

PUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER
المدرسة الوطنية للبيطرة -

PROJET DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

**Etude de la Séroprévalence à *Anaplasma phagocytophilum* chez des chiens
de propriétaire et de fourrière dans la région d'Alger**

Présenté par AIT AMEUR Mehdi
BOUCHAOUR Sidali Abdelwaheb
Soutenu le 27/06/2012

Le jury :

- . Président DERDOUR S.Y, Maitre assistante classe-A.**
- . Promoteur AZZAG, N, Maitre de conférences classe-B.**
- . Examineur BOUABDELLAH,R, Maitre assistante classe-A.**
- . Examineur GHALMI,F, Maitre de conférence classe-A.**

Année universitaire : 2012/2013

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance et remerciements :

Au Docteur **Derdour Salima Yamina** Maitre assistante en Anatomie pathologique à l'ENSV, Vous avez bien voulu nous faire l'honneur d'accepter la présidence du jury de ce mémoire. Nous vous exprimons ici notre gratitude et notre profond respect.

Au Docteur **AZZAG Naouelle**, Maitre de conférences en Microbiologie et Immunologie a l'ENSV. Vous nous avez proposé une thématique immensément innovante, vous nous avez donné l'opportunité de travailler sur un travail inédit en Algérie, encadré et guidé avec beaucoup d'énergie, attention et disponibilité, que vous soit témoigné ici notre profond respect et notre sincère reconnaissance.

A nos examinatrices, **Docteur Bouabdallah Ryhane** et **Docteur Ghalmi Farida**, celles que nous considérons comme des virtuoses dans leurs domaines respectifs, vous nous avez donné la chance durant notre cursus à l'ENSV de parfaire respectivement notre chirurgie et notre parasitologie, incontestablement avec des bases solides sur lesquelles on pourrait pousser nos études et par la suite vous nous faites l'honneur d'examiner notre travail, recevez ici l'expression de notre gratitude et de nos hommages respectueux.

Aux **équipes des différents services de clinique de l'ENSV**, nous avons pu travailler tout au long de l'année dans un climat conviviale que vous avez su installer, nos remerciements pour toute votre aide continue au cours de ces mois.

Dédicace

« La chance aide parfois, le travail toujours. »

A tous ceux qui croient en une Algérie meilleure,

A tous les vetos passionnés dans le monde,

A tous ceux qui font des animaux, une passion,

A tous ceux que j'oublierai sûrement,

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

A mes parents, pour les valeurs et la persévérance que vous m'avez transmises, sans lesquelles je ne serais pas parvenue au bout de toutes ces années d'études. Pour votre amour et votre soutien sans faille, je vous dis un énorme merci !

A ma sœur, qui a toujours été à mes côtés et m'a soutenue dans toutes les étapes de ce parcours. Pour ta joie de vivre, les merveilleux moments que l'on passe ensemble tout les jours, et parce qu'on se comprend tout simplement.

A mon frère, que la route que tu as enfin choisie t'apporte joie et satisfaction !

A Raouf et Amokrane, mes amis de longue date, pour toutes ces années passées ensemble, les vacances, les moments partagés. Que les années à venir avec vous soient aussi riches que celles qui se sont écoulées ! Bonne chance dans vos vies et vos voies respectives !

A Chirine, pour l'initiation au copilotage, pour les moments passés et à venir, je te remercie, en espérant que tu trouveras ta voie.

A mes amis vétos pour ce cursus mémorable passé ensemble, pour tout les souvenirs que l'on s'est forgé, et tout ceux qu'il nous reste à vivre ! Pour votre énorme soutien dans tous les domaines, merci.

A Anis, pour toute l'aide que tu as pu apporter pour la réalisation de ce boulot et parce qu'au bout du compte mieux vaut tard que jamais .

Particulièrement à Amira, la personne la plus géniale qui m'ait été donner de connaitre ,aux instants passés et futurs qui nous sera donner de partager .

Sidali A. Bouchaour

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents, pour avoir toujours cru en moi et m'avoir permis de réaliser ces longues études pour exercer le métier que j'avais choisi. Je ne vous le dirai jamais assez : merci pour tout !

A ma sœur qui se fait toujours du souci pour moi

À mes deux grand mères que dieu vous protège

A tous mes proches et à tous mes amis

A tous le clan de la croix

A Adel, Nadjib, Anis, Selma et Sid ali qui se sont avérés plus que des camarades et qui seront plus que des confrères

A tous ceux que je n'ai pas cités par mégarde

-Mehdi-

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations	
Liste des figures et tableaux	
Introduction	1
<u>PREMIERE PARTIE : SYNTHESE DES DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	
I. L'ANAPLASMOSE DANS L'HISTOIRE	3
II. TAXONOMIE	3
III. MORPHOLOGIE ET ELEMENT DE STRUCTURE	5
IV. POUVOIR ANTIGENIQUE ET IMMUNOGENE	6
V. PATHOGENIE	7
IV. EPIDEMIOLOGIE.....	10
IV.3. Prévalence et facteurs de risques	10
IV. 2. Co-infection	12
IV.3. Reservoirs	12
VI.4. Transmission vectorielle	13
VI.5. Cycle biologique chez la tique.....	14
VII. SIGNES CLINIQUES.....	15
VII.1. Incubation	15
VII.2. Symptômes.....	16
VIII. DIAGNOSTIC.....	17
VIII.1. Epidémioclinique	18
VIII.2. Bilan Hématologique et biochimique.....	18
VIII.3. Cytologie: recherche des morulaes sur frottis sanguin	18

VIII.4. Cultures et isolement	20
VIII.5. Méthodes de Biologie moléculaire (PCR)	20
VIII.6. Méthodes de sérologies	21
IX. PRONOSTIC.....	24
X. CONDUITE A TENIR.....	24
XI. TRAITEMENT	25
XII. PROPHYLAXIE	26
<u>DEUXIEME PARTIE : MATERIELS ET METHODES</u>	28
I. INTRODUCTION	28
II. POPULATION D’ETUDE	28
III. MISE EN PLACE D’UNE FICHE D’ENQUETE.....	28
III.1. Matériels utilisés.....	29
VI. PRELEVEMENT SANGUIN	29
V. RECOLTE DU SERUM	30
IV. ANALYSE DES ECHANTILLONS PAR TECHNIQUE D’IMMUNO FLUORESCENCE INDIRECTE (IFI)	31
IV.1. A propos de la lame	31
IV.2. A propos du protocole d’analyse.....	32
IV.3. Lecture des lames.....	33
VII. OUTILS DE STATISTIQUES	34
<u>TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION</u>	35

I. DESCRIPTION DE LA POPULATION CANINE ETUDIEE	35
II. ETUDE SEROLOGIQUE	35
III.CO INFECTION A ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM ET BORRELIA BURGDORFERI	36
VI. ETUDE DES FACTEURS DE RISQUE	36
<u>QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION</u>	43
CONCLUSION ET RECOMANDATIONS	45
I. CONCLUSION GENERALE	45
II. RECOMMANDATION	45

Annexes

Références bibliographique

LISTE DES ABREVIATIONS

µl : microlitre.

AFGPs : antifreeze glycoproteins.

AGC : Anaplasrose granulocytaire canine.

AnkA : ankyrin-repeat-rich protein A.

ARNr : Acide Ribonucléique ribosomique.

ARNr : l'acide ribonucléique ribosomale.

ATP : Adénosine Triphosphate.

CML : chronic myelogenous leukaemia.

EGH : Ehrlichiose granulocytaire humaine.

ELISA : Dosage immunoenzymatique sur support solide (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

HL-60 : lignée de promyélocytes leucémiques d'origine humaine.

IFI : immunofluorescence indirecte.

IgG : Immunoglobuline G.

kDa : kilodalton.

Msp 2 : Major surface protein.

Pb : paire de base.

PCR : Réaction en chaîne par polymérase (Polymerase Chain Reaction).

I) LISTE DES FIGURES

Figure 1 :Classification taxonomique de la famille Anaplasmataceae.....	4
Figure 2 : Morphologie d'A. phagocytophilum à l'intérieur des granulocytes infectés.....	6
Figure 3 : Inclusions d'A. phagocytophilum au sein du cytoplasme d'un granulocyte neutrophile.....	8
Figure 4 : Contournement des voies de régulation de la cellule-hôte au cours de l'infection par A. phagocytophilum.....	9
Figure 5 : Cycle de multiplication d'A. phagocytophilum dans le neutrophile.....	10
Figure 6 :Cycle de transmission d'A. phagocytophilum.....	15
Figure 7 : Epistaxis chez un chien atteint d'AGC.....	17
Figure 8 :Morulae intra-granulocytaires à partir d'un frottis sanguin provenant d'un chien atteint d'AGC.....	19
Figure 9 : Cellule HL-60 infectée par A. phagocytophilum.....	20
Figure 10:Dispositif SNAP® 4Dx®.....	23
Figure 11 : Les cinq spots permettant l'interprétation du SNAP® test 4Dx®.....	23
Figure 12 : Recapitulatif des mesures diagnostic en face d'AGC.....	24
Figure 12 : Ponction intra-cardiaque d'un chien à la fourrière canine d'Alger.....	30
Figure 13 : Sérums de chiens.....	31
Figure 14 : Lames IFI de Borrelia burgdorferi sensu lato et d'Anaplasma phagocytophilum.....	32
Figure 15 : Lames pour IF.....	33
Figure 16 : Dépôt du sérum sur lame IF.....	33
Figure 17 : Lavage au PBS des lames IF.....	33

Figure 18 : Séchage au papier filtre des lames IF.....	33
Figure 19 : Séchage des lames IF.....	33
Figure 20 : Dépôt du conjugué sur lame IF.....	33
Figure 21 : Séroprévalence en fonction de l'âge.....	37
Figure 22 : Séroprévalence en fonction du sexe.....	38
Figure 23 : Séroprévalence en fonction du statut médicale du chien.....	39
Figure 24 : Séroprévalence en fonction des pathologies décrites.....	40
Figure 25 : Séroprévalence en fonction de l'origine du chien.....	41
Figure 26 : Séroprévalence en fonction de la présence ou de l'absence d'ectoparasites sur le chien.....	42
Figure 27 : Répartition géographique selon le barème de lectures des lames d'immunofluorescence.....	42

II) LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Prévalence d' <i>Anaplasma phagocytophilum</i> chez le chien dans différents pays..	11
Tableau 2 : Traitement requis lors d'AGC.....	26
Tableau 3 : Barème de lectures des lames d'immunofluorescence.....	34
Tableau 4 : Séroprévalence des chiens testés en fonction du sexe.....	35
Tableau 5 : Séroprévalence selon l'âge.....	36
Tableau 6 : Séroprévalence selon le sexe.....	37
Tableau 7 : Séroprévalence selon le statut médical du chien.....	38
Tableau 8: Séroprévalence selon les pathologies décrites.....	39

Tableau 9 : Séroprévalence selon l'origine du chien.....40

Tableau 10 : Séroprévalence selon la présence ou l'absence d'ectoparasites.....42

INTRODUCTION

L'anaplasmose à *Anaplasma phagocytophilum* est une maladie vectorielle zoonotique et infectieuse évoluant sous forme aiguë ou inapparente et selon un tableau épidémiologique sporadique ou endémique.

