 et 60 jours après l'infection (au plus tard 90 jours) et 10 jours après le début de la fièvre chez l'animal malade. Ils persistent toute la vie de l'animal (*Tuffert*, 2011).

6.2.2.2 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

L'ELISA a été développée dans les années 80 dans le diagnostic de l'AIE (*Suzuki et al.*, 1982 ; *Shane et al.,* 1984 ; *Sugiura et al.,* 1986). Elle est facilement adaptée pour être utilisée avec divers antigènes (cytoplasmiques, purifiés, synthétiques), voire avec des peptides et des protéines recombinantes (*Archambault et al.,* 1989 ; *Dos Reis et al.*, 1994 ; *Toledo Piza et al.,* 2007). Cette technique repose sur l'ajout, en cours de réaction, d'un enzyme qui agit sur un substrat pour produire une réaction colorée, dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'anticorps. La réaction est quantifiée au spectrophotomètre par mesure de l'absorbance, limitant ainsi la subjectivité de la lecture. Le grand avantage de cette technique est l'automatisation, permettant ainsi la lecture rapide d'un grand nombre d'échantillons.

De nombreuses variantes à la technique ELISA ont été développées et perfectionnées ces dernières années, parmi elles Competitive-ELISA, Dot-ELISA, Fast-ELISA, Slide-ELISA, ayant une sensibilité très améliorée et une spécificité plus ou moins variable (*Issel et al.,* 1993 ; *Issel et al.*, 2013).

La technique ELISA est plus sensible, notamment aux stades précoces ou à faible concentration en anticorps. Elle est moins "opérateur dépendant" car les résultats sont faciles à lire visuellement ou de manière automatisée. Par ailleurs, cette technique permet d'obtenir des résultats en 45 minutes, contrairement au test de Coggins qui demande un laboratoire de référence et au moins 48 h de délai.

6.2.2.3 Western Blotting (WB)

Le Western Blot est une technique d'immuno-empreinte, dont l'intérêt réside dans la mise en évidence d'anticorps spécifiques d'antigènes du virus. Cette technique s'effectue en plusieurs

étapes : (1) électrophorèse des protéines antigéniques, (2) transfert du profil obtenu sur nitrocellulose, (3) mise en contact de la membrane avec le sérum à tester, (4) élimination des Ac non spécifiques par lavage et marquage du complexe Ag-Ac avec des Ac anti-globulines marqués avec un chromogène, et (5) comparaison entre les bandelettes tests et un témoin. Les antigènes sont séparés selon leur poids moléculaire.

Une réaction positive se traduit par l'apparition de bandes de couleur violette sur la membrane. Plusieurs antigènes se révèlent immunogènes et spécifiques de la maladie, particulièrement les fractions rp26 et gp90 (*Alvarez et al.,* 2007a). Malgré ses nombreux avantages, elle n'est cependant pas utilisée en première intention chez le cheval car son coût reste très élevé. Son utilisation se justifie dans le cas de sérologies douteuses.

6.3 Diagnostic différentiel

L'AIE, quelle que soit sa forme clinique, n'est pas une maladie présentant un tableau clinique spécifique. Sous sa forme aiguë ou chronique, elle est associée au syndrome "Pirolike" qui regroupe les signes cliniques suivants : hyperthermie parfois récurrente, anémie, amaigrissement, œdèmes, ictère. Les maladies entrant dans ce diagnostic différentiel sont (Amory et Pitel, 2007) : les piroplasmoses, l'Ehrlichiose, la leptospirose et la borréliose (tableau 2). Ces cinq maladies sont le plus souvent recherchées lors d'anémie chez le cheval.

- **Les piroplasmoses :** les agents responsables sont *Babesia caballi* et *Theileria equi.* La transmission se réalise *via* les tiques. Les signes cliniques sont très proches de l'AIE. Les piroplasmes peuvent être détectés par différents examens de laboratoire, mais certains chevaux peuvent rester infectés malgré un traitement pendant plusieurs mois.
- **L'Ehrlichiose ou anaplasmose :** l'agent responsable est une bactérie, *Anaplasma phagocytophilum.* Les signes cliniques sont très proches de ceux de l'AIE mais la maladie est en général auto-limitante et se guérit au bout d'une dizaine de jours.
- **La leptospirose :** l'agent responsable est une bactérie spirochète, *Leptospira interrogans,* qui comprend de nombreux sérovars. Outre les signes cliniques non spécifiques, elle est à l'origine d'uvéites et d'avortements.
- **La borréliose ou maladie de Lyme :** la bactérie responsable est *Borrelia burgdorferi.* La borréliose est transmise par les tiques mais elle s'exprime rarement sous forme clinique chez les chevaux et beaucoup sont porteurs asymptomatiques. Des signes cliniques plus spécifiques comme des arthrites ou une uvéite sont parfois observés.

Tableau 2 : les principaux signes cliniques rencontrés lors d'anémie infectieuse chez le cheval (*Pitel et al.,* 2009)

	AIE	Piroplasmose	Ehrlichiose	Borréliose	Leptospirose
Amaigrissement	x	x		x	
Œdèmes	x	x	x		
Pétéchies	x	x	x	x	
Uvéite				x	x
Neuropathie	x	x	x	x	
Avortement				x	x
Trouble locomoteur		x	x	x	
Trouble de la coagulation	x		x		

7. Prophylaxie

7.1 Prophylaxie Sanitaire

À ce jour, aucun traitement ni vaccin n'a donné de résultats satisfaisants contre l'AIE en raison, en partie, de la variabilité du virus. La mesure de prévention fondamentale est le dépistage et l'isolement des chevaux infectés.

Pour réduire les risques d'infection et de propagation de la maladie, il faut :

- Isoler les nouveaux chevaux jusqu'à ce qu'ils aient subi l'épreuve de dépistage de l'AIE.
- Dès qu'un diagnostic est posé ou en présence d'une suspicion, l'animal doit être éloigné du reste de l'effectif
- Satisfaire aux exigences de l'industrie équine en matière d'analyses et de certificats pour tous les chevaux inscrits à des foires, à des ventes ou à des courses ;
- Utiliser des aiguilles et seringues jetables ;
- Adopter des mesures d'hygiène strictes ;
- Prévoir un programme de lutte contre les insectes dans le voisinage de l'écurie et de la propriété ;
- Éviter d'accoupler des chevaux infectés par l'AIE ;
- Consulter le vétérinaire en cas d'observation de signes cliniques de l'AIE ;
- Nettoyer et stériliser l'écurie, y compris les surfaces de contact possibles, en cas de diagnostic de la maladie.

Des contrôles sérologiques doivent être réalisés tous les 30 à 45 jours (avec isolement et élimination des positifs) jusqu'à l'assainissement total confirmé par deux contrôles négatifs sur l'ensemble de l'effectif à un intervalle de 45 à 60 jours.

7.2 Prophylaxie médicale

Il n'existe pas actuellement de vaccin disponible pour l'AIE. Des chercheurs chinois ont rapporté l'efficacité d'un vaccin basé sur une souche atténuée d'*EIAV* par passages successifs sur des cellules d'âne. En 30 ans, ce vaccin aurait protégé contre la maladie un nombre impressionnant (des millions) de chevaux et d'ânes en Chine (*Shen et al.,* 2006). À ce jour, il s'agirait du seul vaccin efficace obtenu contre une infection lentivirale.

Malheureusement, peu de données sont accessibles à la communauté scientifique sur ce vaccin. Des vaccins utilisant des sous-unités virales ou des protéines virales recombinantes sont inefficaces pour protéger l'animal contre l'infection ; plus encore, ils ont la capacité d'activer la réplication virale et d'augmenter l'intensité des manifestations cliniques (*Issel et al.,* 1992 ; Raabe *et al.,* 1998).

Une autre équipe (*Li et al.,* 2003) a développé un vaccin utilisant un clone moléculaire inactivé par deux mutations du gène S2 qui protège contre la maladie et la réplication virale après épreuve vaccinale homologue. La protection vis-à-vis des souches hétérologues doit être démontrée. L'efficacité du vaccin est également fonction du temps d'immunisation avant l'épreuve vaccinale (*Craigo et al.,* 2005)

Ces résultats sur le développement d'un vaccin contre l'*EIAV* sont intéressants, mais il est difficile de savoir s'ils déboucheront sur la mise au point d'un vaccin efficace (*Cadoré et al.*, 2007).

2EME PARTIE

ENQUETE DE SEROPREVALENCE DE « L'ANEMIE INFECTIEUSE DES EQUIDES» DANS LA REGION DE TIARET

1. Objectifs

L'AIE est une maladie réputée légalement contagieuse chez les équidés au titre de l'article 2 du décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, fixant la liste des maladies animales à déclaration obligatoire et les mesures générales qui leur sont applicables (cf annexe I). La réglementation algérienne prévoit obligatoirement de soumettre les chevaux à une épreuve de dépistage avant de les faire participer à des courses, des concours hippiques, des ventes, des haras ou dans un lieu de rassemblement de chevaux (JO-N°16).

En Algérie, la recherche et l'identification des différentes pathologies équines ne sont pas prises en charge. Il n'existe aucun programme national permettant de lutter contre la propagation des maladies virales en général et du *Lentivirus* EIAV plus particulièrement et l'unique action des services vétérinaires se limite à la mise en œuvre d'un traitement symptomatique des infections bactériennes secondaires. Les équidés ne subissent pas de contrôle systématique au cours de leur vie. En effet, le diagnostic de l'AIE, même s'il est réglementairement obligatoire, n'est exigé que pour certaines importations et certaines exportations d'équidés et lors des contrôles pour la reproduction chez les étalons (Déclaration personnelle du Directeur de Service Vétérinaire).

Ce travail a été entrepris dans le but d'étudier le taux d'infection des équidés par l'EIAV, de préciser la situation actuelle de l'AIE dans la wilaya de Tiaret, de constituer une première étape d'une approche nationale et de formuler par la suite des recommandations visant à contrôler l'émergence ou la réémergence de cette maladie.

2. Matériels et Méthodes

Cette étude a été réalisée, dans la Wilaya de Tiaret.

2.1 Présentation de la région d'étude

S'étendant sur une superficie de 200 505 Km2, pour une population de 839.417 habitants, selon le recensement de 2008, répartie à travers 14 daïras et 42 communes, la wilaya de Tiaret est localisée au Centre ouest de la région des Hauts-Plateaux. Elle est distante de 300 Km de la capitale, Alger, et délimitée par la wilaya de Tessemsilt au Nord, celles de Relizane, Mascara et Saida à l'Ouest et El-Bayadh, Laghouat et Djelfa au Sud.

Il s'agit d'une région en général élevée avec des altitudes compris entre 700 et 1200m. Son espace est hétérogène, et composé par une zone montagneuse au Nord limitée par le versant méridional du chaînon de l'atlas tellien (Ouarsenis), des hauts plateaux au Centre et par des espaces semi-arides au Sud limité par l'atlas saharien (Djebel Amour) et les monts de Frenda.

Le climat de la commune est méditerranéen, chaud et sec en été et froid avec un niveau pluviométrique relativement faible en hiver. Il y a en moyenne 90 jours de pluie par an, concentrés entre octobre et mai. Les précipitations annuelles varient entre 200 et 400 mm, soit une moyenne annuelle de 300mm/par an. Ces précipitations sont très irrégulières. L'eau de pluie ou provenant des Oueds de la commune permet l'alimentation des nappes phréatiques situées sous les cours d'eau.

L'étude a été réalisée dans la wilaya de Tiaret entre juin et novembre 2013 dans les daïras suivantes Tiaret, Sougueur et Ain-deheb (figure 14).

Figure 14 : Situation géographique de la zone d'étude

De vocation agro-pastorale, l'élevage à Tiaret constitue une activité importante puisqu'il compte un effectif ovin de 880.000 têtes pouvant atteindre les 1.200.000 têtes en période de transhumance, un effectif bovin d'environ 40.000.

Tiaret est aussi le berceau de l'élevage équin avec un effectif d'environ 9500 têtes et auquel elle consacre une reconnaissance inaltérable, par l'existence de la jumenterie ou le haras national Chaou-Chaoua qui constitue une source équine et un vecteur emblématique de fierté, dont l'ampleur est allée au-delà des frontières.

2.2 Population équine étudiée

2.2.1 Méthode d'échantillonnage

Dans cette étude, la méthode d'échantillonnage choisie a consisté à effectuer un dépistage aléatoire des équidés. En effet, Il est très difficile de donner une estimation moyenne du nombre d'équidé à étudier, car la taille de l'échantillon doit être calculée en fonction de la prévalence estimative retrouvée préalablement dans la région d'étude.

Pour décider de la taille de l'échantillon à étudier, deux facteurs ont été pris en considération : l'organisation du travail sur le terrain et les objectifs de l'enquête.

- **Calcul de la taille de l'échantillon de base**

Pour un modèle d'enquête fondé sur un échantillon aléatoire simple, le calcul de la taille requise d'échantillon s'effectue en appliquant la formule suivante (*Falissard*, 2005).

Formule: $$n = \frac{t^2 \times p\,(1-p)}{m^2}$$

Trois facteurs déterminent essentiellement la taille d'un l'échantillon :

- **p =** prévalence estimative de la variable étudiée
- **t =** niveau de confiance visé à 95% (valeur type de 1,96)
- **m =** marge d'erreur acceptable à 5% (valeur type de 0,05).

La prévalence « **p** » prise en considération dans cette étude est représentée par la prévalence la plus élevée retrouvée jusqu'à présent dans la littérature, qui était de 9.63% (p = 0.093) (Hans *et al.,* 2012).

- **Correction de la différence et prise en compte des risques d'erreur.**

La taille de l'échantillon a été multipliée par deux car un sur-échantillonnage est indispensable dans des zones à forte population équine, et un pourcentage de 5% a été rajouté à la taille de l'échantillon calculée afin de tenir compte des risques d'erreurs d'enregistrement (Falissard, 2005).

Un nombre total de 323 équidés, dont 293 chevaux et 30 ânes ont été ainsi échantillonné entre juin et octobre 2013 au niveau des 03 grandes daïras constituant la wilaya de Tiaret.

2.2.2 Examen clinique

Tous les équidés ont été soumis à un examen physique, afin de rechercher des signes cliniques évocateurs de l'AIE tels que : la perte de poids, l'anémie, l'œdème, les signes oculaires et d'autres manifestations.

Une fiche d'enquête a été établie pour chaque animal. Cette dernière comporte toutes les données susceptibles d'être exploitées dans cette étude. Elle permet de renseigner sur l'âge, le sexe, la race, la catégorie (cheva de course, de plaisance, de travail), le statut clinique de l'animal, son habitat, son style de vie, et son environnement (cf annexe II). L'âge des équidés a été déterminé à partir de leur dentition (cf annexe III).

Tableau 3: Renseignements sur les équidés prélevés

	Catégorie	Nombre	Total
Equidés	Arabe	108	323
	Barbe	95	
	Arabe-Barbe	77	
	P.S.Anglais	7	
	AN-Arabe	3	
	Breton	2	
	Poney	1	
	Ane	30	
Sexe	Male	132	323
	Femelle	191	
Age	≤ 5ans	162	323
	[5ans-10ans]	87	
	≥11 ans	74	

2.2.3 Prélèvement du matériel biologique

Chaque animal, est tenu par son propriétaire afin de subir une prise de sang. Cette dernière est pratiquée sur un animal debout, au niveau de la veine jugulaire un cou tendu. Une pression manuelle est effectuée au niveau de la base du cou avec une main, alors que l'autre main effectue la ponction veineuse à l'aide d'une aiguille 1.2 x 40 mm montée sur un porte-vacutainer (figure 15).

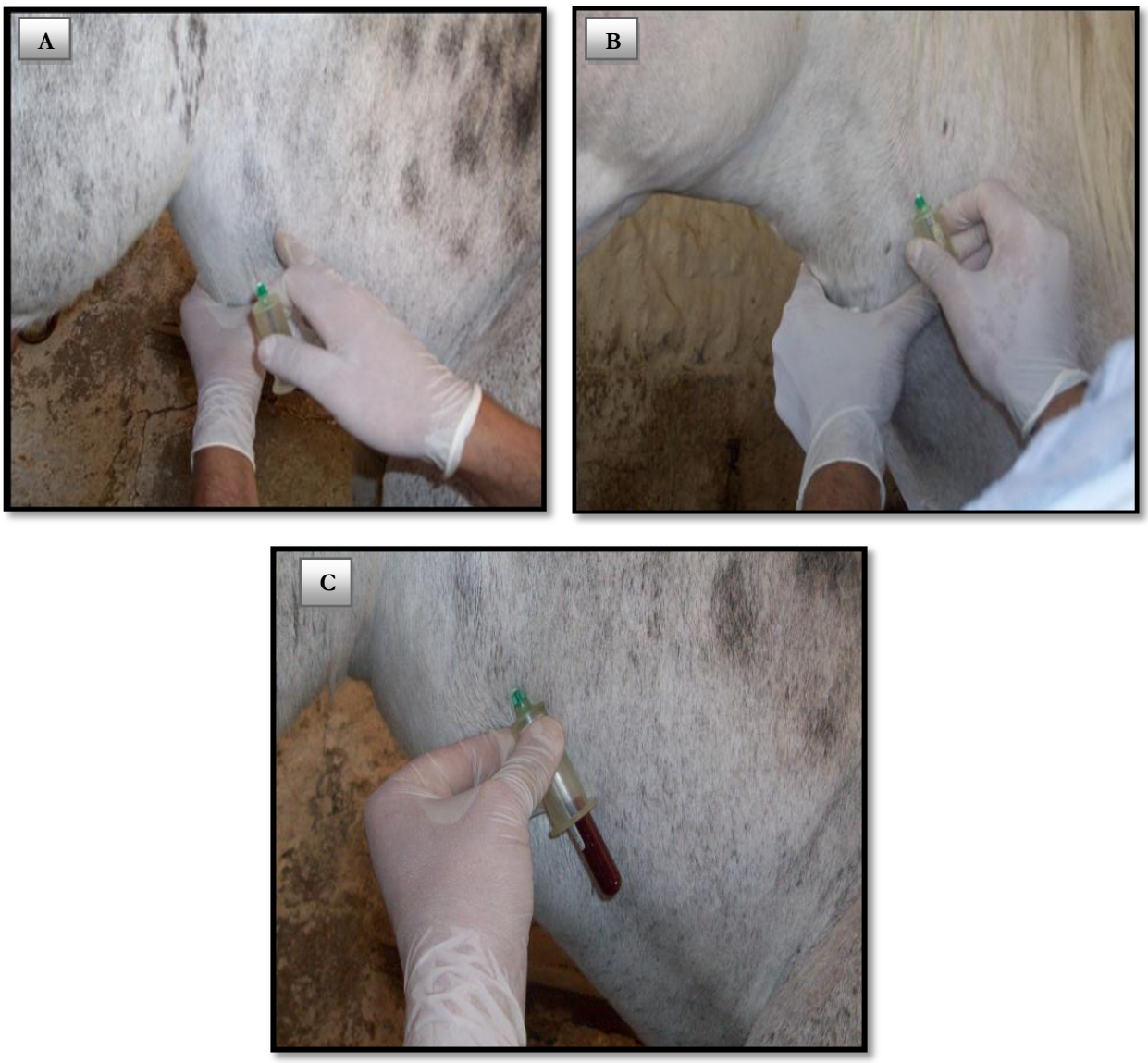


Figure 15 : (**A**) La perception tactile de la veine jugulaire. (**B**) Ponction veineuse à l'aide d'une aiguille 1.2 x 40 mm montée sur un porte-vacutainer. (**C**) Recueil du sang dans un tube sec stérile de 5 ml.

Le sang prélevé est recueilli dans un tube sec stérile de 5 ml. Il est ensuite centrifugé à 2500 tours/min pendant 10 minutes. Cependant, il peut être conservé à température ambiante, si celle-ci n'est pas trop élevée, pendant une ou deux heures jusqu'à ce qu'il soit parfaitement coagulé.

Le sérum obtenu est prélevé et conservé dans des tubes Eppendorf puis étiqueté et congelé à -20° C, jusqu'à l'utilisation pour tests sérologiques.

2.3 Test sérologique (ELISA)

Les échantillons de sérum collectés ont été analysés par une technique sérologique : Enzyme Linked Immunosorbent Assays (ELISA). Cette dernière a été utilisée comme technique de dépistage sur l'ensemble de l'échantillon (n = 323)

L'ELISA est une technique basée sur la réaction des anticorps du sérum à tester avec des antigènes solubles, directement fixés par adsorption sur un support en polystyrène (plaques à 96 puits).

Le test ELISA a été réalisé en utilisant un kit commercial ID Screen® (Equine Infectious Anemia Double Antigen/ID.VET innovative diagnostic. Montpellier. France) (figure 16). Ce Kit permet de détecter les anticorps anti-P26 dans les échantillons de sérum (cf annexe IV).

Figure 16: Kit commercial ID Screen® Equine Infectious Anemia Double Antigen/ID.VET innovative diagnostic. Montpellier. France.

Chaque sérum a été testé séparément dans un puit. Les antigènes s'associent aux anticorps anti-*EIAV*. Les immunoglobulines en excès sont éliminées lors d'une étape de lavage. Le conjugué enzymatique (p26 antigen-peroxydase. PO) s'associe spécifiquement aux complexes antigène-anticorps formés. Une deuxième étape de lavage élimine le conjugué en excès. L'ajout du substrat de

l'enzyme s'accompagne de l'apparition d'une substance classiquement chromogène. Une réaction positive correspond à une réaction colorée apparaissant après l'ajout du substrat révélateur (figure 17).

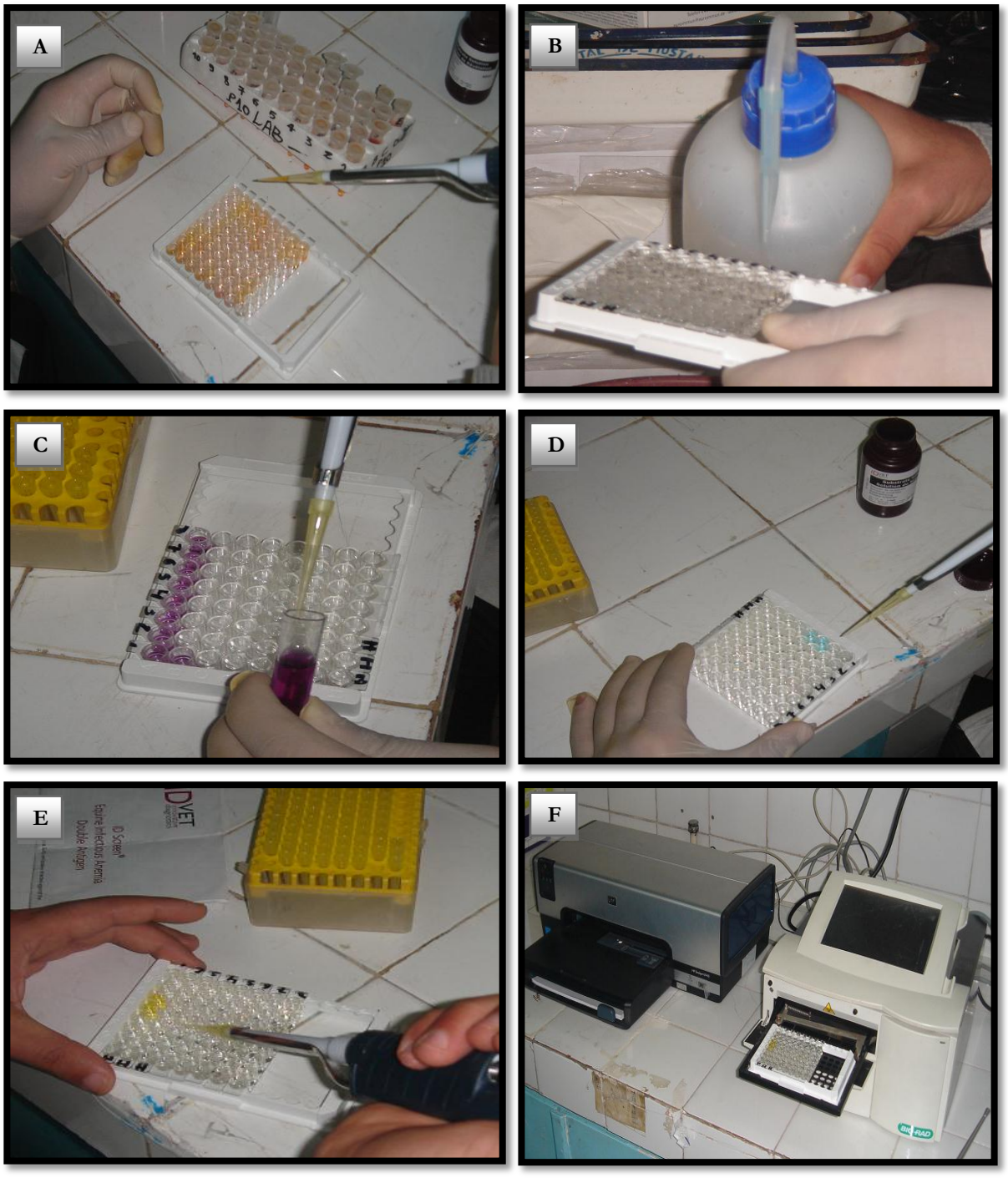


Figure 17 : (**A**) Distribution du tampon de dilution puis des sérums et des C+ et C-. (**B**) Lavage à la solution de lavage après incubation de 45±4min. (**C**) Distribution du conjugué et mise en incubation 30±3min. (**D**) Après lavage, ajout de la solution de révélation et mise en incubation 15±2min. (**E**) Distribution de la solution d'arrêt. (**F**) Mesure de la densité optique.

La réaction est quantifiée par la lecture au spectrophotomètre à 450 nm. Les résultats sont donnés en valeur de densité optique (DO). Le seuil de positivité est fixé à une valeur indice ≥ 0,6 (60%). L'interprétation des résultats donnée par le fabricant (ID.VET) en fonction de la valeur indice est : ≤ 0,50 : résultat négatif; entre 0,51 et 0,59 : résultat douteux; ≥ 0,60 : résultat positif. Deux sérums de chevaux ont été utilisés comme témoins pour valider le test. Un contrôle positif possédant une DO > 0,85 (85%) et l'autre négatif < 0,40.

Le grand avantage de cette technique est l'automatisation permettant une lecture facile et rapide d'un grand nombre d'échantillons.

3. Résultats

Entre juin et novembre 2013, 323 échantillons de sérums ont été prélevés et analysés. Les résultats obtenus par le test ELISA se sont révélés totalement négatifs pour tous les échantillons étudiés.