A. phagocytophilum a été tout récemment désignée en remplacement aux trois espèces bactériennes *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi* ainsi qu'au variant correspondant à l'agent de l'Ehrlichiose granulocytaire humaine. Les ARNr 16S de ces souches présentent de légères différences de séquences (environ 5 pb) et leurs caractères biologiques, notamment leur spectre d'hôtes, leur pouvoir pathogène et leur répartition géographique, ne sont pas identiques. Il est maintenant admis qu'ils sont en fait des variants de cette même bactérie gram négatif intracellulaire obligatoire. *A. phagocytophilum* est donc une réforme de l'ancienne taxonomie et qui remplace les trois espèces de bactéries granulocytaire cité plus haut.

Elle fut initialement décrite chez les ruminants, plus connu sous l'appellation, fièvre des pâtures ou fièvres à tiques, par la suite chez le cheval sous le nom d'*Ehrlichiose equine* et enfin chez l'homme, cette bactérie est transmise par des tiques dures du genre *ixodes*.

L'Anaplasmose canine à *Anaplasma spp*, est une maladie apparue à la deuxième moitié du XXème siècle, on regroupe sous le genre *Anaplasma* chez le chien, deux bactéries ayant un tropisme pour les cellules sanguines: *Anaplasma platys*, responsable de la thrombopénie infectieuse et *A. phagocytophilum*, cette dernière fera l'objet de notre étude.

L'un des aspects les plus fascinants de cette bactérie est qu'elle infecte et se développe activement dans les neutrophiles en employant un éventail de mécanismes qui bouleverse leur activité bactéricide. Elle est également capable de survivre dans un hôte ayant une immunité développée en utilisant un mécanisme complexe de variation antigénique. Chez l'homme et les ruminants on observe un syndrome fébrile sévère.

L'Anaplasmose granulocytaire canine (AGC), est une maladie émergente, une émergence qui s'explique par des récents progrès dans les connaissances relatives à la maladie. De plus, le changement climatique avec les modifications de température ont permis aux vecteurs de s'étendre géographiquement aboutissant à une expansion de la maladie.

Le chien souffrant d'Anaplasmose granulocytaire, présentera souvent un syndrome fébrile durant la phase aiguë de la maladie, ajouté à cela presque toujours une thrombopénie.

De nombreux praticiens semblent mal connaître l'Anaplasmose car il s'agit d'une pathologie largement ignorée, sous-évaluée et sous-diagnostiquée. En effet, une enquête réalisée dans plus de 5000 cliniques vétérinaires en France l'en atteste. Près de 87% des vétérinaires sondés ignoraient qu'il s'agissait d'une zoonose et que le chien contribuait au cycle enzootique de la maladie. Cependant l'intérêt porté à cette bactérie semble grandissant au vu des publications et travaux réalisés ces dernières années.

Concernant la chronologie de ce manuscrit, nous ferons dans une première partie une synthèse des données bibliographiques existant sur *A. phagocytophilum* avec le chapitre 1 consacré à l'histoire d'*A. phagocytophilum*, ses caractères morphologiques et culturels ainsi que sa pathogénie et son pouvoir antigénique et immunogène, tout en abordant le volet épidémiologique. Ce chapitre bibliographique sera conclu par les différentes méthodes de diagnostic à disposition du clinicien, ainsi qu'une proposition de traitements et de mesures prophylactiques.

Dans la deuxième partie, nous présenterons l'étude expérimentale que nous avons menée, tentant de déterminer la séroprévalence de l'Anaplasmose granulocytaire canine dans la région d'Alger réalisée à partir de données recueillies sur 208 chiens présentés en consultation sur le site de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, au niveau de la fourrière d'El-Harrach et dans divers cabinets vétérinaires privés entre les mois de décembre et mai 2013.

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE DES DONNEES BIBLIOGRAPHIQUE

I. ANAPLASMA DANS L'HISTOIRE

Anaplasma phagocytophila est la première nomenclature publiée par Dumler en 2001 puis corrigée en 2002 en tant qu'*Anaplasma phagcytophilum*, cette espèce rassemble les trois sous espèces de bactéries granulocytaires à savoir *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi* et l'agent de l'*Ehrlichiose* granulocytaire humaine du fait de la réorganisation des familles *Rickettsiaceae* et *Anaplasmataceae* dans l'ordre des *Rickettsiales*.

Ehrlichia phagocytophila a été mise en évidence par des chercheurs Ecossais (McLeod, 1932), lors d'une apparition de cas de fièvre transmise par des tiques chez les ovins. Cette pathologie a été reconnue 8 ans plus tard comme une maladie vectorielle transmise par les tiques du genre *Ixodes*, ce même agent a été décrit chez des ruminants dans d'autres parties du Royaume Uni et autres régions du monde (Hudson, 1950).

L'*Ehrlichiose* granulocytaire équine a été découverte chez les chevaux en 1969 par Gribble en Californie et aussi dans d'autres régions des États Unis plus tard. Elle est actuellement reconnue comme l'*Anaplasmosse* granulocytaire équine (Lewis *et al.*, 1975).

L'*Anaplasmosse* granulocytaire canine est due à *A. phagocytophilum*, elle fut découverte en premier lieu aux États Unis (Madwell et Gribble, 1982) puis décrite par la suite en Europe. Au début, Les chercheurs pensaient que l'*Ehrlichiose* granulocytaire se limitait uniquement aux animaux domestiques, jusqu'à la découverte de l'*Ehrlichiose* granulocytaire humaine (Chen *et al.*, 1994). En réalité, l'*Ehrlichiose* granulocytaire est causée par un agent étroitement lié à l'agent causal de la fièvre transmise par les tiques chez les ruminants et les équidés.

II. TAXONOMIE

A. phagocytophilum a présenté plusieurs modifications taxonomiques due au développement et à la découverte de nouvelles méthodes d'analyses qui ont abouti à la nomenclature actuelle.

En effet, de récentes améliorations dans les techniques moléculaires ont significativement fait avancer les capacités à mener les analyses génétiques. Pour la première fois on a clairement indiqué les propriétés et les positions phylogénétiques de la plupart des espèces bactériennes dans la famille des *Rickettsiales*, *Bartonellaceae* et *Anaplasmataceae* dans l'ordre des *Rickettsiales* (Wose *et al.*, 1990 ; Wisburg *et al.*, 1989 ; Bremer *et al.*, 1990).

L'analyse des séquences des gènes *gltA* (codant pour la citrate synthétase), effectuée par Inokuma *et al.*, montre cependant que *E.phagocytophila*, *E.equi* et l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire humaine pourraient constituer un groupe proche mais différent du genre *Anaplasma*. De plus, ces auteurs rappellent que les *Anaplasma* sp. infectent les globules rouges alors que *E.phagocytophila*, *E.equi* et l'agent EGH infectent principalement les granulocytes. Inokuma *et al.* estiment que ces différences génétiques et biologiques pourraient justifier la création d'un nouveau genre destiné à accueillir *E.phagocytophila*, *E.equi* et l'agent de l'EGH. Les articles de Dumler *et al.* et de Inokuma *et al.* ont été publiés de manière pratiquement simultanée (respectivement novembre 2001 et septembre 2001) si bien que les résultats de Inokuma *et al.* n'ont pu être pris en compte par Dumler *et al.*

Inokuma *et al.* ne font aucune proposition formelle concernant la nomenclature, mais il n'est pas impossible que dans l'avenir de nouveaux changements soient proposés. Cependant, Dumler *et al.* proposent de reconnaître l'existence de variants au sein de cette espèce : un variant correspondant à l'espèce préalablement connue sous le nom de *E. phagocytophila*, un variant correspondant à l'espèce préalablement dénommée *E. equi* et un variant correspondant à l'agent de l'EGH.

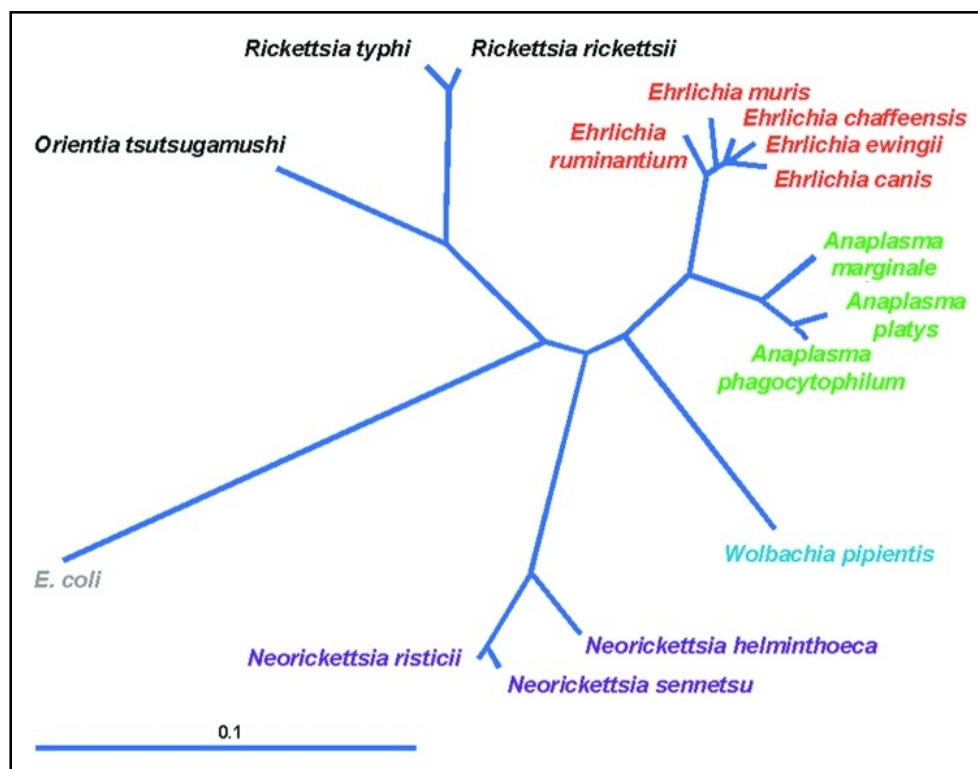


Figure1 : Classification taxonomique de la famille *Anaplasmataceae* (Dumler 2005).