Les densités optiques obtenues varient entre 0,01 (0%) et 0,164 (23%) (cf annexe V). Malgré l'aspect douteux offert par la lecture visuelle après l'ajout de la solution de révélation (figure 18), les densités optiques cependant obtenues sont toutes < à 23%.

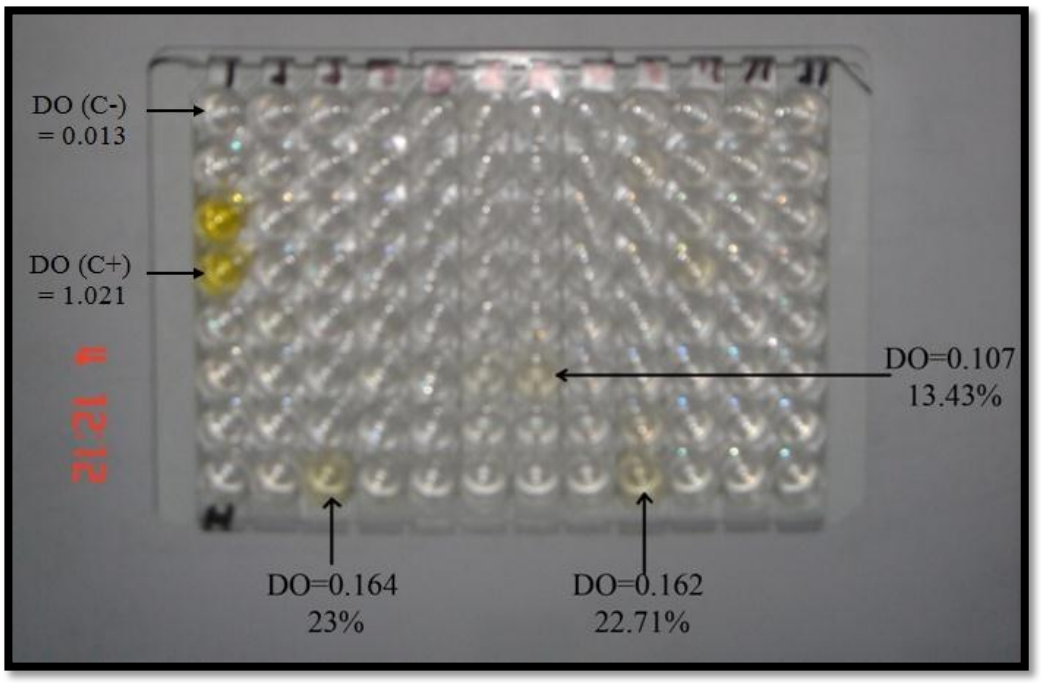


Figure 18 : Lecture visuelle de la plaque ELISA après l'ajout de la solution de révélation et les densités optiques obtenues après lecture au spectrophotomètre à 450 nm.

4. Discussion

La pathologie et plus particulièrement le domaine des maladies infectieuses, constitue un sujet d'intérêt majeur pour la filière équine de par l'importance économique et/ou internationale que certaines de ces maladies peuvent engendrer. Parmi ces dernières, l'anémie infectieuse des équidés (AIE) est une des plus importantes, compte tenu de son aspect dommageable et mortel. À ce jour, il n'existe aucun traitement ou remède pour un équidé infecté par l'AIE. Il n'y a également pas de vaccin qui protège contre le virus de cette pathologie.

Cependant, la mise en œuvre des mesures de contrôle strictes et les techniques de gestion appropriées peuvent réduire les chances d'infection des chevaux. Il est important de toujours se rappeler que la menace de la présence d'un équidé infecté par l'AIE pose un véritable problème à l'ensemble de la communauté équine. Le risque est peut-être inconnu, mais les conséquences peuvent être très lourdes.

L'AIE est une maladie réglementée dite « réputée contagieuse » (MRC) dont les conséquences économiques et sanitaires peuvent s'avérer très préjudiciables pour l'ensemble des professionnels de la filière équine. Par ailleurs, elle est inscrite sur la liste des vices rédhibitoires et des maladies à déclaration obligatoire (JO-16). Cette stricte réglementation fait que cette maladie est ou devrait être soumise à un dépistage et un contrôle rigoureux de la part des services vétérinaires concernés en vertu de la protection animale et des textes réglementés par le ministère de l'agriculture et du développement rural en Algérie.

4.1 Séroprévalence de l'AIE

La taille échantillonnée a été définie en considérant un seuil de confiance de 95% avec une marge d'erreur de 5% et une prévalence estimée à environ 10% (selon la formule sus-citée en 2.2.1 page 33), la taille de l'échantillon est alors de 139. Malgré qu'il n'y ait pas de différence significative entre la taille de l'échantillon effectué et l'échantillon théorique, la représentativité de l'échantillon étudié est discutable. Toutefois, pour la fiabilité de l'étude et plus de précision, étant donnée que la prévalence réelle est toujours supérieure à la prévalence apparente, la taille échantillonnée a été élargie à plus de 300 échantillons.

Cette étude a permis d'étudier pour la première fois en Algérie la séroprévalence de l'AIE parmi la population équine de la wilaya de Tiaret, pour qui l'élevage équin constitue une véritable tradition. Les équidés en général et plus particulièrement les chevaux jouent un rôle majeur dans la vie le

l'homme. Par conséquent, il est important de réduire le risque potentiel des pertes économiques engendrées par certaines maladies infectieuses, dont l'AIE.

Les résultats obtenus à l'aide du test ELISA sur 323 sérums montrent que les équidés dépistés étaient tous indemne d'AIE. La séroprévalence globale de l'infection équine à *EIAV* est non significative, sachant que toutes les conditions sont réunies quant à une éventuelle émergence de cette pathologie. A cet effet et afin de mieux comprendre la nature des résultats, plusieurs questions se sont posées d'elles mêmes : l'absence de résultats est-elle le témoin de la situation réelle de la région ? L'estimation de la taille échantillonnée de l'effectif équin est-elle assez précise ? Ce résultat négatif représente-t-il un atout intéressant pour l'avenir de la population équine ? Est-il extrapolable aux autres wilayates d'Algérie ? Et enfin les chevaux avec un résultat non significatif à un test ELISE-AIE sont-ils vraiment indemne de cette infection ?

Cette étude a montré que même si la population équine est très importante à Tiaret, le virus de l'AIE n'est pas répandu dans cette partie de l'Algérie. Les résultats non significatifs obtenus ne signifient pas forcement l'inexistence de la pathologie en Algérie. Ces résultats suggèrent que : (i) l'AIE n'est pas présente dans cette partie du pays, même si les vecteurs hématophages sont fortement abondants et représentent des facteurs de risque importants, (ii) les équidés prélevés n'ont pas encore développé de réponse immunitaire contre le virus EIAV, sachant qu'au cours de l'infection, l'hôte développe une réponse immunitaire capable de maintenir la virémie en dessous du seuil critique de pathogénicité, passant ainsi inaperçue et (iii) la méthode utilisée (ELISA-AIE) ne permet de dépister l'infection qu'au minimum 21 à 45 jours après inoculation.

Comparativement aux travaux réalisés dans d'autres pays méditerranéens, nos résultats sont similaires à ceux rapportés par *Albayrak et Ozon*, (2010) en Turquie, qui ont recueillies 8947 sérums d'équidés, dont 8769 chevaux et 178 ânes, dans le nord de la Turquie. Aucun des équidés prélevés ne présentaient des anticorps anti-*EIVA*. De même qu'en Albanie ou en Espagne où jusqu'à présent aucun foyer ne s'est officiellement déclaré (Yapkic et al , 2007; . Kinmizigul et al 2009 ; Albayrak et Ozan 2010).

L'absence d'études, de publications voire d'informations sur la situation réelle de l'AIE en Algérie ne permet pas d'évoquer une émergence de la maladie. Nombre d'équidés infectés sont porteurs asymptomatiques et constituent donc une source d'infection difficilement identifiable. Cette menace sanitaire semble cependant relative dans la mesure où : (i) la prévalence de l'AIE bien qu'inconnue est surement très faible, (ii) les épisodes observés tout autour du bassin méditerranéen

confirment la très faible transmissibilité de l'infection par voie vectorielle, tant que les équidés infectés ne présentent pas de symptômes cliniques (*Issel & Foil,* 1991).

De nombreuses études, dont celles d'*Issel*, (2007) ont montrées que la probabilité de transmission par les arthropodes dépend de différents facteurs :

~ (i) Le statut virémique du cheval donneur est prépondérant. Si le cheval est en phase aiguë avec un syndrome fébrile, la transmission expérimentale est obtenue avec beaucoup de succès (un cheval sur sept est infecté après une piqure unique). A *contrario*, chez un cheval infecté latent sans symptôme, le risque est nettement moins important, voire quasi nul.

~ (ii) L'espèce vectorielle : les genres *tabanus* sont les vecteurs les plus efficaces puisqu'ils transmettent un volume de sang important.

~ (iii) La densité de vecteur : assez logiquement, plus les vecteurs sont nombreux, plus le risque de transmission augmente. Cette densité est plus importante dans les régions chaudes et humides et à la belle saison.

~ (iv) La densité de population d'équidés et la distance qui sépare chaque individu. En effet, l'arthropode ne peut jouer son rôle de vecteur que dans le cas où son repas sanguin sur un cheval infecté est interrompu et qu'il le continue sur un cheval sain car la persistance de l'infectivité virale chez l'arthropode ne semble pas dépasser quatre heures.

~ (v) Les conditions climatiques favorables à l'activité et la survie des vecteurs potentiels de la maladie, ce qui constitue probablement un écosystème idéal pour leur reproduction.

~ (vi) D'autre part, l'hygiène et le milieu ou vit l'équidé, jouent un rôle majeur à la présence massive et intense du vecteur. En effet, même si l'AIE n'a point été retrouvée dans le site de notre étude, il n'empêche que ce dernier est un excellent gîte larvaire, et constitue le cadre biogéographique idéal au développement du cycle de vie de ces vecteurs. Composé essentiellement par du fumier, souillé par des matières organiques en décomposition (cf Annexe VI).

Néanmoins, même si la maladie n'a point été dépistée dans la région de Tiaret, et même si la transmission de l'infection semble un événement rare, l'importance de l'AIE ne doit pas être sous estimée au regard du potentiel de transmission cachée du lentivirus et des conséquences potentielles associées pour les professionnels de la filière (euthanasie des équidés infectés et restriction des mouvements).

Contrairement à l'Algérie ou aucune donnée ne renseigne sur la situation actuelle de la maladie, l'AIE a été rapportée dans presque tout les pays riverains de la Méditerranée, avec des prévalences relativement faibles, allant de 4.5% en Grèce à 0.12% en Palestine (*Dauphin et al.,* 2005 ; *Sublime,* 2006 ; *Hans et al.,* 2012). Le nombre de cas recensés de chevaux infectés par EIAV en Tunisie, au Maroc et en Lybie est relativement faible. Leur prévalence respectivement, est de 0.22%, 0.6% et 0.04% chez lez chevaux et un peu plus élevée chez l'âne et le mulet (voir Tableau 1, page 17).

L'AIE est également présente aux Etats Unies d'Amérique et en Asie (*Lew et al*., 1993; *Nagarajan & Simard,* 2001). Ces différences de prévalence observées sont principalement liées d'une part aux périodes d'investigation séparant les différentes études, car un écart de plus de 20 ans est observé entre les études réalisées (*Pearson & Knowles*, 1984 ; Camargo, 2012) et la présente étude) et d'autre part aux techniques de dépistage utilisées, car depuis 2006, les laboratoires de références internationales agréés pour le dépistage de l'AIE ont cessé d'utiliser le test de Coggins (OIE, 2012). L'ELISA est désormais le test sérologique utilisé en première intention.

4.2 Détection de l'infection

Au cours des enquêtes épidémiologiques, dépister une infection, notamment une virose telle que l'AIE, sujet de ce travail, nécessite une méthode permettant de dépister non seulement les cas symptomatiques, mais également les cas asymptomatiques. Les techniques sérologiques, permettant de mettre en évidence les témoins de l'infection, se prêtent très bien à ce genre d'enquête. Parmi les techniques les plus couramment utilisées dans le diagnostic sérologique, l'immuno-diffusion en gélose (ou test de Coggins) est considérée comme la méthode de référence recommandée par l'Organisation Mondiale de la Santé.

Un certain nombre de facteurs ont concouru au changement de méthode de dépistage. Ces dernières années, l'épreuve ELISA-AIE a été la plus utilisée par divers laboratoires à travers le monde (*Charles et al.,* 1993 ; *Issel et al.,* 2013). Le test ELISA fait intervenir l'antigène p26 du virus *EIVA.* Cet antigène est retrouvé à la surface du virus et est relativement spécifique au virus de l'AIE (*Alvarez et al.,* 2007b).

La rapidité du test ELISA par comparaison à l'épreuve de Coggins (IDG) a été un facteur important pour l'industrie équine. En effet, les résultats de l'analyse par ELISA sont prêts en quelques heures, tandis qu'avec l'IDG, il faut compter 48 heures. Les laboratoires agréés pour le dépistage de l'AIE aussi ont exprimé une préférence pour l'ELISA : cette méthode efficace permet d'analyser avec

exactitude d'importantes quantités d'échantillons de sérum dans un laps de temps relativement court (*Paré & Simard*, 2004 ; *Issel et al.,* 2013).

Ce test présente l'avantage d'être moins subjectif que l'IDG, et pourrait être tout à fait objectif si un lecteur ELISA est utilisé. Le statut d'anticorps d'un cheval peut être établi en 2 heures en comparant la couleur produite par l'échantillon d'essai à celle produite par un échantillon faiblement positif (*Matsushita et al.,* 1989). Cependant, comme l'a montré la présente étude, la couleur produite ne reflète pas forcement la densité optique obtenu. Un échantillon pourrait prendre une couleur relativement faible lorsqu'il est douteux voire négatif. Ceci est du au faible taux d'anticorps à l'antigène p26 dans l'échantillon. En effet, le test ELISA-AIE met en évidence principalement les immunoglobulines M (et un peu les IgG), et celles-ci ne cessent de diminuer au cours du temps après une infection. Il est donc possible que le test ne détecte pas tous les animaux infectés chroniques, dont le taux d'immunoglobulines M est très faible (*Soutullo et al.,* 2001).

Suivant le protocole actuel, lorsqu'un laboratoire agréé pour le dépistage de l'AIE déclare un résultat négatif à une épreuve ELISA-AIE, le cheval est considéré comme négatif, et aucune autre analyse n'est nécessaire. Toutefois, lorsqu'un laboratoire obtient un résultat positif ou atypique dans une épreuve ELISA-AIE, le laboratoire déclare l'épreuve ELISA non concluante et indique qu'il faut faire confirmer le résultat par l'IDG (*OIE,* 2013).

L'IDG et l'ELISA sont toutes deux des méthodes simples, précises et fiables pour la mise en évidence d'une infection par le virus de l'AIE. Avec l'ELISA, la détection d'anticorps est possible un peu plus tôt et à des titres plus faibles qu'avec l'IDG, mais l'ELISA peut occasionnellement donner de faux résultats positifs. Par conséquent, l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) estime qu'un résultat positif à l'ELISA exige une confirmation au moyen d'une épreuve IDG (OIE, 2013).

4.3 Faut-il avoir peur de l'émergence l'AIE ?

Le nombre de cas recensés de chevaux infectés par *EIAV* est relativement faible. Cependant, il est à souligner que malgré le fait que cette infection soit une maladie réputée contagieuse et à déclaration obligatoire, peu ou pas de test de dépistage sont réalisés par rapport au nombre d'équidés recensés dans la région de Tiaret et au nombre de transaction réalisées. Si l'importance économique est donc faible en Algérie, au moins en apparence, la détection d'un foyer peut, dans certains cas prendre des proportions insoupçonnées compte tenu du devenir des équidés infectés qui doivent être euthanasiés. Par ailleurs, dans la quasi-totalité des foyers observés ces dernières années, principalement en Europe,

il n'a jamais été possible d'expliquer formellement la genèse de l'épisode malgré les nombreuses enquêtes diligentées par bon nombre d'auteurs (*Cadoré et al.,* 2007 ; *Hans et al.,* 2012 ; *Issel et al.,* 2013).

D'une part, les mouvements d'équidés, nombreux et fréquents, constituent une spécificité de cette espèce par rapport aux autres animaux de rente, ce qui fait que les enquêtes épidémiologiques réalisées sont complexes, larges et non spécifiques. D'autre part, les foyers rencontrés, ont souligné les difficultés de gestion liées notamment au statut particulier du cheval, allant de l'animal de compagnie à l'animal de rente, en passant par l'animal de sport, ou de travail. Ces différents statuts (qui peuvent changer au cours de la vie du même animal) déterminent autant de filières différentes largement interconnectées, mais dont les intérêts ne sont pas toujours comparables *(Cadoré et al.,* 2007). Ces filières présentent en effet des structurations et des niveaux de professionnalisation très variés et une sensibilisation à certaines exigences réglementaires très différentes, dont le dépistage de certaines maladies infectieuses.

A l'analyse des résultats obtenus, il apparait que la situation de l'AIE en Algérie, plus particulièrement dans la wilaya de Tiaret est difficile à faire évoluer. La filière équine est une filière peu organisée dans laquelle l'Etat a une faible implication. Cependant, même si l'Etat s'y intéresse, il n'est pas décidé à y investir beaucoup d'argent. De nombreux professionnels sont tiraillés par des contraintes financières et ils ne voient pas d'intérêt à améliorer leur situation sanitaire car ils ne perçoivent aucun intérêt économique, hormis bien sûr le milieu des courses.

L'AIE est reconnue comme une maladie locale à évolution lente. Cependant avec l'évolution des moyens de transports, des foyers peuvent maintenant apparaître à grande distance de foyer initial. Le respect des mesures sanitaires est donc très important. Toutefois, cette maladie équine répond à une série de critères dont le principal est la capacité à « se propager au-delà des frontières » ou encore la possibilité d'une « transmission rapide au sein de populations n'ayant jamais été en contact avec l'agent pathogène considéré » ou « la capacité de cette maladie à se transmettre à l'être humain » (OIE, 2013).

L'Algérie compte parmi les pays les plus exposés, car l'AIE est une maladie infectieuse vectorielle qui évolue au vu des changements climatiques, environnementaux et écologiques d'une part et d'autre part aux conditions sanitaires et à la dégradation de l'environnement, contribuant ainsi à la création d'un milieu favorable à l'émergence et à la multiplication des gites d'insecte, vecteurs de la maladie et responsables de l'accroissement progressif de la transmission.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

CONCLUSION

L'anémie infectieuse des équidés est une maladie d'actualité. Le nombre de foyers déclarés ces dernières années est faible, mais beaucoup d'éléments laissent penser que la prévalence réelle pourrait être en réalité supérieure.

L'analyse des perceptions des acteurs de la filière équine montre que l'AIE est cependant mal connue et très rarement recherchée sur le terrain. Pourtant, les conséquences de l'apparition d'un foyer peuvent être très lourdes sur le plan économique.

Le fonctionnement actuel de la filière et les dispositions de l'État ne permettent pas aujourd'hui d'envisager une évolution règlementaire en vue d'un dépistage rigoureux de l'AIE. Cependant, plusieurs éléments pourraient être mis en place pour augmenter la connaissance épidémiologique de l'AIE et sensibiliser les acteurs de la filière.

Ainsi, même si l'incidence et la prévalence de cette infection sont faibles dans la majorité des pays, elles n'en demeurent pas moins importantes tant sur les plans épidémiologique, médical et économique que scientifique. Les différents cas récemment décrits en Europe doivent inciter à demeurer vigilants sur la circulation de ce virus.

Il est toujours difficile de comprendre complètement la potentielle apparition d'un nouveau foyer, car même si l'infection naturelle peut, après un ou plusieurs accès typho-anémiques, demeurer asymptomatique, elle peut être dans certains cas très débilitante et entraîner la mort de l'animal (*Issel et al.*, 2013). Lorsqu'un foyer est identifié, les mesures de contrôle sanitaire sont rigoureuses et tout animal séropositif doit être abattu (*Tuffert*, 2011).

Cependant, les actions à entreprendre en cas d'émergence pourraient être les suivantes :

~ Le renforcement des dépistages volontaires en passant par les vétérinaires. Il faudrait alors les encourager à dépister plus souvent les chevaux en cas de tableau clinique évocateur, à l'introduction dans un effectif ou lors de transaction. Cibler les recherches sur les chevaux présentant des signes cliniques semble vraiment le point-clé, puisque c'est quand un cheval présente des signes cliniques qu'il présente le plus de risque de transmission de la maladie à d'autres chevaux.

~ Une communication avec les acteurs de la filière sur l'éventuelle existence ou l'introduction de l'AIE à partir d'un pays voisin infecté et la présence de cas en Europe ces dernières années,

avec la prise de conscience de ce que l'AIE implique, notamment pour les inciter à tester les chevaux lors de l'achat.

~ L'amélioration des connaissances sur la situation épidémiologique réelle de l'infection par des dépistages sur des populations d'équidés jugées à risque. Si les investigations épidémiologiques mettent en évidence des foyers, ils pourraient être utilisés pour justifier des dépistages plus réguliers.

Il serait judicieux, afin de mieux comprendre la situation épidémiologique de l'AIE ou toute autre maladie chez les équidés, principalement vectorielles, d'envisager la mise en place d'une épidémio-surveillance des maladies vectorielles chez les équidés en Algérie.

L'objectif du système de surveillance devrait être d'identifier des populations à risque et des facteurs de risque de l'émergence, en vue de fournir une alerte précoce et de permettre la mise en œuvre de mesures de contrôle et de prévention par les autorités sanitaires. Pour les maladies vectorielles, ce type de démarche suppose de recueillir des données environnementales permettant de mieux connaître les biotopes et les conditions climatiques favorables à l'émergence de populations de vecteurs. La biologie, la physiologie, la reproduction, et donc l'abondance des insectes vecteurs, sont en effet très dépendantes de l'environnement. Le climat joue un rôle important dans l'introduction ou la dispersion d'une maladie vectorielle (*Rogers & Randolph*, 2006). Les vecteurs sont généralement extrêmement sensibles à l'humidité et à la température tout au long de leur cycle de vie.

Le sens dans lequel le climat fait varier l'intensité de la transmission n'est pas toujours facile à prévoir. Un réchauffement climatique global devrait entraîner une augmentation de la transmission par augmentation de la fréquence des piqûres.

Le praticien en médecine équine reste le premier maillon de cette chaîne de surveillance. Sa motivation doit être entretenue par des actions régulières de retour de l'information. Il doit rester attentif à l'évolution des maladies infectieuses et à la possibilité d'émergence de nouvelles maladies chez les équidés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABDALA, N., REYES, R., CARNEY, J. M., & HEIMER, R. 2000. Survival of HIV-1 in syringes: Effects of temperature during storage. *Substance use and Misuse, 35*(10), 1369-1383.

ALVAREZ I, GUTIERREZ G, OSTLUND E, BARRANDEGUY M, TRONO K. 2007a. Western Blot Assay Using Recombinant p26 Antigen for Detection of Equine Infectious Anemia Virus-Specific Antibodies. Clin. Vaccine. Immunol. 14 (12): 1646.

ALVAREZ I, GUTIERREZ G, VISSANI A, RODRIGUEZ S, RARRANDEGUY M, TRONO K. 2007b. Standardization and validation of an agar gel immunidiffusion test for the diagnosis of equine infectious anemia using a recombinant p26 antigen. *Veterinary Microbiology*. 121 : 344-351.

AMORY, H & PITEL, P.H. 2007. Le syndrome Piro-Like: Diagnostic differential du syndrome Piro-Like sur la base des symptoms. Proceeding of the annual Meeting of the Association Vétérinaire Equine Française- Deauville.248-265.

ARCHAMBAULT D, WANG Z, LACAL JC, GAZIT A, YANIV A, DAHLBERG JE, TRONICKl SR. 1989. Development of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Equine Infectious Anemia Virus Detection Using Recombinant Pr55gag. *Journal of Clinical Microbiology*. p. 1167-1173.

BUGE, S. 2008. Les diptères parasites du cheval: etude de l'efficacité de la deltamethrine vis-à-vis de l'infestation par les mouches des chevaux. Univ. Claude-Bernard-Lyon I. 156 p

CADORE, J.L., LEROUX, C & MORNEX, J. F. 2007. Nouveaux regards sur l'anémie infectieuse des équidés. Bull. Soc. Vét. Prat de France. Pages 9-14.

CAMARGO, F.C. 2012. Equine Infectious Anemia. Cooperative Extension Service. University Of Kentucky College Of Agriculture, Lexington, Ky, 40546 ASC-181

CARVALHO, M., DERSE, D. 1993. The PU.1/Spi-1 proto-oncogene is a transcriptional regulator of a lentivirus promoter. *J Virol.* 67 : 3885-90.

CAUQUIL, L. 2011. Mise en place d'un élevage de stomoxys calcitrans et de stomoxys indicus et étude des sites de développement larvaire en Thailande. Thèse d'exercice, Medecine Vétérinaire. ENVT. 77p.

CHARLES, J., ISSEL, R., COOK, F. 1993. A review of techniques for the serologic diagnostis of equine infectious anemia. J. Vet. Diagn. Invest 5: 137-141.

CHARMAN, H.P., BLADEN, S & COGGINS, L. 1976. Equine Infectious Anemia Virus: Evidence Favoring Classification as a Lentivirus.JOURNAL OF VIROLOGY, Vol. 19, No. 2 p. 1073-1079

CHEN, C., LI, F & MONTELARO, R.C. 2001. Functional roles of equine infectious anemia virus Gag p9 in viral budding and infection. *J Virol.* 75 : 9762-70.

CHEN, C., WEISZ, O.A., STOLZ, D.B., WATKINS, S.C & MONTELARO, R.C. 2004. Differential effects of actin cytoskeleton dynamics on equine infectious anemia virus particle production. *J Virol.* 78 : 882-91.

CHUNG, H & DERSE, D. 2001. Binding sites for Rev and ASF/SF2 map to a 55-nucleotide purine-rich exonic element in equine infectious anemia virus RNA. *J Biol Chem.* 276 : 18960-7.

COGGINS, L & NORCROSS, N.L. 1970. Immunodiffusion reaction in equine infectious anemia. Cornell Vet. 60(2): 330-335.

COLE KS, MURPHEY-CORB M, NARAYAN O, JOAG SV, SHAW GM, MONTELARO RC. 1998. Common themes of antibody maturation to simian immunodeficiency virus, simian-human immunodeficiency virus, and human immunodeficiency virus type 1 infections. *J Virol* 1998 ; 72 : 7852-9.

COLE KS, ROWLES JL, JAGERSKI BA, 1997. Evolution of envelope specific antibody responses in monkeys experimentally infected or immunized with simian immunodeficiency virus and its association with the development of protective immunity. *J Virol.* 71 : 5069-79.