III. MORPHOLOGIE ET ELEMENT DE STRUCTURE

Les souches de *A. phagocytophilum* se présentent sous la forme de bactéries à Gram négatif, de petite taille, souvent polymorphes (forme coccoïde ou ellipsoïdale), infectant les cellules de la lignée myéloblastique des mammifères, notamment les granulocytes neutrophiles et, dans une moindre mesure, les granulocytes éosinophiles. Les études de microscopie électronique révèlent l'existence de deux formes morphologiques au sein des morulas, des corps élémentaires ou corps initiaux denses (ou dense-core forms) et des corps réticulés. Les corps réticulés ont un diamètre pouvant atteindre 2 μm . Les morulas ne sont pas en contact avec les mitochondries et elles ont généralement un diamètre compris entre 1,5 et 2,5 μm mais pouvant parfois atteindre 6 μm .

Des communautés antigéniques sont mises en évidence avec *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffe-ensis* et *Ehrlichia ruminantium*. La protéine majeure de membrane externe présente un poids moléculaire compris entre 42 et 49 kDa et sa séquence est comparable à celle des protéines homologues présentes chez *A. marginale*, *E. ruminantium*, *E. canis*, *E. chaffeensis* et *Wolbachia pipientis*. La taille du génome est d'environ 1494 kb (*A. phagocytophilum* biovar EGH) et le G + C p. cent est estimé à 41.

A. phagocytophilum se cultive *in vitro* dans les cellules IDE8 = ATCC CRL 11973 (cellules embryonnaires d' *Ixodes scapularis*) ainsi que dans les cellules de la lignée HL-60 (lignée de promyélocytes leucémiques d'origine humaine) non différenciées ou différenciées en granulocytes neutrophiles.

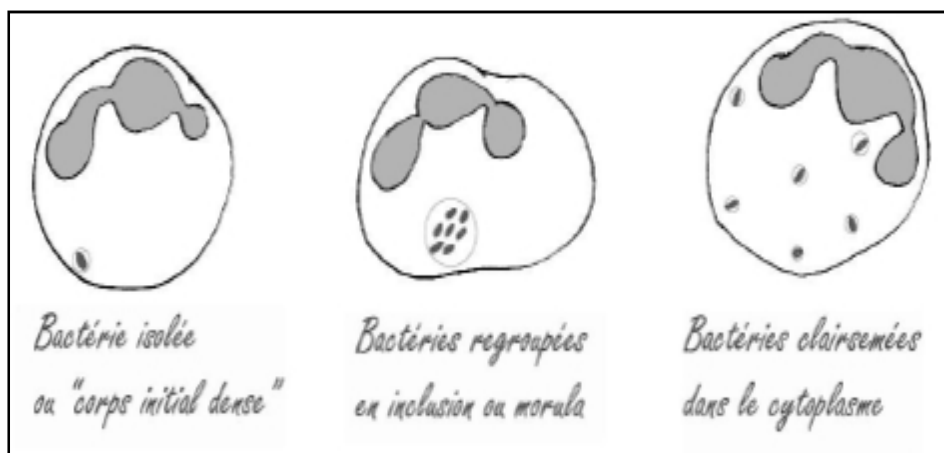


Figure 2 : Morphologie d'*A. phagocytophilum* à l'intérieur des granulocytes infectés.

(Chimier 2006)

IV. POUVOIR ANTIGENIQUE ET IMMUNOGENE

Le génome de la souche nord-américaine d'*A. phagocytophilum* HZ a été séquencé en 2006 par Dunning Hotopp *et al.* Il s'agit d'un chromosome circulaire unique de 1 471 282 pb ; son pourcentage en G+C est de 41,6%. Comme *A. marginale*, *A. phagocytophilum* ne possède qu'un exemplaire de l'opéron de l'ARNr avec les trois gènes du 5S, du 23S et du 16S. Son génome est composé de 12,7% de répétitions, soit deux fois plus qu'*A. marginale*. L'espèce *A. phagocytophilum* possède des centaines de gènes spécifiques absents chez les autres bactéries du genre. Un grand nombre de ces gènes uniques code des protéines de fonction inconnue, ou des protéines et lipoprotéines membranaires non caractérisées. Le gène p44, présent en multiples copies plus ou moins complètes dans le génome, est spécifique de l'espèce (Dunning Hotopp *et al.*, 2006). Il code P44, une protéine de Surface immunoréactive qui constitue un antigène majeur d'*A. phagocytophilum* (Murphy *et al.*, 1998). *A. phagocytophilum* ne dispose d'aucun gène de biosynthèse du peptidoglycane, contrairement à *A. marginale* ; Dunning Hotopp *et al.* (2006) interprètent cette perte comme un élément facilitateur de l'infection des leucocytes des hôtes vertébrés. Enfin, *A. phagocytophilum* est dépourvu de gènes de biosynthèse du lipide A : elle ne possède pas de LPS (Lin et Rikihisa, 2003). La membrane externe est donc très peu renforcée chez cette espèce. Notons que les nombreuses protéines de surface de *A. marginale* forment des complexes qui pourraient renforcer la membrane (Brayton *et al.*, 2005). *A. phagocytophilum* dispose également de nombreuses protéines similaires qui pourraient jouer ce rôle.

V. PATHOGENIE

A. phagocytophilum est une bactérie intra cytoplasmique stricte qui se multiplie à l'intérieur des granulocytes de l'hôte infecté. (Dumler JS *et al.*, 2001 ; Mayer-Scholl A *et al.*, 2004). Le principal mode de transmission est la morsure de tique qui a pour conséquence l'apparition du pathogène dans le tissu périphérique ou après l'afflux des granulocytes neutrophiles aux sites de morsure, la bactérie va utiliser ces granulocytes pour sa dissémination. Toutefois d'après Woldehiwet, les neutrophiles ne sont infectés qu'une fois arrivés dans le sang circulant et donc les premières étapes de la pathogénèse d'*A. phagocytophilum* restent à jour non élucidées et ce

quel que soit l'hôte mammifères infectés (Woldehiwet Z *et al.*,2002) et plus particulièrement lors de la phase d'incubation qui apparait aux 4 e et 7 e jours post-inoculation. De plus, on note une bactériémie tout en ignorant la localisation exacte de la bactérie. Cependant des études démontrent que la bactérie peut être détectée dans les poumons durant cette phase. (Snodgrass, D.R., 1974) (Walker et Dumler, 1996).

A. phagocytophilum pénètre dans la cellule infectée et se réplique dans un autophagosome like dépourvu de marqueurs endosomiales ou lysosomiales. (Webster et al., 1998; Mott *et al.*, 1999).

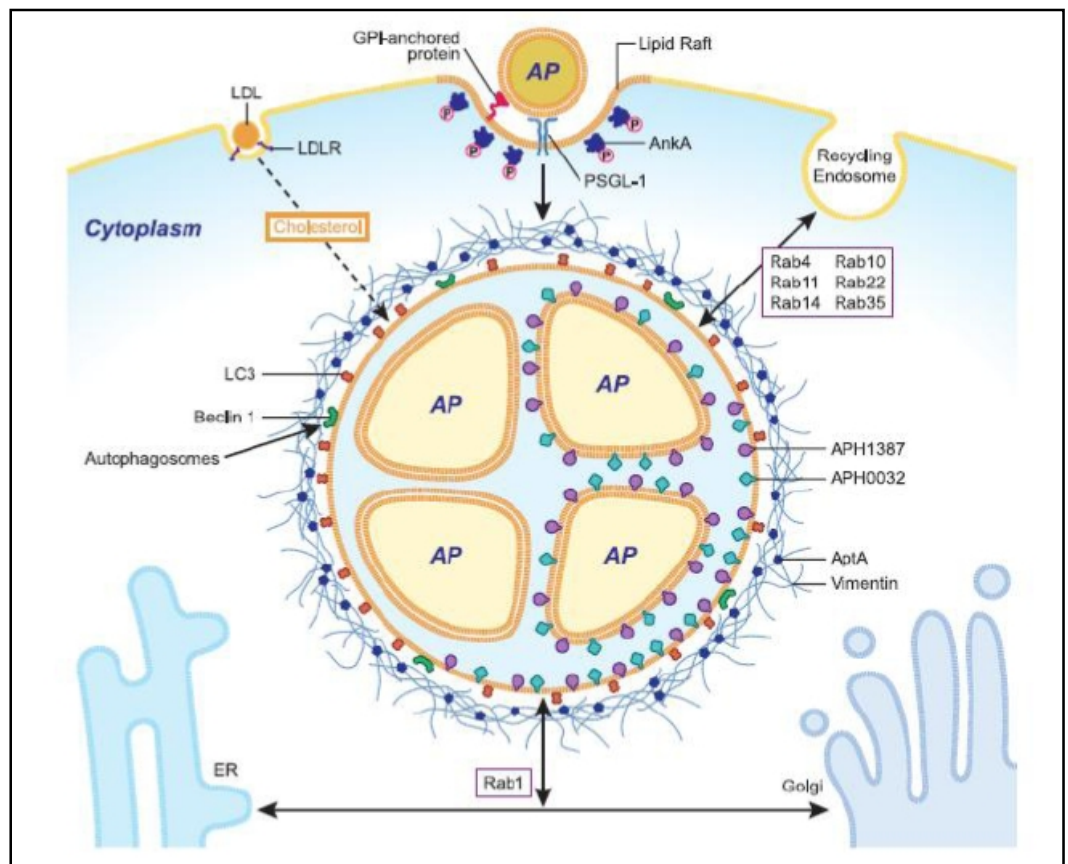


Figure 3: Inclusions d'*A. phagocytophilum* au sein du cytoplasme d'un granulocyte neutrophile (Rikihisa., 2011)

En ralentissant les mécanismes d'apoptose induits et spontanés des neutrophiles, *A. phagocytophilum* prolonge sa durée de multiplication (24 h après l'infection). Ainsi en induisant le retard de l'apoptose on aura non seulement une sorte de niche, évitant au pathogène les actions du système immunitaire mais aussi une persistance et une augmentation

du nombre des neutrophiles infectés dans le sang qui seront susceptible d'être transportés vers un autre hôte par d'autres arthropodes hématophages.

A. phagocytophilum a développé une capacité remarquable à contourner l'interdit et tromper les neutrophiles et leurs mécanismes immunitaires innés. La bactérie atténue ou inhibe activement un certain nombre de réponses immunitaires innées des cellules hôtes de mammifères. Pour cela, elle inhibe la fusion phagosomes-lysosome comme cité précédemment et limite les attaques oxydatives (Gokce *et al.*, 1999 ; Choi et Dumler, 2003 ; Ohashi *et al.*, 2002). De plus elle, remodèle le cytoplasme de la cellule hôte et libère de l'espace pour sa croissance et augmente son apport en nutriments ce créant ainsi un havre de paix dans la cellule hôte (Yasuko Rikihisa., 2011)

Il semblerait également que la protéine p44 possède un rôle majeur dans l'adhésion ainsi que dans l'induction de la libération des cytokines pro-inflammatoires (IL-8, IL10, et l'interféron gamma) ce qui suggère que cette protéine contribue fortement à la pathogenèse de l'anaplasmose granulocytaire canine.

D'autre part, la pérennisation d'*A. phagocytophilum* est associée aux propriétés de sa protéine de virulence AptA (*A. phagocytophilum* toxin A) qui active la protéine kinase des mammifères Erk1/2. Cette activation agit sur la protéine de filament intermédiaire de type III, la vimentine, en provoquant sa réorganisation autour des inclusions bactériennes. Cette modification prolonge la survie intracellulaire des bactéries (Sukumaran *et al.*, 2011).

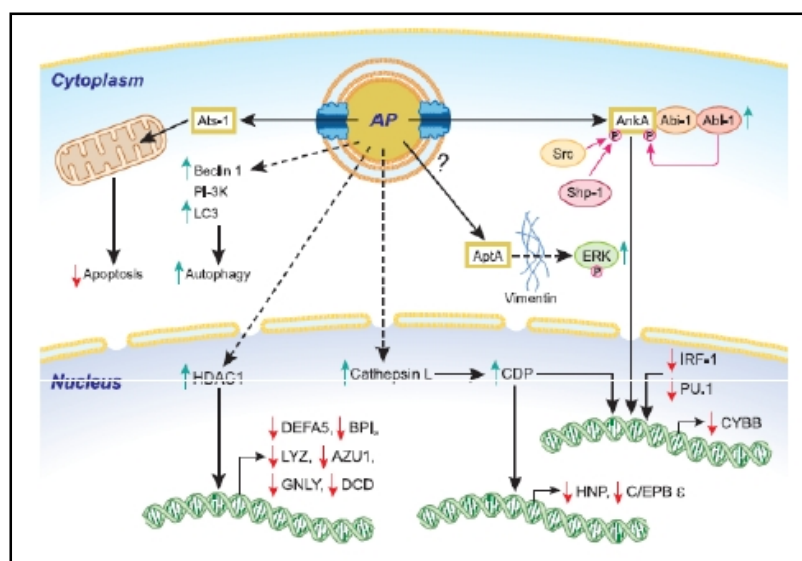


Figure 4 : Contournement des voies de régulation de la cellule-hôte au cours de l'infection par *A. phagocytophilum*. (Rikihisa., 2011)

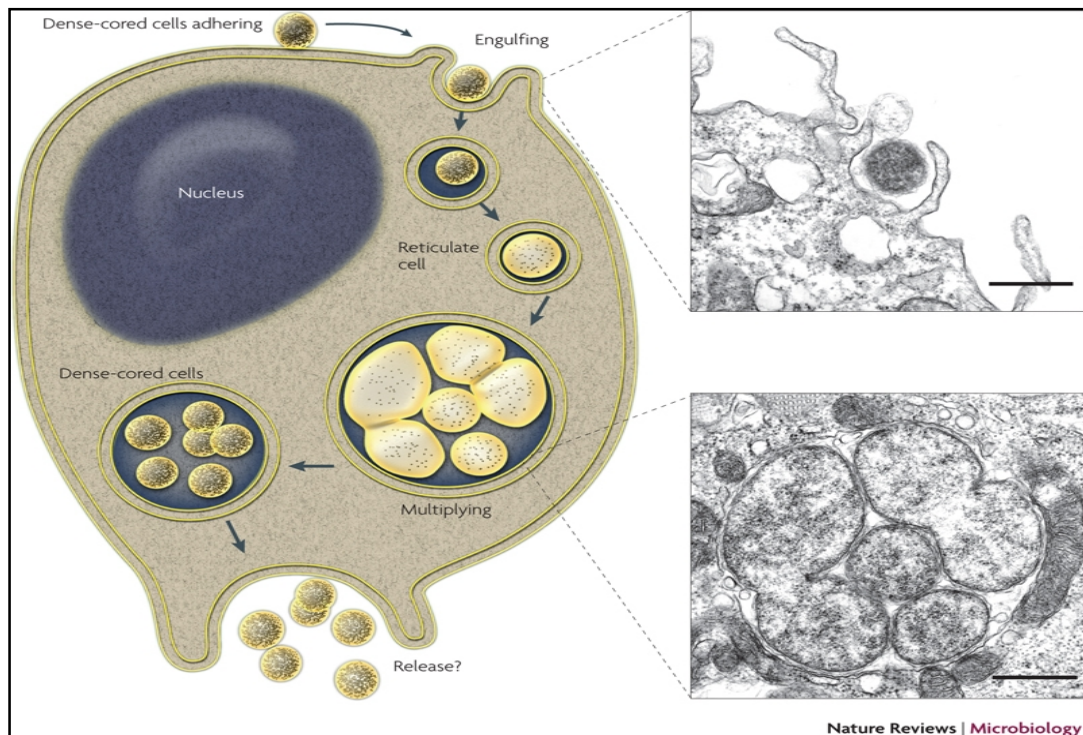


Figure 5 : Cycle de multiplication d'*A. phagocytophilum* dans le neutrophile.(Zhang 2007)

IV. EPIDEMIOLOGIE

IV.1. Prévalence et facteurs de risques

La prévalence d'*A. phagocytophilum* chez le chien a été étudiée dans différentes régions du monde (tableau 1), à l'exception de l'hémisphère sud. La séroprévalence dépend de l'état de santé des chiens échantillonnés et de leur éventuelle exposition à des tiques. La séroprévalence d'*A. phagocytophilum* chez des chiens en provenance d'Amérique du nord et d'Europe est élevée et peut atteindre 55% et 50 % respectivement (Beall *et al.*, 2008, Barutzki *et al.*, 2006). Dans une étude réalisée en Suisse, 996 échantillons de sérum ont été prélevés chez des chiens entre mars 1991 et mars 1998, dont 7,5% étaient séropositifs pour *A. phagocytophilum* (Pusterla *et al.*, 1998). Une étude de séroprévalence a été conduite en Tunisie : sur les 286 chiens testés par immuno-fluorescence indirecte, 25% se sont révélés séropositif pour *A. phagocytophilum* (M'ghirbi *et al.*, 2009).

Pays	Type d'enquête	Prévalence (%)	Référence
Allemagne	S	50.1	Barutzki <i>et al.</i> , 2006
Italie (centre)	S	8.8	Ebani <i>et al.</i> , 2011
Italie (Cécile)	S	32.8	Torina <i>et al.</i> , 2006
Pologne	PCR	1.0	Skotarczak <i>et al.</i> , 2004
Portugal	S	55	Alves <i>et al.</i> , 2009
Espagne (nord-ouest)	S	11.5	Amusatégui <i>et al.</i> , 2008
Suède	S	17.7	Egenvall <i>et al.</i> , 2000
Suisse	S	7.5	Pusterla <i>et al.</i> , 1998
Angleterre	PCR	0.8	Shaw <i>et al.</i> , 2005
Brésil (sud-est)	PCR	0	De Paiva Diniz <i>et al.</i> , 2007
Japon	PCR	0	Inokuma <i>et al.</i> , 2001
Tunisie	S	25.2	M'ghirbi <i>et al.</i> , 2009
Canada	S	0	Gary <i>et al.</i> , 2006
USA(Minnesota)	S/PCR	55.4	Beall <i>et al.</i> , 2008

Tableau 1 : Prévalence d'*Anaplasma phagocytophilum* chez le chien dans différents pays.

IV. 2. Co-infection

Des cas de co-infection à *A. phagocytophilum* et *Borrelia burgdorferi* ont été également décrits. Une étude sérologique réalisée au Minnesota et portant sur 731 chien a montré que 29% des chiens testés étaient séropositifs à *A. phagocytophilum*, 11% à *Borrelia burgdorferi* et 25% aux deux agents infectieux (Beall *et al.*, 2008). Foley *et al.* (2001) ont constaté dans leur enquête sérologique que les chiens qui étaient séropositifs à *A. phagocytophilum* étaient 18,2 fois plus susceptibles d'être séropositifs à *Bartonella vinsonii berkhoffii* que les chiens qui étaient *Anaplasma* séronégatifs.

IV.3. Réservoirs

La musaraigne commune (*Sorex araneus*) qui est l'hôte de prédilection d'*I. trianguliceps* pourrait représenter un hôte réservoir important bien que négligé jusqu'à présent. Une étude britannique montre en effet que 18,7 % d'entre elles sont infectées par *Anaplasma phagocytophilum* et 30,3 % par *Babesia microti* alors que le campagnol agreste (*Microtus*

agrestis) n'est infecté qu'à 6,4 % par *A. phagocytophilum* et à 30,4 % par *Babesia microti*. Les 2 espèces sont parasitées à la fois par *Ixodes ricinus* et *I. trianguliceps*, mais les musaraignes portent 6 fois plus de larves d'*I. trianguliceps* et 2 fois plus de larves d' *I. ricinus*, et globalement 2 fois plus de nymphes des 2 espèces. Ce qui suggère que la musaraigne pourrait constituer un excellent réservoir de maladies à tiques qu'il serait judicieux d'étudier (Bown et al., 2011)

Contrairement à ce qui a été observé en Tchéquie, Slovaquie et au Japon, Michalik *et al.* rapportent une prévalence d'*A. phagocytophilum* à 12 % chez les sangliers en Pologne. Les séquences identifiées sont identiques à celles trouvées chez l'homme et *I. ricinus*, ce qui signifie que le sanglier pourrait, au moins dans certaines régions, être le réservoir naturel de la bactérie (De la Fuente *et al.*, 2012)

IV. 4. Transmission vectorielle

L'examen de tiques européennes confirme qu'elles sont bien porteuses d'*Anaplasma*. En mars 1998, le Centre National de Référence des Rickettsioses a isolé l'ADN de l'agent de l'EGH chez *Ixodes ricinus* collecté en France. En 1999, L. Schouls détecte l'ADN de différentes espèces d'*Anaplasmataceae* dans 45 % des tiques prélevées sur des cervidés hollandais. *A. phagocytophilum* a été également retrouvé en Suisse chez les *Ixodes ricinus*, ainsi que chez 136 des 220 hérissons testés (*Erinaceus europaeus*) et 413 des 563 *I. ricinus* et 90 des 338 *I. hexagonus* qui les parasitaient (rtPCR) (Silaghi *et al.*, 2012).