COOK SJ, COOK RF, MONTELARO RC, ISSEL CJ. 2001. Differential responses of *Equus caballus* and *Equus asinus* to infection with two pathogenic strains of equine infectious anemia virus.Vet Microbiol. 79(2):93-109.

CRAIGO JK, LI F, STECKBEC JD, DURKIN S, HOWE L, COOK SJ. 2005. Discerning an effective balance between equine infectious anemia virus attenuation and vaccine efficacy. *J. Virol.,***79**, 2666-77.

DALTON, A. J., U. I HEINE, AND J. L. MELNICK. 1975. Symposium: characterization of *oncornaviruses* and related viruses-a report. J. Natl. Cancer Inst. 55:941-943.

DAUPHIN, G., CORDONNIER, N., ZIANTARA, S. 2005. Actualités sur l'anémie infectieuse des équidés. *Nouveau Prat. Equin*. 5, 61-62

DOS REIS JKP, MELO LM, REZENDE MR, LEITE RC. 1994. Use of an ELISA test in the eradication of an equine infectious aneamia focus. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* 26, 65-68.

DRUCE, J. D., JARDINE, D., LOCARNINI, S. A., & BIRCH, C. J. (1995). Susceptibility of HIV to inactivation by disinfectants and ultraviolet light. *Journal of Hospital Infection, 30*(3), 167-180.

FOIL LD, ADAMS WV, MCMANUS JM, ISSEL CJ. 1987. Bloodmeal residues on mouthparts of Tabanus fuscicostatus (Diptera : Tabanidae) and the potential for mechanical transmission of pathogens. *J Med Entomol* ; 24 : 613-6.

FOIL, L.D., MEEK, C.L., ADAMS, M.S & ISSEL, C.J. 1983. Mechanical transmission of equine infectious anemia virus by deer flies (*Chrysops Flavidus*) and stable flies (*Stomoxys calcitrans*). *Am. J. Vet. Res.* 155-156

FOIL, L.D., MEEK, C.L., ADAMS,W.V., ISSEL, C.J. 1983. Mechanical transmission of equine infectious anemia virus by deer flies (Chrysops flavidus) and stable flies (Stomoxys calcitrans). Am J Vet Res. 44(1): 155-156.

GONDA, M. A., F. WONG-STAAL, R. C. GALLO, J. E. CLEMENTS, O. NARAYAN, AND R. V. GILDEN. 1985. Sequence homology and morphologic similarity of HTLV-III and visna virus, a pathogenic lentivirus. *Science* 227:173-177.

HAMMOND SA, COOK SJ, LICHTENSTEIN DL, ISSEL CJ, MONTELARO RC. 1997. Maturation of the cellular and humoral immune responses to persistent infection in horses by equine infectious anemia virus is a complex and lengthy process. *J Virol* 71 : 3840-52.

HAMMOND, S.A., LI, F., MCKEON, B.M. SR, COOK, S.J., ISSEL, C.J., MONTELARO, R.C. 2000. Immune responses and viral replication in long-term inapparent carrier ponies inoculated with equine infectious anemia virus. J Virol. 74(13):5968-5981.

HANS A., MORILLAND E., LECOUTURIER F., LAUGIER C., ZIENTARA S., CHEMEL A., COULIBALY E., PONÇON N. 2010. Anémie infectieuse des équidés : bilan de l'épisode varois de 2009. *Bulletin épidémiologique*.

HANS, A., PONÇON, N. & ZIENTARA, S. 2012. Situation épidémiologique de l'Anémie Infectieuse des équidés en France et en Europe de 1994 à 2011. Bull. Acad. Vét. Tome 165- N°1. Pages 27-34.

HARROLD, S.M, COOK, S.J, COOK, R.F, RUSHLOW, K.E, ISSEL, C.J & MONTELARO, R.C. 2000. Tissue sites of persistent infection and active replication of equine infectious anemia virus during acute disease and asymptomatic infection in experimentally infected equids. *J Virol* ; 74 : 3112-21.

HAWKINS, J.A., ADAMS, W.V., COOK, L., WILSON, B.H., ROTH, E.E. 1973. Role of horse fly (*Tabanus fuscicostatus* Hine) and stable fly (*Stomoxys calcitrans* L.) in transmission of equine infectious anemia to ponies in Louisiana. Am J Vet Res. 34(12):1583-1586.

HILL, C.A., MACDONALD, J.F. 2010. Horse and deer flies: biology and public health risk. *Purdue Extension.* E-246-W

HIMEUR, D. 1975. Incidence au Maroc de l'anémie infectieuse,de la rhinopneumonie, de l'artérite á virus des équides: enquête épidémiologique : prophylaxie. Doct. Vet. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. 69 pages

ISHII, S & ISHITANI R. 1975. Equine Infectious Anemia. Adv. Vet. Sci. Comp. Med. Vol 19. Pages 195-222.

ISSEL C. J., SCICLUNA M. T., COOK S. J., COOK R. F., CAPRIOLI A., RICCI I., ROSONE F., CRAIGO J. K., MONTELARO R. C., AUTORINO G. L. 2013. Challenges and proposed solutions for more accurate serological diagnosis of equine infectious anaemia. *Veterinary Record.* 213-216.

ISSEL CJ, FOIL LD. 1991. Transmission of retroviruses by arthropods. *Annual Review of Entomology*, 36 : 355-381.

ISSEL CJ, HOROHOV DW, LEA DF, ADAMS WV, HAGIUS SD, MCMANUS JM. 1992. Efficacy of inactivated whole virus and subunit vaccines in preventing infection and disease caused by equine infectious anemia virus. *J Virol.,* **66**, 3398-408.

ISSEL CJ, SCICLUNA M. T., COOK S. J., COOK R. F., CAPRIOLI A., RICCI I., ROSONE F., CRAIGO J. K., MONTELARO R. C., AUTORINO G. L. 2013. Challenges and proposed solutions for more accurate serological diagnosis of equine infectious anaemia. *Veterinary Record.* doi: 10.1136/vr-2012-100735.

ISSEL, C.J., ADAMS, W.V. JR, MEEK, L., OCHOA, R. 1982. Transmission of equine infectious anemia virus from horses without clinical signs of disease. J Am Vet Med Assoc. 180(3):272-275.

KNIPE, D., HOWLEY, PM. 2007. *Fundamental Virology*.

LEROUX, C., CADORE, J.L & MONTELARO, R.C. 2004 Equine Infectious AnemiaVirus (EIAV): what has HIV's country cousin got to tell us? *Vet Res* ; 35 : 485-512.

LEROUX, C., CRAIGO, J.K., ISSEL, C.J., MONTELARO, R.C. 2001. Equine infectious anemia virus genomic evolution in progressor and non progressor ponies. J Virol.75(10) :4570-4583

LEROUX, C., MONTELARO, R.C., SUBLIMEC, E & CADORE, L.L. 2005. EIAV (*equine infectious anemia virus*) : mieux comprendre la pathogenèse des infections lentivirales. *Virologie. 9 : 289-300.*

LI, F., CRAIGO, J. K., HOWE, L., STECKBECK, J. D., COOK, S., ISSEL. C. 2003. A live attenuated equine infectious anemia virus proviral vaccine with a modified S2 gene provides protection from detectable infection by intravenous virulent virus challenge of experimentally inoculated horses. *Journal of Virology*, **77**(13), 7244-7253.

LIGNE, M. 1843. Mémoire et observations sur une maladie de sang sous le nom d'Anémie, hydrohémie, cachexie aqueuse du cheval. Rec. Méd. Vét. Prat. 20, 30-45.

MALLIGA M. NAGARAJA N, SIMARD C. 2001. Detection of horses infected naturally with equine infectious anemia virus by nested polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods* 94; 97–109

MATSUSHITA T, HESTERBERG LK, PORTER JP. 1989, Comparison of diagnostic tests for the detection of equine infectious anemia antibody. J Vet Diagn Invest 1:50-52.

MCGUIRE T.C., CRAWFORD T.B. & HENSON J.B. 1972. - Equine infectious anemia: detection of infectious virus antibody complexes in the serum. *Immunol. Commun.,* 1,545-551

MEALEY RH, ZHANG B, LEIB SR, LITTKE MH, MCGUIRE TC. 2003. Epitope specificity is critical for high and moderate avidity cytotoxic T lymphocytes associated with control of viral load and clinical disease in horses with equine infectious anemia virus. *Virology.* 313 : 537-52.

MIEGEVILLE, J.J. 1925. Contribution à l'étude de l'anémie infectieuse équine au Maroc : l'Anémie infectieuse dans la région de Beni Mellal, ses différences avec la maladie décrite en France, par Vallée et Carré. Thèse. Doct. Vet. Toulouse. 102 pages.

MORE SJ, AZNAR I, MYERS T, LEADON DP, CLEGG A. 2008. An outbreak of equine infectious anaemia in Ireland during 2006: the modes of transmission and spread in the Kildare cluster. Equine Vet J. 40(7):709-11.

NARAYAN O. & CLEMENTS J.E. 1989. - Biology and pathogenesis of lentiviruses. *J. gen. Virol.,* 70, 1617-1639.

OAKS, J.L, ULIBARRI, C & CRAWFORD, T.B. 1999. Endothelial cell infection in vivo by equine infectious anaemia virus. *J Gen Virol.* 80 : 2393-7.

OIE. 2008 OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, p 1343
ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE ANIMALE (OIE). 2012. Anémie Infectieuse des équidés Chapitre 2.5.6. http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/Chap%2.

PARÉ, J & SIMARD, C. 2004. Comparaison of commercial enzyme-linked immunosorbent assays ans agar gel immunodiffusion tests for the serodignosis of equine infectious anemia. Can. J. Vet. Resear 68: 254-258.

PEARSON JE, GIPSON CA: 1988, Standardization of equine infectious anemia immunodiffusion and CELISA tests and their application to control of the disease in the United States. Equine Vet Science 8:60-61

PEARSON, J.E. AND KNOWLES, R.C., 1984. Standardization of the equine infectious anaemia immunodiffusion test and its application to the control of the disease in the United States, Journal of the American Veterinary Medical Association, 184, 298-301

PITEL PH, AMORY H, SANDERSEN C, LEGRAND L, FORTIER G, CADORÉ JL. 2009. Diagnostic et thèrapeutique des anémies d'origine infectieuses chez le cheval. Le Nouveau Praticien Vétérinaire. Equine. Vol 5/N°19 ; 23-28.

RAABE ML, ISSEL CJ, COOK SJ, COOK RF, WOODSON B, MONTELARO R. 1998. Immunization with a recombinant envelope protein (rgp90) of EIAV produces a spectrum of vaccine efficacy ranging from lack of clinical disease to severe enhancement. *Virology,* **245** 151-62.

ROSSMANITH, W., HORVATH E. 1989. A western blot for the serological diagnosis of equine infectious anemia. J. Vet. Med. B 36:49–56.

SALEM A ; 2012 Stomoxys calcitrans (L. 1758) : morphologie, biologie, rôle vecteur et moyens de lutte. Thèse de Doctorat de l'Universite de Toulouse. 137p.

SELLON DC, MEALEY R. 2007. Equine infectious anemia. *In* : Equine infectious disease. Ed Saunders Elsevier, 213-219

SELLON, D.C, PERRY, S.T, COGGINS, L & FULLER, F.J. 1992. Wild-type equine infectious anemia virus replicates in vivo predominantly in tissue macrophages, not in peripheral blood monocytes. *J Virol* ; 66 : 5906-13.

SELLON, D.C. 1993. Equine infectious anemia. Vet Clinics of North America: Equine Practice. Vol 9, Num 2. Pp 321-337.

SENDEL, T. 2010. Anémie Infectieuses des Equidés. Fiche technique N° 10-084. Novembre 2010. 02 pages

SENTSUI H. & KONO Y. 1987a. - Phagocytosis of horse erythrocytes treated with equine infectious anemia virus by cultivated horse leukocytes. *Arch. Virol.,* 95, 67-77

SENTSUI H. & KONO Y. 1987b. - Complement mediated hemolysis of horse erythrocytes treated with equine infectious anemia virus by cultivated horse leukocytes. *Arch. Virol.,* 95, 67-77.

SHANE BS, ISSEL CJ, MONTELARO RC. 1984. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of equine infectious anemia virus P26 antigen and antibody. *Journal of Clinical Microbiology*. 19, 351-355.

SHEN T, LIANG H, TONG X, FAN X, HE X, MA Y *et al. (*2006). Amino acid mutations of the infectious clone from Chinese EIAV attenuated vaccine resulted in reversion of virulence. *Vaccine*, **24**, 738-749.

SIGIURA T, MATSUMURA T, FUKUNAGA Y. 1986. Diagnosis of infectious anemia by Enzyme-linked immunosorbent assay with viral antigen purified P26. *Bulletin of Equine Research Institute*. 23, 42-48.

SOUTULLO A, VERWIMP V, RIVEROS M, PAULI R, TONARELLI G. 2001. Design and validation of an ELISA for equine infectious anemia (EIA) diagnosis using synthetic peptides. *Vet Microbiol* 79: 111–121.

SUBLIME, E. 2006. EIVA (*Equine Infectious Anemia Virus*) : à propos de cas récents en France. Thèse Doct. Vét. Lyon. 127 pages.

SUZUKI T, UEDA S, SAMEJIMA T. 1982. Enzyme-linked immunosorbent assay FOR Diagnosis of infectious anemia. *Veterinary Microbiology*. 7, 307-315.