Une étude menée de mai à septembre 2006 en Bavière, portant sur 2862 tiques examinées par PCR, montre une prévalence moyenne d'*A. phagocytophilum* de 2,9%. En outre, la prévalence de la bactérie est deux fois plus importante chez les tiques capturées dans 3 des jardins publics de la ville de Munich. Le réservoir animal de la bactérie y diffère notamment par la présence abondante de chiens. L'ADN d'*A. phagocytophilum*, d'*Ehrlichia* sp, de *Wolbachia* sp ainsi que d'une *Rickettsia* proche de *R.heilongjiangensis* a été trouvé parmi des tiques collectées en Meuse. Toutefois il n'est toujours pas possible de préciser si les agents américain et européen sont identiques ou très voisins (Silaghi *et al.*, 2008).

Selon une étude espagnole, il semblerait que l'abondance des bovins augmente la prévalence de *B. burgdorferi* et *A. phagocytophilum* chez les nymphes d'*I. ricinus* là où ils cohabitent avec les ongulés sauvages, toutefois l'accroissement de la population des bovins

n'augmente que le risque d'anaplasmose pour les hôtes sauvages alors qu'elle le réduit pour la borréliose de Lyme (Ruiz-Fons *et al.*, 2012)

D'autres espèces de tiques entretiennent probablement aussi des cycles sauvages tiques-rongeurs de la maladie. Au Portugal, l'ADN d'*A. phagocytophilum* a été retrouvé chez *Ixodes ventalloi*, sans que la compétence de cette tique n'ait encore pu être démontrée. Plusieurs études des rongeurs forestiers britanniques suggèrent par contre qu'*Ixodes trianguliceps* pourrait être un vecteur compétent; il semble même capable à lui seul d'entretenir le cycle sauvage de l'anaplasmose. Tout comme les stases préimaginales d'*I. ricinus*, *I. trianguliceps* parasite *Microtus agrestis*, le rongeur considéré comme le réservoir le plus probable d'*A. phagocytophilum*. La coexistence des 2 parasites sur le même hôte contribue sans doute largement à contaminer *I. ricinus* et à le transformer en vecteur secondaire, transmettant la bactérie aux animaux domestiques et à l'homme (Bown *et al.*, 2006)

IV. 5. Cycle biologique chez la tique

La famille des *Anaplasmataceae*, comme celle des *Rickettsiaceae* appartient à l'ordre des *Rickettsiales* (sous-division alpha de la classe des *Proteobacteria*). Ces bactéries sont de petits cocci dont la paroi est proche de celle des bacilles Gram-négatif. Ce sont des parasites intracellulaires obligatoires, nécessitant l'ATP d'une cellule hôte afin de faire fonctionner leur métabolisme. Elles ont évolué en étroite association avec les tiques, puces, arthropodes et les douves des poissons.

A. phagocytophilum se multiplie chez les tiques, notamment au moment des mues et des périodes d'engorgement. Contrairement à d'autres *Rickettsiales* qui se maintiennent par transmission verticale, le maintien d'*A. phagocytophilum* dans la nature impose une transmission horizontale grâce au cycle animal-vecteur (absence de transmission transovarienne) (Levin *et al.*, 1999)

À défaut de constituer un réservoir de germes, les tiques jouent un important rôle d'amplification en permettant la multiplication des bactéries. La transmission de la bactérie nécessite que la tique reste fixée au moins 24 heures, elle est d'autant plus importante que la

durée d'attachement est prolongée. Ce délai de transmission relativement bref s'explique par le fait que *A. phagocytophilum* se localise essentiellement dans les glandes salivaires de la tique (Noda *et al.*, 1994)

Les tiques ont développé différents moyens pour survivre à des conditions de difficiles de dessiccation et de froid. Elles ont notamment développé des protéines réduisant la croissance des cristaux de glace en formation [antifreeze glycoproteins (AFGPs)] (Doucet, 2009). Il vient d'ailleurs d'être montré qu'*A. phagocytophilum* optimisait ses chances de survie en stimulant les gènes induisant l'expression de ces fameuses AFGPs qui protègent son hôte (Neelakanta *et al.*, 2010).

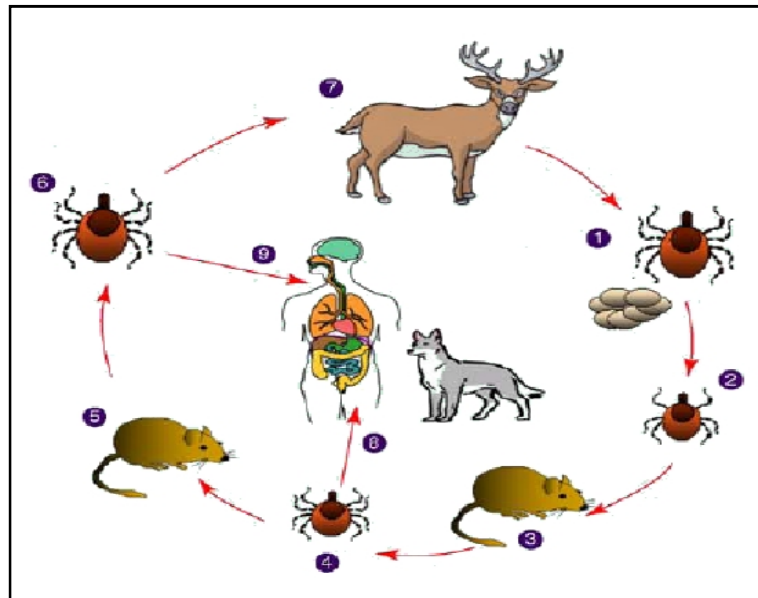


Figure 6 : Cycle de transmission d'*A. phagocytophilum* (Nicholson *et al.*, 2010).

VII. SIGNES CLINIQUES

VII.1. Incubation

En pratique, il est toujours difficile de déterminer avec certitude la durée d'incubation de l'Anaplasmoze Granulocytaire Canine (AGC). La durée est alors variable en fonction d'une

inoculation naturelle ou expérimentale et dépendrait de la dose infestante. Elle est de 5 jours chez un chien infecté par transfusion de sang contaminé et de 12 jours chez des souris inoculées expérimentalement. Par ailleurs, il a été constaté que la durée d'incubation était de 18 jours lors d'une infection véhiculée par la tique adulte mais de 8 jours par la nymphe (Ewing *et al.*,1997).

Une étude expérimentale réalisée chez des agneaux a montré que la période d'incubation était significativement plus courte si la quantité de l'agent pathogène inoculée était plus importante. Ainsi, cette étude confirme que la durée d'incubation est étroitement liée à la dose inoculée (Stuen et Artursson ,2000)

VII. 2. Symptômes

L'infection à l'AGC échappe généralement au clinicien. En effet, le chien présente peu ou pas de symptômes. Lorsqu'ils existent, ils ne sont pas spécifiques et rendent le diagnostic difficile (Kohn *et al.*, 2008 ; Beall., *et al.*,2008)

La séropositivité chez de nombreux chiens en bonne santé indique que l'infection peut être transitoire et sans signes cliniques. L'infection peut persister chez les animaux inoculés expérimentalement pendant des mois, mais elle est inconnue chez des animaux infectés naturellement et présentant des signes cliniques (Engvall *et al.* ,2002).

D'autres symptômes pour le moins atypiques ont été noté en 2011 par Eberts et ses collaborateurs. Dans un effectif de 18 chiens, ils observèrent de l'épistaxis et des vomissements ainsi qu'un accès paroxystique d'une durée de 3 jours pouvant persister jusqu'à 14 jours. La température oscillait entre 39.4 à 40,88 et plus de la moitié des chiens présentaient de l'arthrite et une lymphodénopathie. D'autres signes plus atypiques ont été également relevés et il s'agissait principalement d'un dysfonctionnement cérébral se traduisant par une incoordination motrice avec mouvement circulatoire orienté vers la gauche et enfin d'une gastrite aigue une hypertrophie utérine ainsi qu'un saignement chez la femelle (Eberts *et al.*,2011).



Figure 7 : Epistaxis chez un chien atteint d'AGC (Little *et al.*, 2010).

L'anomalie biologique la plus constante est une thrombopénie (80 à 90% des cas). Les autres anomalies de l'hémogramme constatées sont principalement une lymphopénie, et parfois une anémie. Parmi les paramètres biochimiques, on note une tendance à l'hypoalbuminémie, une hyperglobulinémie et une élévation modérée des enzymes hépatiques (phosphatases alcalines principalement (Greig B *et al.*, 1996).

VIII. DIAGNOSTIC

Le diagnostic des infections dues aux bactéries *Anaplasmatocae* chez le chien repose sur le croisement de données concernant la probabilité d'exposition aux tiques, l'observation de signes cliniques compatibles et les résultats d'analyses de laboratoire (hématologie, biochimie, sérologie et/ou PCR). Un résultat de sérologie et/ou PCR positif doit toujours être interprété avec précaution car d'autres agents pathogènes peuvent également être présents. Les tiques peuvent en effet être porteuses et donc transmettre à leurs hôtes plusieurs agents pathogènes simultanément.

VIII.1. Epidémiologie-clinique

Ces données épidémiologiques seraient appuyées lors de l'examen clinique par une hyperthermie ($>40^{\circ}$), un abattement, de l'inappétence voire de l'anorexie et des signes de myalgie qui s'exprimeraient par une appréhension aux déplacements en raison des boiteries et

une adénopathie modérée. Plus rarement une toux sèche non productive ainsi qu'une polydipsie, des troubles digestifs (vomissements, hépatomégalie, splénomégalie) et un dysfonctionnement nerveux peuvent être des éléments indicateurs (Chabanne 2009)

VIII.2. Bilan hématologique et biochimique

En biochimie, on relèvera une tendance à l'hypoalbuminémie et une hyperprotéinémie ainsi qu'une augmentation des enzymes hépatiques phosphatases alcalines. La moitié des chiens présentent une augmentation de l'activité de l'amylase (Bakken, *et al.*,1994). En hématologie, on observera une lymphopénie (Cockwill *et al.*,2009) et une forte thrombopénie, le taux des plaquettes serait de l'ordre de 51.000 / μ l (Mazepa, *et al.*,2010).

VIII.3. Cytologie : recherche des morulaes sur frottis sanguin

Le diagnostic peut être établi lors d'un examen direct d'un frottis sanguin par l'observation des morulae dans les lymphocytes, monocytes, granulocytes ou plaquettes. La sensibilité de l'examen direct peut être améliorée en effectuant un concentré leucocytaire ou un frottis sur sang capillaire. Les morulae peuvent également être observées sur des ponctions de nœuds lymphatiques ou de rate. La détection des morulae reste une méthode relativement difficile et chronophage qui doit être réalisée par un personnel expérimenté.

Lors d'une inoculation expérimentale chez un chien, on a observé au 4^e jours PI, des inclusions intra cytoplasmique dans des granulocytes du sang périphérique avec une persistance de 4-8 jours (Egenvall *et al.*,1998).

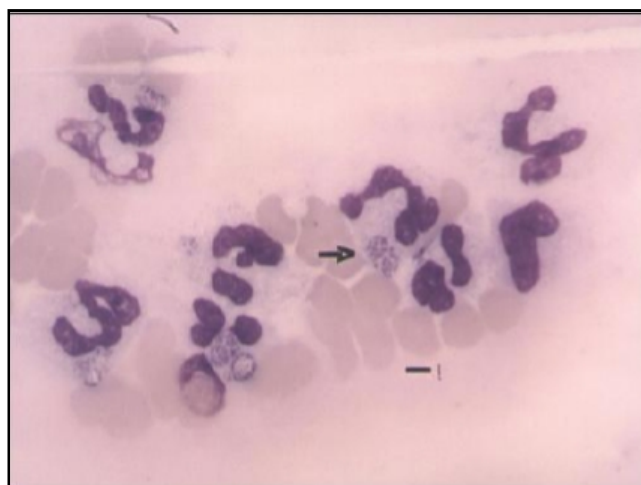


Figure 8 : Morulae intra-granulocytaires à partir d'un frottis sanguin provenant d'un chien atteint d'AGC (Lester *et al.*, 2005).

VIII.4. Culture et isolement

A.phagocytophilum est une bactérie intracellulaire stricte dont la culture et l'isolement sont difficiles, car ils ne se font pas sur milieux inertes tels que les milieux gélosés. Elle se cultive sur des cellules leucocytaires humaines HL-60 : human promyelocytic leuke-mia cell lines (HL-60), sur des cellules de lignée de tique (Aguero-Rosenfeld *et al.*,2002) et sur des cellules CML (Bayard-Mc Neeley M *et al.* ,2004). Selon une étude mener par Bayard et al., (2004) il a été décrit que la croissance d'*A.phagocytophilum* est meilleure sur les cellules CML en comparaison aux cellules HL-60, ceci suggère qu' *A. phagocytophilum* infecte préférentiellement les granulocytes matures.

Bien que la culture peut être le diagnostic le plus sensible pour la détection de l'infection aiguë chez l'homme, cette méthode n'est pas systématiquement utilisé chez les chiens pour des fins de diagnostiques et cela en raison des contraintes ainsi que des difficultés liées à la méthode (Bayard-McNeeley *et al.*,2004).

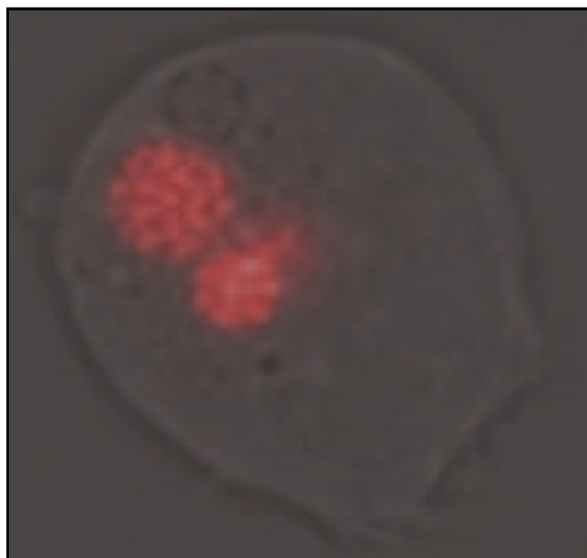


Figure 9: Cell Cellule HL-60 infectée par *A. phagocytophilum*. (Bayard-McNeeley *et al.*, 2004)

VIII.5. METHODES DE BIOLOGIE MOLLECUAIRE (PCR)

Les techniques de biologie moléculaire rendent le diagnostic plus précis car ils nous offrent l'avantage de différencier d'une manière très précise les maladies infectieuses qui présentent les mêmes manifestations cliniques et hématologiques (Beall., *et al.*,2008)

La détection d'ADN d'*A. phagocytophilum* par PCR est réalisée dans les laboratoires spécialisés. Un résultat PCR positif permet de confirmer, avec quasi-certitude, une infection. A l'inverse, un résultat PCR négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection. En effet, un résultat peut être négatif si l'échantillon testé n'est pas prélevé dans un organe infecté. La localisation des bactéries peut être réduite à certains compartiments de l'organisme et un résultat peut également apparaître négatif si la PCR est réalisée à un moment où la charge bactérienne est en forte décroissance, par exemple après le début d'un traitement. (Granick, *et al.*,2009; Egenvall *et al.*,1998; Beall, *et al.*,2008)

VIII.6. Méthodes de sérologies

Diverses techniques sérologiques ont été développées à des fins de diagnostic. En 1993, Corstvet et ses collaborateurs ont décrit un test immuno-enzymatique, utilisant des anticorps monoclonaux et capable de détecter des antigènes d'*A. phagocytophilum* dans le plasma de chevaux expérimentalement infectés (Corstvet *et al.*, 1993).

Les anticorps spécifiques peuvent être également détectés par immunofluorescence indirecte, en utilisant des antigènes d'*A. phagocytophilum* ou moins fréquemment d'*A. platys*. La séroconversion est observée dans un délai de 1 à 4 semaines après l'inoculation. De plus, en zone d'enzootie, la séropositivité peut être le reflet d'une exposition ancienne et n'avoir aucun rapport avec une infection aiguë. Il est donc recommandé, dans ces cas, de répéter la sérologie à une ou plusieurs semaines d'intervalle. Des réactions croisées peuvent être observées selon la zone géographique et les agents pathogènes prédominants dans la région. Le titre d'anticorps contre *A. phagocytophilum* diminue en 6 à 9 mois après un traitement antibiotique approprié. Si le titre d'anticorps est suivi au cours du temps, les tests sérologiques doivent être réalisés par le même laboratoire pour autoriser une étude comparative. Les examens sérologiques font appel à une souche de l'un des trois biovars d'*A. phagocytophilum* cultivée sur des cellules HL-60. La nature de la souche à utiliser pour obtenir les meilleurs résultats reste à déterminer et elle pourrait varier en fonction de l'espèce animale testée.

Le diagnostic nécessite l'examen de 2 voire même de 3 sérums, l'un prélevé au tout début de la maladie, un deuxième prélevé 3 à 4 semaines plus tard et un troisième prélevé 6 à

8 semaines après l'apparition des premiers symptômes. Les tests les plus utilisés sont des tests d'immunofluorescence mais l'existence de communautés antigéniques entre *A. phagocytophilum*, *E. canis*, *E. chaffeensis* et *E. ruminantium* complique l'interprétation des résultats. (Breitshwardt *et al* 1998 ; Poitout *et al* 2005 ; Barutzki *et al* 2006 ; Severo *et al.*, 2012)

D'autres méthodes sérologiques ont été développées telles que les techniques immuno-enzymatiques (ELISA). En utilisant un antigène recombinant p44, cette technique est adaptée pour tester le sérum des chiens mais aussi des chevaux (Magnarelli *et al.*, 2001). Des réactions croisées entre les différentes espèces d'*Anaplasma* peuvent survenir. En effet l'utilisation des anticorps monoclonaux ((Msp5) a montré d'importantes réactions croisées entre *A. phagocytophilum* et *A. marginale* au test ELISA, mais aucune réaction croisée n'est détectée lors de l'utilisation d'un test ELISA compétitif (Strik *et al.*, 2007). Par ailleurs, les chiens positifs à *A. platys* ont montré une positivité sérologique à *A. phagocytophilum* en utilisant le test recombinant MSP2 (Bowman *et al.*, 2009)

Des techniques immuno-enzymatiques, utilisant comme antigènes des protéines de surface obtenues par recombinaison, sont en cours d'évaluation et semblent donner des résultats prometteurs notamment pour différencier les infections à *A. phagocytophilum* à celles d'*E.* (Severo *et al.* ,2012)

Par ailleurs, des kits de détection développés par IDEXX sont mis à la disposition des praticiens. Ils utilisent une protéine recombinante Msp2/p44 pour la détection d'anticorps contre *A. phagocytophilum*. Néanmoins des résultats positifs en utilisant ce test ne responsabiliserait pas catégoriquement *A. phagocytophilum* et comme pour le test IFI, des résultats négatifs peuvent survenir chez des chiens présentant une maladie aiguë. (Chabanne 2009)

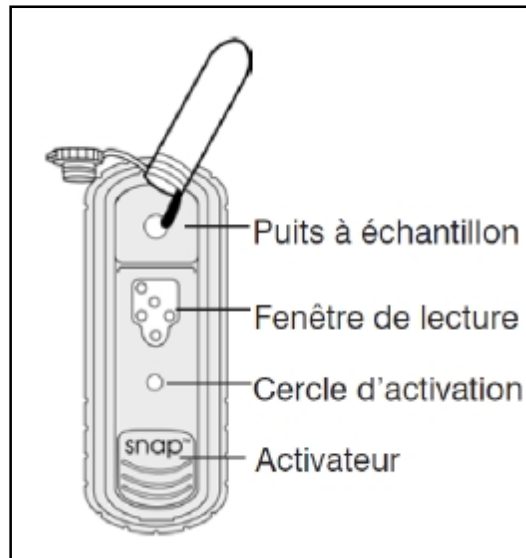


Figure 10: Dispositif SNAP® 4Dx® (notice d'utilisation du SNAP® test 4Dx IDEXX 2012).