THIRY, E. 2006. Maladies Virales Generalisees: virologie clinique des equides. Collection virologique clinique : le point veterinaire. 125-129.
Tjotta, E., Hungnes, O., & Grinde, B. (1991). Survival of HIV-1 activity after disinfection, temperature and pH changes, or drying. *Journal of Medical Virology, 35*(4), 223-227.

TOLEDO PIZA A. ADRIANA S, PEREIRA AR, TERRERAN MT, TANURI A, MOZZER O, BRANDAO PE, RICHTZENHAIN JL. 2007. Serodiagnosis of equine infectious anemia by agar gel immunodiffusion and ELISA using a recombinant p26 viral protein expressed in *Escherichia coli* as antigen. *Preventive Veterinary Medicine*. 78; 239–245

TOMA, B., ELOIT, M & SAVEY, M. 1990. Les maladies animales à retrovirus : Leucose Bovine enzootique, Anémie Infectieuse des Equidés, Arthrite/Encéphalite Caprine. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.,* **9** (4), 983-1037

TUFFERT, M. 2011. Bilan épidémiologique et réglementaire de l'Anémie infectieuse des équidés en France, perspectives d'évolution. Thèse Doctorat Vétérinaire. ENV d'Alfort. 137 pages.

VALLEE H & CARRE H. 1904. Sur la nature infectieuse de l'Anémie du cheval. Compt. Rend. Acad. Sci. 139, 1239-1241

ZUMPT F. 1973. The Stomoxyine biting flies of the world. Taxonomy, biology, economic importance and control measures. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 175pp.

ANNEXES

Vu le décret présidentiel n° 05-161 du 22 Rabie El Aouel 1426 correspondant au 1er mai 2005 portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 88-252 du 31 décembre 1988, complété, fixant les conditions d'exercice à titre privé des activités de médecine vétérinaire et de chirurgie des animaux ;

Vu le décret exécutif n° 90-12 du 1er janvier 1990, modifié et complété, fixant les attributions du ministre de l'agriculture ;

Vu le décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété, fixant la liste des maladies animales à déclaration obligatoire et les mesures générales qui leur sont applicables ;

Décrète :

Article 1er. — Le présent décret a pour objet de modifier et compléter les dispositions du décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété, susvisé.

Art. 2. — Les dispositions de *l'article 2* du décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété, susvisé, sont modifiées et complétées comme suit :

"*Art. 2.* — Les maladies animales à déclaration obligatoire sont les suivantes :

— La fièvre aphteuse ;
— La peste bovine ;
— La peste équine ;
— La péripneumonie contagieuse bovine ;
— La rage chez toutes les espèces ;
— La clavelée et la variole caprine ;
— La maladie de Newcastle ;
— L'infleuza aviaire ;
— La fièvre charbonneuse chez toutes les espèces de mammifères ;
— La fièvre catarrhale du mouton ;
— La tuberculose bovine ;
— La brucellose dans les espèces bovine, ovine, caprine et cameline ;
— L'anémie infectieuse des équidés ;
— La métrite contagieuse équine ;
— La dourine ;
— La morve ;
— La rhinotrachéite infectieuse bovine ;
— La leucose bovine enzootique ;
— La myiase à *Cochliomyia Hominivorax* ;
— La myiase à *Chrysomyia Bezziana ;*
— La campylobactériose génitale bovine ;
— La trichomonose bovine ;
— L'échinococcose/hydatidose ;
— La cysticercose ;
— Le charbon symptomatique ;
— L'avortement enzootique des brebis ;
— La gale des équidés ;
— La paratuberculose ;
— La fièvre Q ;
— La leptospirose bovine ;
— La bronchite infectieuse aviaire ;
— La maladie de Marek ;
— Le choléra aviaire ;
— La bursite infectieuse (maladie de Gumboro) ;
— La variole aviaire ;
— L'ornithose/psittacose ;
— les leucoses aviaires ;
— La myxomatose ;
— La maladie hémorragique virale du lapin ;
— La tularémie ;
— La varroase des abeilles ;
— La loque européenne ;
— La loque américaine ;
— La nosémose ;
— L'acariose des abeilles (acarapisose) ;
— L'infestation des abeilles par l'acarien *Tropilaelaps* ;
— L'infestation de la ruche par le coléoptère Aethina Tumida ou " petit scarabée de la ruche " ;
— La variole cameline ;
— La trypanosomose des camelins à T. evansi (surra) ;
— la trypanosomose (transmise par la mouche tsé-tsé) ;
— La leishmaniose ;
— La peste des petits ruminants ;
— L'encéphalopathie spongiforme des bovins ;
— La fièvre de la vallée du Rift ;
— Les Salmonelloses aviaires à *Salmonella Enteritidis, Typhimurium, Arizona, Dublin, Paratyphi et Pullorum Gallinarum* ;
— La tremblante ;
— Les encéphalites équines sous toutes leurs formes ;
— Les salmonelloses bovines ;
— La listériose ;
— La rhinopneumonie des équidés ;
— La maedi-Visna ;
— La piroplasmose ;
— La babésiose bovine ;
— L'encéphalomyélite aviaire ;
— La rhinotrachéite infectieuse aviaire ;
— L'entérite hémorragique de la dinde ;
— Le coryza gangréneux ;
— L'adénomatose pulmonaire ovine ;
— La maladie de Nairobi ;
— La salmonellose ovine *(S. abortusovis)* ;
— L'epididymite ovine *(Brucella ovis)* ;
— L'entérite virale du canard ;
— L'hépatite virale du canard ;
— La toxoplasmose ;
— La lymphangite épizootique ;

ANNEXE II

FICHE D'ENQUETE

Dr. **MOHAMED-CHERIF Abdellah**
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire
El-Harrach. Alger.

Wilaya : Tiaret
Daïra :
Commune :

PRELEVEMENT

N° du prélèvement :
Date du Prélèvement :
Nature du prélèvement :

PROPRIETAIRE

Nom et prénom :
Adresse :
N° de tel/Fax :
E-mail :

IDENTIFICATION ET ENVIRONNEMENT DE L'ANIMAL

Nom :			
Age :			
Race :			
Sexe :	Male	Femelle	
Origine :			
Activité :	Course	Travail	Plaisance
Habitat :	Urbain	Péri-urbain	Rural
Hygiène :			
Traitement :			

MANIFESTATIONS CLINIQUES

Etat général

Lésions cutanés :

Troubles sanguins :

Troubles digestifs :

Troubles oculaires :

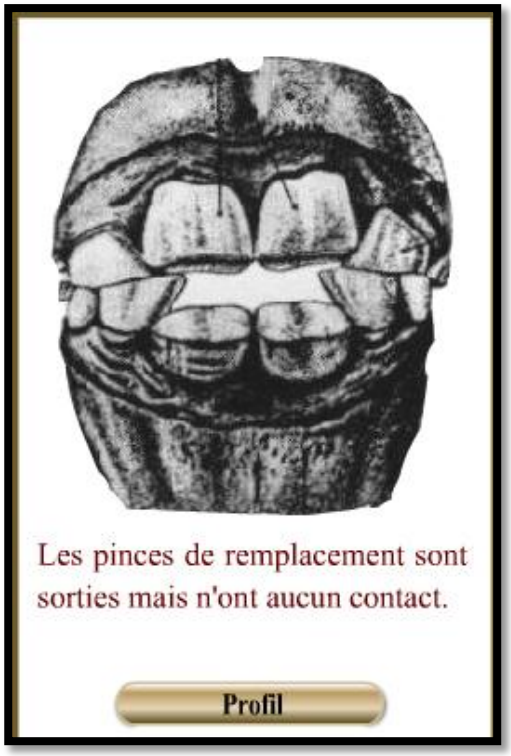
Troubles articulaires :

Troubles respiratoires :

Autres :

ANNEXE III

1- Deux ans ½ :



2- quatre ans :

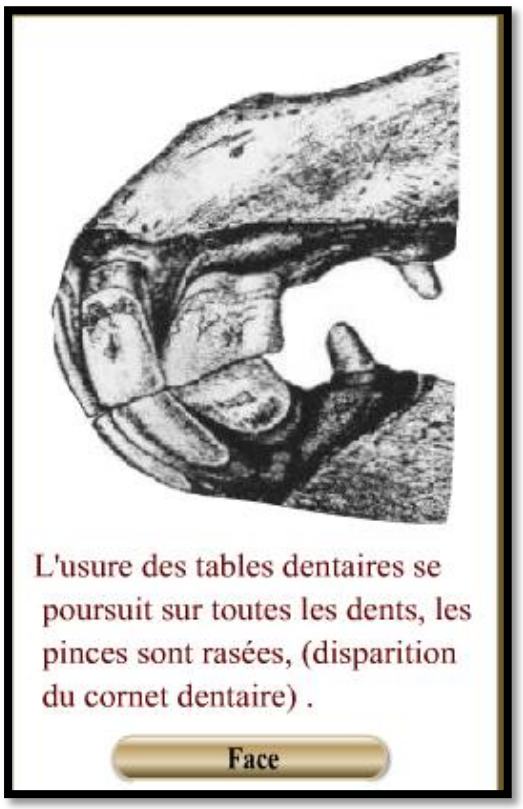
ANNEXE III

3- quatre ans ½ :

4- Cinq ans :

ANNEXE III

5- six ans :



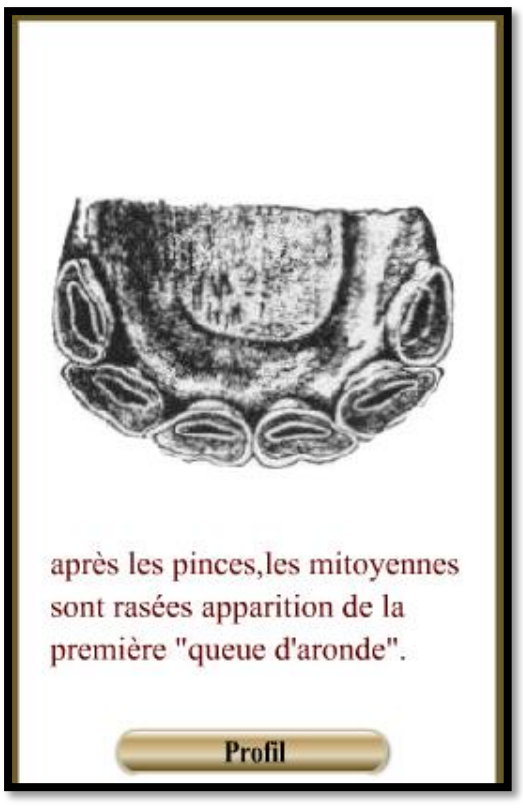
L'usure des tables dentaires se poursuit sur toutes les dents, les pinces sont rasées, (disparition du cornet dentaire) .

Face

L'usure des tables dentaires se poursuit sur toutes les dents, les pinces sont rasées, (disparition du cornet dentaire) .

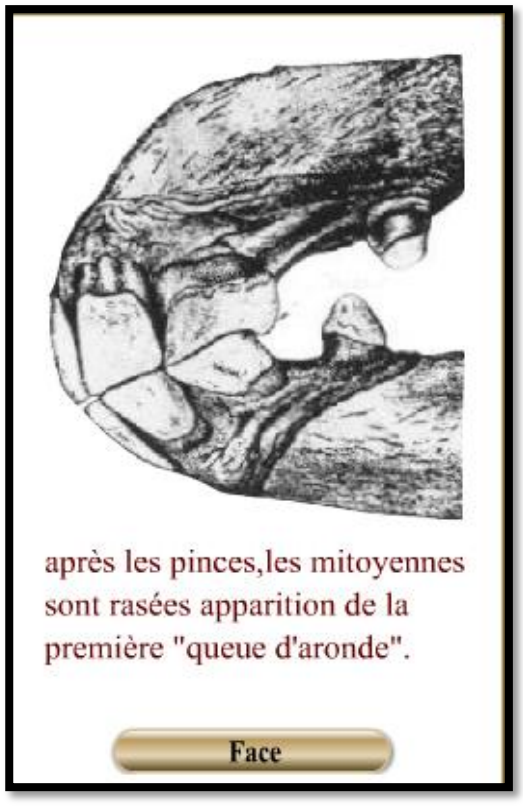
Profil

6- Sept ans :



après les pinces,les mitoyennes sont rasées apparition de la première "queue d'aronde".

Profil

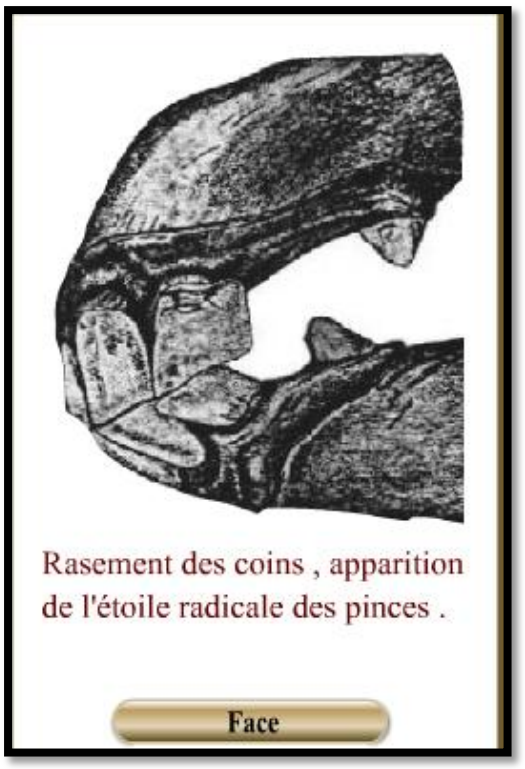


après les pinces,les mitoyennes sont rasées apparition de la première "queue d'aronde".