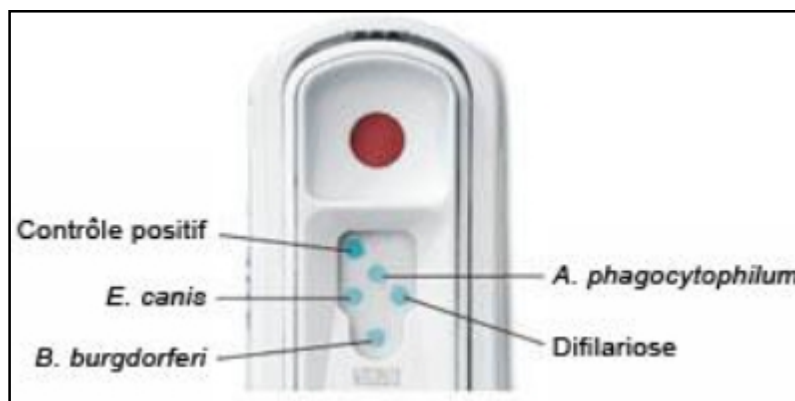


Figure 11: Les cinq spots permettant l'interprétation du SNAP® test 4Dx® (IDEXX Laboratoires., 2012).

X. PRONOSTIC

Il n'a pas été décrit des cas de mortalité contrairement à l'AGH humaine où une infection avérée chez des sujets âgés pourrait être mortelle. L'euthanasie est rare mais parfois proposée, même lorsqu'un traitement a été entrepris (TOZON et al. 2003 ; BEXFIELD et al. 2005). Dans la majorité des cas, quand le traitement est entrepris, il conduit à une amélioration rapide de l'état de l'animal, en deux à trois jours. L'existence d'un portage chronique asymptomatique a été prouvée uniquement expérimentalement, mais les cas de rechutes sont rares, la possibilité de réinfection existerait pour les chiens vivant dans des zones endémiques.

(GREIG & ARMSTRONG 2006). En l'absence de traitement, l'infection à *A. phagocytophilum* peut persister jusqu'à 5 mois et demi après l'inoculation (EGENVALL et al. 2000)

XI. TRAITEMENT

Le traitement de l'anaplasmose granulocytaire repose sur l'utilisation d'agents anti-rickettsiens et d'une thérapeutique de soutien (Horowitz *et al.*,2001 ;Maurin *et al.*,2003). Ainsi, des études ont montré qu'une injection unique d'une forme à libération prolongée de doxycycline, protège complètement les souris contre les infections à *A. phagocytophilum* véhiculée par des tiques (Zeidner *et al.*, 2004, Massung *et al.*,2005)

De plus, différents auteurs ont décrit une sensibilité à la doxycycline, la rifampicine, la levofloxacine, l'ofloxacine et la trovafloxacine (Klein *et al.*,1997 ; Horowitz *et al.*,2001 Cohn *et al.*,2003 ; Poitout *et al.*,2005) et une absence de sensibilité aux macrolides (clarithromycine), à la pénicilline (amoxicilline), à la gentamicine, à la clindamycine et enfin aux triméthopime sulfamides (Horowitz *et al.*,2001; Maurin *et al.*,2003 ;Branger *et al.*,2004).

Les tétracyclines restent la classe d'antibiotique de choix pour le traitement de l'anaplasmose granulocytaire canine et permettent un rétablissement spectaculaire pour les formes aiguës en 24 à 48 heures,dans la plupart des cas. Elles inhibent la synthèse des protéines au niveau ribosomal (Chopra & Roberts 2001). Après traitement, le taux plaquettaire se normalise en une à deux semaines (Caron & Hernandez 2011). La molécule employée par consensus est la doxycycline (5 à 10 mg/kg/j par voie orale) une à deux fois par jour pendant 2 semaines. La doxycycline possède en outre l'avantage d'être active contre *Borrelia burgdorferi*, l'agent de la maladie de Lyme, qui est fréquemment co-transmise avec l'anaplasmose granulocytaire entraînant des manifestations plus longue (Andelson et al.,2004 ;Stafford et al.,1999 ; Duffy et al.,1997 ; Krause et al.,2002) et demeure donc le traitement de choix. Cependant, dans certains cas on préconise la rifampicine (Klein et al.1997, Harold W. Horowitz et al 2001) ou des quinolones (lévofloxacine) (Martin 2004). Comme alternative pour les sujets jeunes, les femelles gestantes ou présentant une intolérance à la doxycycline.

Molécule	Dose(mg/kg)	Voie d'administration	Intervalle d'administration	Durée du traitement/jours
Tétracycline	22	PO	8	14-21
Doxycycline	5-10	PO(IV)	12-24	10-21
Minocycline	10	PO(IV)	12	10
Chloramphenicol	25-50	PO(IV,SC)	8	14-21

Tableau II : Traitement requis lors d'AGC.

Legendes : IV : voie intraveineuse ; PO : voie orale ; SC : voie sous-cutanée ; Tableau : Traitement antibiotique de l'anaplasmose granulocytaire canine (d'après Diniz & Breitschwerdt., 2012)

12) PROPHYLAXIE

Aucun vaccin n'est disponible dans le commerce, du fait de la présence de régions hypervariables dans le génome d'*A. phagocytophilum*. Cette caractéristique confère à l'agent pathogène la possibilité d'avoir des protéines de surface changeantes et donc d'échapper au système immunitaire. Ainsi, il est très difficile d'envisager l'élaboration d'une vaccination. Cependant, la découverte de protéines de surface stables permet d'espérer l'élaboration d'un vaccin dans les années à venir comme cela a pu être possible pour *A. marginale* chez les bovins (De Andrade et al., 2004)

Actuellement, aucun moyen médical de prévention n'est disponible contre les infections dues à *A. phagocytophilum* chez le chien. La méthode principale de prévention de ces infections est basée sur une protection active contre les tiques. Grâce notamment à l'utilisation de molécules antiparasitaires. Les molécules les plus utilisées sur le terrain sont la deltaméthrine en collier (Scalibor®) suivie par le fipronil (Frontline®)(Drouffe 2007). On peut également utiliser de l'imidaclopride associée à de la perméthrine (Advantix®) (Blagburn et al., 2004). De plus, il convient de faire attention au facteur de risque principal, à savoir la morsure de tique, surtout dans les périodes à forte activité de tiques (printemps et automne)

Une autre orientation serait l'élaboration d'un vaccin qui contrôlerait l'infestation des tiques ou qui empêcherait les tiques d'en être vecteur (De la fuente et al., 2006) à titre d'exemple

A.phagocytophilum ne peut pas infecter les glandes salivaires des nymphes d'*I. Scapularis* en absence du gène de la 1.3-fucosyltransferase (Pedra *et al.* ,2008)

En conclusion, l'éradication totale de la maladie semble difficilement envisageable, étant donné son réservoir qui est principalement constitué de bovins et d'animaux sauvages.

DEUXIEME PARTIE MATERIELS ET METHODES

I. INTRODUCTION

Nous avons tenté à travers cette étude de rechercher une association significative entre séropositivité à *Anaplasma phagocytophilum* et les facteurs de risque suivants :

- État de santé de l'animal,
- les signes cliniques que nous avons regroupé en classes comme suit : troubles généraux (C1), troubles respiratoires (C2), troubles dermatologiques (C3) et troubles digestifs (C4),
- âge de l'animal,
- sexe de l'animal,
- origine du chien,
- présence ou absence d'ectoparasites.

Un objectif supplémentaire a été de mettre en évidence la présence d'une co-infection à *Anaplasma phagocytophilum* et *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Seul 12 chiens ont été testés.

II. POPULATION D'ETUDE

Pour cette étude, nous avons effectué des prélèvements sanguins sur 206 chiens dans les différents services de médecine des petits animaux domestiques sur le site de l'école Nationale Supérieure Vétérinaires ainsi que dans divers cabinet privé à travers la région d'Alger mais aussi sur le site de la fourrière d'El Harrach sise à Alger, durant la période de décembre 2012 à avril 2013.

Parmi les 206 chiens, 104 étaient des chiens errants, prélevés en post-mortem, la plupart étaient sans surprise porteurs de nombreux ectoparasites telles que tiques et puces. Le sexe et l'âge ont été évalués sur des critères morphologiques. D'autre part parmi les chiens prélevés, 102 chiens étaient des chiens de propriétaires dont l'antécédent médical était connu. À travers cette enquête nous avons essayé de déterminer le statut sérologique des chiens vis-à-vis de l'anaplasmose granulocytaire canine, dans la région d'Alger (wilaya d'Alger). Cependant seul 69 échantillons ont pu être exploités.

III. MISE EN PLACE D'UNE FICHE D'ENQUETE

Une fiche d'enquête fut établie pour chaque chien prélevé que ça soit au niveau de l'école où ils ont subi un examen clinique rigoureux, qu'au niveau des différents cabinets privés ou de la fourrière. La fiche d'enquête nous a permis de nous renseigner sur une exposition antérieure à des tiques, mais aussi d'obtenir des données élémentaires telles que la race, l'âge et le sexe du chien ainsi que son suivi médical (voir annexe)

III.1. Matériels utilisés

- Lames commerciales MegaScreen Fluooanaplasma ph. et MegaScreen Fluoborrelia (MegaCorDiagnostik, Autriche).
- Conjugué anticorps anti-Ig G chien marqué au fluorochrome (Jackson immunoresearch, USA).
- Eau distillée stérile.
- PBS Phosphate Buffer Saline à reconstituer (biomérieux).
- Bleu d'evans (BioMerieux, Marcy l'Etoile, France).
- Fluoprep (BioMerieux, Marcy l'Etoile, France).
- Lamelles 35x60 mm.
- Vortex .
- Pipettes délivrant des volumes variables 200 μ l et 1000 μ l.
- Étuve.
- Centrifugeuse.
- Boite pour incubation.
- Agitateur.
- Microscope à immunofluorescence (Merck, Darmastadi, Allemagne).
- Tubes sec.
- Tubes eppendorff.
- Seringue stérile.

VI. PRELEVEMENT SANGUIN



Figure 13 : Ponction intra-cardiaque, réalisée au niveau de la fourrière d’el Harrach, Mars 2013.

La prise de sang a été réalisée à partir de la veine radiale pour les chiens de propriétaires, les chiens errants pour leurs part, ont subi une ponction intra-cardiaque, les deux méthodes de ponction ont été effectuées de façon stérile après une désinfection minutieuse de la zone de ponction à l’aide d’alcool à 70°. 5 millilitres (mL) de sang ont été recueillis via des seringues stériles dans un tube sec puis centrifugés au laboratoire à 3000 tour/mn pendant 10 minutes.