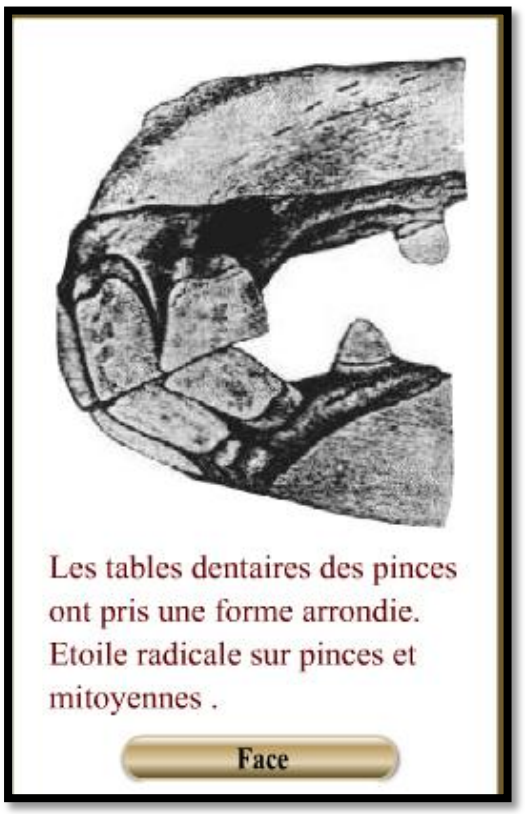
Face

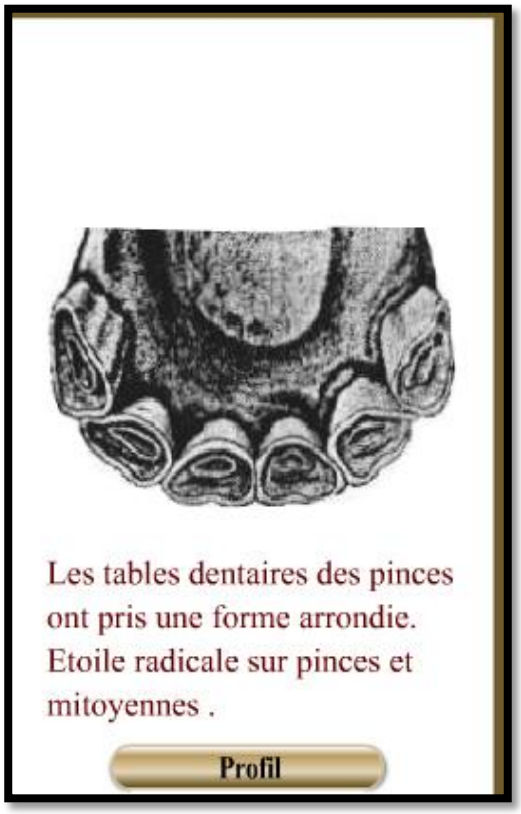
ANNEXE III

7- huit ans :



8- neuf ans :





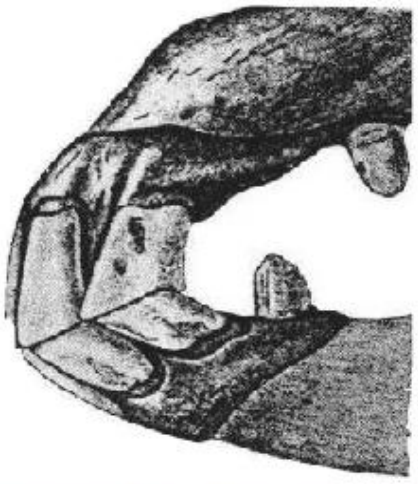
ANNEXE III

9- Dix ans :

10- onze ans :

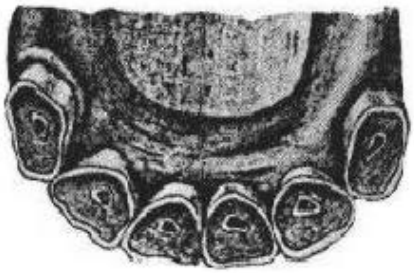
ANNEXE III

11- douze ans :



Apparition de la deuxième "queue d'arond" .

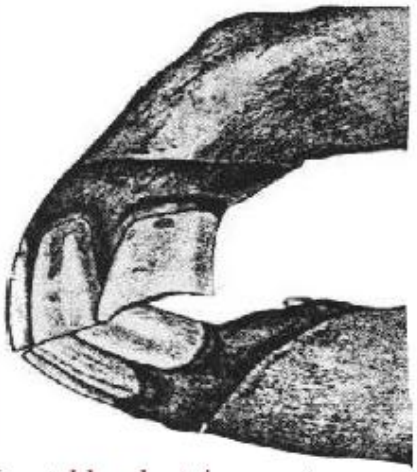
Face



Apparition de la deuxième "queue d'arond" .

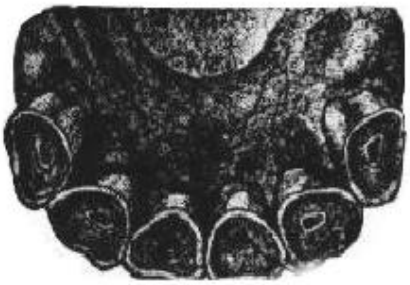
Profil

12- Treize ans :



Les tables dentaires sont triangulaires. Les pinces sont nivelées (plus d'émail central), les mitoyennes et les coins nele sont pas encore. La queue d'aronde de 12 ans est encore visible .

Face



Les tables dentaires sont triangulaires. Les pinces sont nivelées (plus d'émail central), les mitoyennes et les coins nele sont pas encore. La queue d'aronde de 12 ans est encore visible .

Profil

ANNEXE IV

IDVET innovative diagnostics

ID Screen®
Equine Infectious Anemia
Double Antigen

Kit for the detection of p 26 (gene GAG) antibodies directed against the Equine Infectious Anemia Virus by indirect ELISA in horse serum.

For *in vitro* use

AFAQ ISO 9001 VERSION 2000

EIAED ver 0510 GB

167 rue Mehdi Ben Barka - GAROSUD – 34 070 MONTPELLIER - FRANCE
Tel :+ 33 (0)4 67 41 49 33 - Fax : + 33 (0)4 67 45 36 95
www.id-vet.com - E-mail : idvet.info@id-vet.com

General Information

This diagnostic kit is designed to detect antibodies directed against the Equine Infectious Anemia Virus (EAIV) in horse sera.

It makes use of the presence of two Fab (on IgG) or ten Fab (on IgM) to allow for the early detection of anti-EIAV antibodies. A first Fab binds the immunoglobulins to the microplate and the other Fab binds a peroxydase antigen used as conjugate. This method is particularly suitable for the detection of IgM and IgG antibodies and therefore allows earlier testing of animals as well as long-term disease surveillance.

Description and Principle

Wells are coated with p26 (Gene GAG) recombinant antigen.

Specimens to be tested and controls are added to the microwells. Anti-p26 antibodies, if present, form an antibody-antigen complex.

Plates are washed and a p26 antigen -peroxidase (Po) conjugate is added to the microwells. It fixes to the free Fab of the bound serum anti-EIAV antibodies.

After washing in order to eliminate the excess conjugate, the substrate solution (TMB) is added:

The resulting coloration depends on the quantity of specific antibodies present in the specimen to be tested.

- in the presence of antibodies, a blue solution appears which becomes yellow after addition of the stop solution.
- in the absence of antibodies, no coloration appears.

The microplate is read at 450 nm.

Kit Components

Reagents*
Microplates coated with p26 (GAG) recombinant antigen
P26 Ag-Po Conjugate (10X)
Positive Control
Negative Control
Dilution Buffer 13
Dilution Buffer 19
Wash Concentrate (20X)
Substrate Solution
Stop Solution (H_2SO_4 0,5M)

** Quantities supplied are indicated on the kit label.*

1. The conjugate, the controls and the substrate solution must be stored at 5°C (± 3°C).
2. The other reagents can be stored between +2°C and +26°C.
3. Components bearing the same name (*wash solution, dilution buffers*) can be used for the entire ID VET product range.

Materials required but not provided

1. Mono or multi-channel micropipettors capable of delivering volumes of 10 µl, 100 µl, and 200 µl.
2. Disposable tips.
3. 96-well microplate reader.
4. Distilled or deionized water.
5. Manual or automatic wash system.

Precautions

1. Do not pipette by mouth.
2. The substrate solution can be irritating to the skin.
3. The stop solution (H_2SO_4 0,5M) can cause serious burns (**R35**). In the event of contact with skin or eyes, wash immediately and abundantly with water and consult a doctor (**S26**).
4. Do not expose the substrate solution to bright light nor to oxidizing agents.
5. All single-use material used for the assays should be decontaminated by immersion in freshly prepared 5% sodium hypochlorite for minimum 1 hour before elimination, or by autoclaving at 120°C.

Sample Preparation

In order to avoid differences in incubation times between specimens, it is possible to prepare a 96-well plate containing the test and control specimens, before transferring them into an ELISA microplate using a multichannel pipette.

Wash Solution Preparation

If necessary, bring the Wash Concentrate **(20X)** to room temperature and mix thoroughly to ensure that the Wash Concentrate is completely solubilized.

Prepare the Wash Solution **(1X)** by diluting the Wash Concentrate **(20X)** in distilled/deionized water.

Testing Procedure

Allow all reagents to come to room temperature (21°C ± 5°C) before use. Homogenize all reagents by inversion or Vortex.

Add:

1. 50 µl of **Dilution Buffer 13** to each microwell.
2. 50 µl of the **Negative Control** to wells A1 and B1.
3. 50 µl of the **Positive Control** to wells C1 and D1.
4. 50 µl of each sample to be tested to the remaining wells.
5. Incubate **45 min ± 4 min** at room temperature 21°C (± 5°C).
6. Empty the wells. Wash each well 3 times with approximately 300 µl of the **Wash Solution**. Avoid drying of the wells between washings.
7. Prepare the **Conjugate 1X** by diluting the **Concentrated Conjugate 10X** to 1/10 in **Dilution Buffer 19**.
8. Add 100 µl of the **Conjugate 1X** to each well.
9. Incubate **30 min ± 3 min** at room temperature 21°C (± 5°C).
10. Empty the wells. Wash each well 3 times with approximately 300 µl of the **Wash Solution**.
11. Add 100 µl of the **Substrate Solution** to each well.
12. Incubate **15 min ± 2 min** at 21°C (± 5°C) in the dark.
13. Add 100 µl of the **Stop Solution** to each well in order to stop the reaction.
14. Read and record the O.D. at 450 nm.

Validation

The test is validated if:

✓ the mean OD value of the Positive Control (OD_{PC}) is greater than 0,350.

$$\mathbf{OD_{PC} > 0{,}350}$$

✓ the ratio of the mean values of the Positive and Negative Controls (OD_{PC} and OD_{NC}) is greater than 3.

$$\mathbf{DO_{PC} / DO_{NC} > 3}$$

Interpretation

For each sample, calculate the S/P percentage as follows:

$$S/P = \frac{OD_{sample} - OD_{NC}}{OD_{PC} - OD_{NC}} \times 100$$

Samples with an S/P:

- less than or equal to 50 % are considered negative.
- less than 60% and greater than 50% are considered doubtful.
- greater than or equal to 60% are considered positive.

Result	Status
S/P ≤ 50%	NEGATIVE
50% < S/P < 60%	DOUBTFUL
S/P ≥ 60%	POSITIVE

Note: positive results should be confirmed by Coogins or an ELISA that uses a different system for detection.

Plaque I

1) Odpc=1,507>0,305 ODnc=0,032
2) Odpc/Odnc=47>3 donc le test est valide
s/p=((Odsample-Odnc)/(Odpc-Odnc))*100
si: s/p <50 résultat négatif
s/p>60 résultat positif
50 < s/p <60 resultat douteux

Echantillon	OD	(S/P)%	résultats
P7A1	0,018	-0,95	**N**
P7A2	0,014	-1,22	**N**
P7A3	0,024	-0,54	**N**
P7A4	0,025	-0,47	**N**
P7A5	0,015	-1,15	**N**
P7A6	0,016	-1,08	**N**
P7A7	0,015	-1,15	**N**
P7A8	0,023	-0,61	**N**
P7A9	0,04	0,54	**N**
P7A10	0,023	-0,61	**N**
P7B1	0,02	-0,81	**N**
P7B2	0,022	-0,68	**N**
P7B3	0,017	-1,02	**N**
P7B4	0,02	-0,81	**N**
P7B5	0,015	-1,15	**N**
P7B6	0,016	-1,08	**N**
P7B7	0,018	-0,95	**N**
P7B8	0,012	-1,36	**N**
P7B9	0,014	-1,22	**N**
P7B10	0,015	-1,15	**N**
P7C1	0,035	0,20	**N**
P7C2	0,034	0,14	**N**
P7C3	0,022	-0,68	**N**
P7C4	0,025	-0,47	**N**
P7C5	0,018	-0,95	**N**
P7C6	0,014	-1,22	**N**
P7C7	0,019	-0,88	**N**
P7C8	0,02	-0,81	**N**
P7C9	0,019	-0,88	**N**
P7C10	0,016	-1,08	**N**
P7D1	0,012	-1,36	**N**
P7D2	0,013	-1,29	**N**
P7D3	0,052	1,36	**N**
P7D4	0,019	-0,88	**N**
P7D5	0,028	-0,27	**N**
P7D6	0,021	-0,75	**N**
P7D7	0,023	-0,61	**N**

P7D8	0,032	0,00	**N**
P7D9	0,021	-0,75	**N**
P7D10	0,052	1,36	**N**
P7E1	0,02	-0,81	**N**
P7E2	0,018	-0,95	**N**
P7E3	0,018	-0,95	**N**
P7E4	0,051	1,29	**N**
P7E5	0,051	1,29	**N**
P7E6	0,02	-0,81	**N**
P7E7	0,038	0,41	**N**
P7E8	0,02	-0,81	**N**
P7E9	0,022	-0,68	**N**
P3A1	0,031	-0,07	**N**
P3A2	0,031	-0,07	**N**
P3A3	0,023	-0,61	**N**
P3A4	0,017	-1,02	**N**
P3A5	0,017	-1,02	**N**
P3A6	0,014	-1,22	**N**
P3A7	0,014	-1,22	**N**
P3A8	0,036	0,27	**N**
P3A9	0,019	-0,88	**N**
P3A10	0,02	-0,81	**N**
P3B1	0,027	-0,34	**N**
P3B2	0,018	-0,95	**N**
P3B3	0,025	-0,47	**N**
P3B4	0,022	-0,68	**N**
P3B5	0,024	-0,54	**N**
P3B6	0,03	-0,14	**N**
P3B7	0,016	-1,08	**N**
P3B8	0,013	-1,29	**N**
P3B9	0,015	-1,15	**N**
P3B10	0,062	2,03	**N**
P3C1	0,04	0,54	**N**
P3C2	0,033	0,07	**N**
P3C3	0,027	-0,34	**N**
P3C4	0,019	-0,88	**N**
P3C5	0,026	-0,41	**N**
P3C6	0,03	-0,14	**N**
P3C7	0,034	0,14	**N**
P3C8	0,022	-0,68	**N**
P3C9	-0,008	-2,71	**N**
P3C10	0,017	-1,02	**N**
P3D1	0,026	-0,41	**N**
P3D2	0,047	1,02	**N**
P3D3	0,033	0,07	**N**

P3D4	0,03	-0,14	**N**
P3D5	0,02	-0,81	**N**
P3D6	0,014	-1,22	**N**
P3D7	0,035	0,20	**N**
P3D8	0,027	-0,34	**N**
P3D9	0,025	-0,47	**N**
P3D10	0,021	-0,75	**N**
P3E1	0,01	-1,49	**N**

Plaque II

1) Odpc=0,713>0,305 ODnc=0,013
2) Odpc/Odnc=54>3 donc le test est valide
s/p=((Odsample-Odnc)/(Odpc-Odnc))*100
si: s/p <50 résultat négatif
s/p>60 résultat positif
50 < s/p <60 resultat douteux

Echantillon	OD	(S/P)%	resultat
P2A1	0,019	0,86	**N**
P2A2	0,036	3,29	**N**
P2A3	0,022	1,29	**N**
P2A4	0,019	0,86	**N**
P2A5	0,016	0,43	**N**
P2A6	0,025	1,71	**N**
P2A7	0,015	0,29	**N**
P2A8	0,022	1,29	**N**
P2A9	0,046	4,71	**N**
P2A10	0,022	1,29	**N**
P2B1	0,017	0,57	**N**
P2B2	0,037	3,43	**N**
P2B3	0,017	0,57	**N**
P2B4	0,014	0,14	**N**
P2B5	0,017	0,57	**N**
P2B6	0,034	3,00	**N**
P2B7	0,021	1,14	**N**
P2B8	0,013	0,00	**N**
P2B9	0,024	1,57	**N**
P2B10	0,164	21,57	**N**
P2C1	0,021	1,14	**N**
P2C2	0,034	3,00	**N**
P2C3	0,03	2,43	**N**
P2C4	0,029	2,29	**N**
P2C5	0,036	3,29	**N**
P2C6	0,035	3,14	**N**
P2C7	0,018	0,71	**N**
P2C8	0,029	2,29	**N**

P2C9	0,022	1,29	**N**
P2C10	0,03	2,43	**N**
P2D1	0,019	0,86	**N**
P2D2	0,023	1,43	**N**
P2D3	0,016	0,43	**N**
P2D4	0,034	3,00	**N**
P5A1	0,016	0,43	**N**
P5A2	0,017	0,57	**N**
P5A3	0,033	2,86	**N**
P5A4	0,01	-0,43	**N**
P5A5	0,015	0,29	**N**
P5A6	0,027	2,00	**N**
P5A7	0,015	0,29	**N**
P5A8	0,047	4,86	**N**
P5A9	0,032	2,71	**N**
P5A10	0,017	0,57	**N**
P5B1	0,015	0,29	**N**
P5B2	0,019	0,86	**N**
P5B3	0,016	0,43	**N**
P5B4	0,017	0,57	**N**
P5B5	0,03	2,43	**N**
P5B6	0,107	13,43	**N**
P5B7	0,026	1,86	**N**
P5B8	0,018	0,71	**N**
P5B9	0,007	-0,86	**N**
P5B10	0,018	0,71	**N**
P5C1	0,021	1,14	**N**
P5C2	0,02	1,00	**N**
P5C3	0,003	-1,43	**N**
P5C4	0,021	1,14	**N**
P5C5	0,02	1,00	**N**
P5C6	0,024	1,57	**N**
P5C7	0,018	0,71	**N**
P5C8	0,06	6,71	**N**
P5C9	0,024	1,57	**N**
P5C10	0,021	1,14	**N**
P5D1	0,027	2,00	**N**
P5D2	0,017	0,57	**N**
P5D3	0,069	8,00	**N**
P5D4	0,162	21,29	**N**
P5D5	0,021	1,14	**N**
P5D6	0,033	2,86	**N**
P1A1	0,024	1,57	**N**
P1A2	0,085	10,29	**N**
P1A3	0,021	1,14	**N**

P1A4	0,019	0,86	**N**
P1A5	0,016	0,43	**N**
P1A6	0,021	1,14	**N**
P1A7	0,014	0,14	**N**
P1A8	0,042	4,14	**N**
P1A9	0,018	0,71	**N**
P1A10	0,026	1,86	**N**
P1B1	0,019	0,86	**N**
P1B2	0,016	0,43	**N**
P1B3	0,022	1,29	**N**
P1B4	0,02	1,00	**N**
P1B5	0,02	1,00	**N**
P1B6	0,029	2,29	**N**
P1B7	0,023	1,43	**N**
P1B8	0,026	1,86	**N**
P1B9	0,02	1,00	**N**
P1B10	0,02	1,00	**N**

Plaque III

1) Odpc=1,147>0,305 ODnc=0,014
2) Odpc/Odnc=81>3 donc le test est valide
s/p=((Odsample-Odnc)/(Odpc-Odnc))*100
si: s/p <50 résultat négatif
s/p>60 résultat positif
50 < s/p <60 resultat douteux

Echantillon	OD	(S/P)%	résultât
P4A1	0,077	5,56	**N**
P4A2	0,015	0,09	**N**
P4A3	0,02	0,53	**N**
P4A4	0,023	0,79	**N**
P4A5	0,017	0,26	**N**
P4A6	0,024	0,88	**N**
P4A7	0,032	1,59	**N**
P4A8	0,018	0,35	**N**
P4A9	0,018	0,35	**N**
P4A10	0,024	0,88	**N**
P4B1	0,039	2,21	**N**
P4B2	0,032	1,59	**N**
P4B3	0,03	1,41	**N**
P4B4	0,026	1,06	**N**
P4B5	0,022	0,71	**N**
P4B6	0,029	1,32	**N**
P4B7	0,021	0,62	**N**
P4B8	0,027	1,15	**N**
P4B9	0,024	0,88	**N**

P4B10	0,028	1,24	**N**
P4C1	0,021	0,62	**N**
P4C2	0,02	0,53	**N**
P4C3	0,054	3,53	**N**
P4C4	0,031	1,50	**N**
P4C5	0,029	1,32	**N**
P4C6	0,018	0,35	**N**
P4C7	0,017	0,26	**N**
P4C8	0,021	0,62	**N**
P4C9	0,02	0,53	**N**
P4C10	0,057	3,80	**N**
P4D1	0,028	1,24	**N**
P4D2	0,03	1,41	**N**
P4D3	0,042	2,47	**N**
P4D4	0,037	2,03	**N**
P4D5	0,022	0,71	**N**
P4D6	0,022	0,71	**N**
P4D7	0,021	0,62	**N**
P4D8	0,024	0,88	**N**
P4D9	0,03	1,41	**N**
P4D10	0,036	1,94	**N**
P4E1	0,019	0,44	**N**
P4E2	0,027	1,15	**N**
P4E3	0,046	2,82	**N**
P4E4	0,03	1,41	**N**
P4E5	0,018	0,35	**N**
P4E6	0,024	0,88	**N**
P4E7	0,048	3,00	**N**
P4E8	0,023	0,79	**N**
P4E9	0,017	0,26	**N**
P4E10	0,02	0,53	**N**
P8A1	0,043	2,56	**N**
P8A2	0,023	0,79	**N**
P8A3	0,061	4,15	**N**
P8A4	0,045	2,74	**N**
P8A5	0,083	6,09	**N**
P8A6	0,065	4,50	**N**
P8A7	0,143	11,39	**N**
P8A8	0,031	1,50	**N**
P8A9	0,053	3,44	**N**
P8A10	0,022	0,71	**N**
P8B1	0,022	0,71	**N**
P8B2	0,055	3,62	**N**
P6A1	0,031	1,50	**N**
P6A2	0,079	5,74	**N**

P6A3	0,038	2,12	**N**
P6A4	0,023	0,79	**N**
P6A5	0,024	0,88	**N**
P6A6	0,029	1,32	**N**
P6A7	0,035	1,85	**N**
P6A8	0,025	0,97	**N**
P6A9	0,03	1,41	**N**
P6A10	0,042	2,47	**N**
P6B1	0,027	1,15	**N**
P6B2	0,018	0,35	**N**
P6B3	0,017	0,26	**N**
P6B4	0,021	0,62	**N**
P6B5	0,028	1,24	**N**
P6B6	0,026	1,06	**N**
P6B7	0,055	3,62	**N**
P6B8	0,032	1,59	**N**
P6B9	0,034	1,77	**N**
P6B10	0,026	1,06	**N**
P6C1	0,024	0,88	**N**
P6C2	0,124	9,71	**N**
P6C3	0,05	3,18	**N**
P6C4	0,054	3,53	**N**
P6C5	0,032	1,59	**N**
P6C6	0,046	2,82	**N**

Plaque IV

1) Odpc=1,303>0,305 ODnc=0,01
2) Odpc/Odnc=130>3 donc le test est valide
s/p=((Odsample-Odnc)/(Odpc-Odnc))*100
si: s/p <50 résultat négatif
s/p>60 résultat positif
50 < s/p <60 resultat douteux

Echantillon	OD	(S/P)%	résultât
P9A1	0,026	1,24	**N**
P9A2	0,019	0,70	**N**
P9A3	0,019	0,70	**N**
P9A4	0,015	0,39	**N**
P9A5	0,012	0,15	**N**
P9A6	0,019	0,70	**N**
P9A7	0,015	0,39	**N**
P9A8	0,018	0,62	**N**
P9A9	0,024	1,08	**N**
P9A10	0,018	0,62	**N**
P10A1	0,031	1,62	**N**
P10A2	0,016	0,46	**N**

P10A3	0,025	1,16	**N**
P10A4	0,016	0,46	**N**
P10A5	0,015	0,39	**N**
P10A6	0,02	0,77	**N**
P10A7	0,016	0,46	**N**
P10A8	0,057	3,63	**N**
P10A9	0,03	1,55	**N**
P10A10	0,015	0,39	**N**
P10B1	0,021	0,85	**N**
P10B2	0,008	-0,15	**N**
P10B3	0,018	0,62	**N**
P10B4	0,019	0,70	**N**
P10B5	0,019	0,70	**N**
P10B6	0,044	2,63	**N**
P10B7	0,017	0,54	**N**
P10B8	0,019	0,70	**N**
P10B9	0,016	0,46	**N**
P10B10	0,016	0,46	**N**
P10C1	0,015	0,39	**N**
P10C2	0,008	-0,15	**N**
P10C3	0,027	1,31	**N**
P10C4	0,022	0,93	**N**
P10C5	0,027	1,31	**N**
P10C6	0,02	0,77	**N**
P10C7	0,016	0,46	**N**
P10C8	0,055	3,48	**N**
P10C9	0,017	0,54	**N**
P10C10	0,073	4,87	**N**
P10D1	0,019	0,70	**N**
P10D2	0,016	0,46	**N**
P10D3	0,016	0,46	**N**
P10D4	0,021	0,85	**N**
P10D5	0,007	-0,23	**N**
P10D6	0,011	0,08	**N**
P10D7	0,012	0,15	**N**
P10D8	0,015	0,39	**N**
P10D9	0,016	0,46	**N**
P10D10	0,015	0,39	**N**
P10E1	0,018	0,62	**N**
P10E2	0,019	0,70	**N**
P10E3	0,04	2,32	**N**
P10E4	0,024	1,08	**N**
P10E5	0,021	0,85	**N**

ANNEXE VI

HYGIENE ET ETAT DU SITE DE L'ETUDE