V. RECOLTE DU SERUM

À l’aide d’une pipette délivrant des volumes variable nous avons récolté le sérum tout en veillant à ne pas toucher le culot. Par la suite, les sérums ont été conservés dans des tubes de type eppendorf puis référencés en fonction des fiches d’enquête correspondante. Les tubes ont été conservés à -25°C jusqu’à analyse par immunofluorescence.

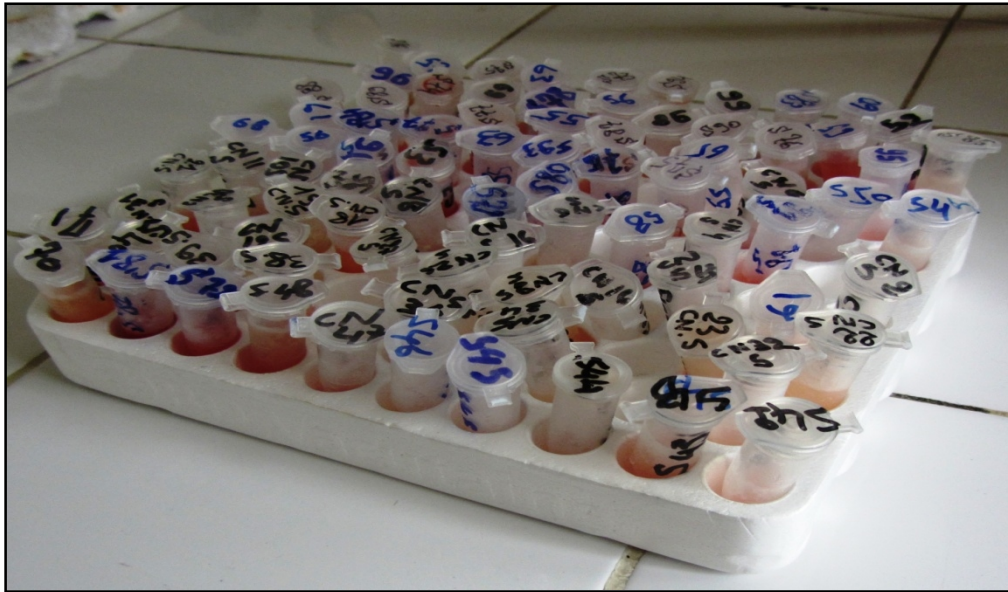


Figure 14 : Sérums de chiens.

IV. ANALYSE DES ECHANTILLONS PAR LA TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI)

La recherche des anticorps anti-*Anaplasma phagocytophilum* a été réalisée en utilisant des lames commerciales.

IV.1. A propos de la lame

Mettre les lames à température ambiante une demi-heure avant le début des manipulations et de l'analyse. Déposer les lames à l'intérieur de la boîte d'incubation, cette dernière a été préalablement humidifiée.

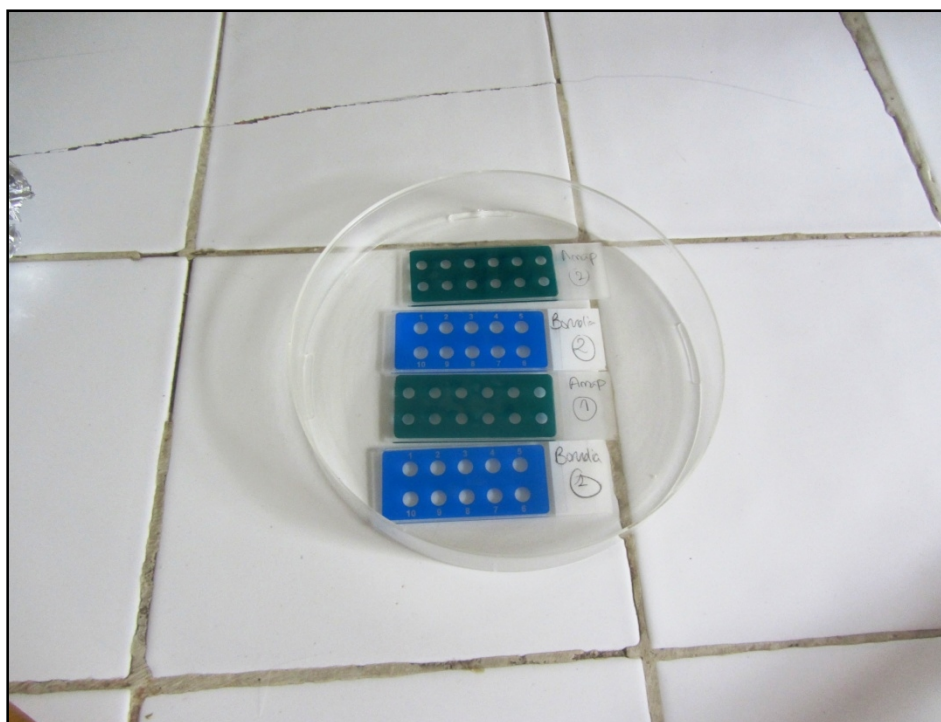


Figure 15 : Lames IFI de *Borrelia burgdorferi sensu lato* et d'*Anaplasma phagocytophilum*.

IV.2. À propos du protocole d'analyse

Les sérums sont décongelés à température ambiante. Une homogénéisation au vortex est réalisée pour chaque tube avant de prélever le sérum pour effectuer la dilution. Le criblage des sérums a été réalisé à la dilution du 1/50 (10 μ L de sérum dans 490 μ L de PBS). Chaque lame de douze puits comporte un sérum témoin positif et un sérum témoin négatif.

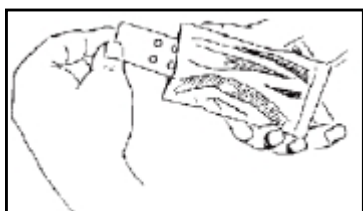


Figure 16 : Lame pour IFI

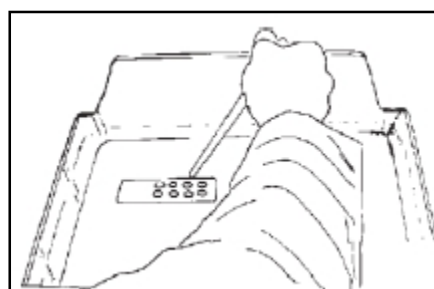


Figure 17 : Dépôt du sérum.

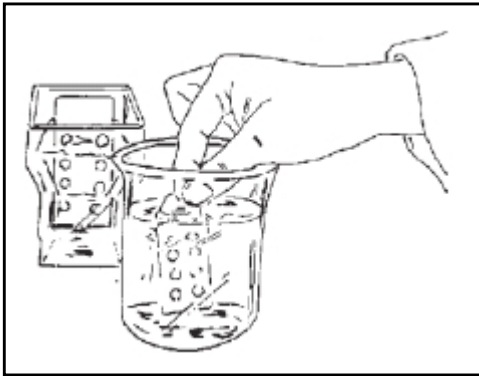


Figure 18 : Lavage au PBS.

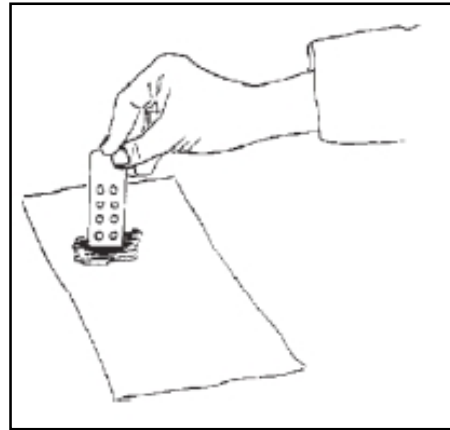


Figure 19 : Séchage au papier filtre.

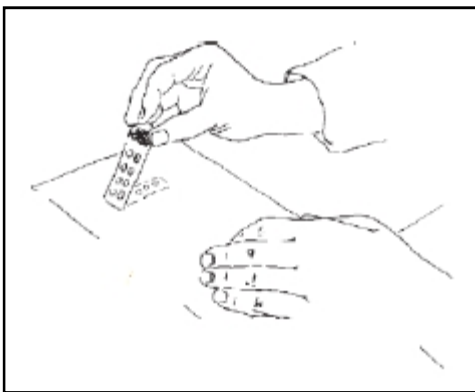


Figure 20 : Séchage.

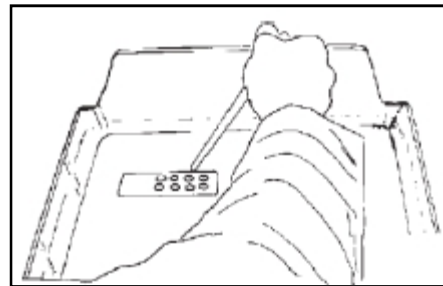


Figure 21 : Dépôt du conjugué.

IV.3. Lecture des lames

Chaque lame est lue par deux opérateurs, de manière indépendante (lecture en double aveugle) et selon un barème prédéfini comme indiqué dans le tableau ci-dessous.

VII. OUTILS DE STATISTIQUES

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide du logiciel *Stata* (version 12). Tout d'abord, nous avons établi les valeurs de fréquence et de prévalence. La différence entre les variables a été testée à l'aide du test Fisher exact. Nous avons choisi comme variable: l'âge, le

sexe, l'origine, la présence d'ectoparasites et l'état de santé du chien. La différence a été considérée comme significative si $p < 0.05$.

TROISIEME PARTIE : RESULTATS

I. DESCRIPTION DE LA POPULATION CANINE ETUDIEE

69 chiens sont inclus dans cette étude. 29 étaient des chiens de fourrière et 40 des chiens de propriétaires. Le statut médical de ces derniers était connu. L'âge moyen des chiens est de 66 mois, avec une fourchette de 3 à 146 mois (Tableau ci-dessous).

II. ETUDE SEROLOGIQUE

La présence d'anticorps anti-*A. phagocytophilum* a été recherchée par IFI, selon le mode opératoire recommandé par le fabricant du kit employé. Les 69 *sera* canins ont été criblés à la dilution 1/50 dans une solution de PBS (phosphate-buffered saline, de pH 7,3), sur des lames composées de 12 puits contenant des granulocytes neutrophiles équins infectés par *A. phagocytophilum* (MegaCor Diagnostik® Megascreeen Fluo Anaplasma ph., Autriche). Des anticorps de lapin anti-immunoglobuline G (chaînes lourdes et légères) de chien, conjugués à de l'isothiocyanate de fluorescéine, à 1mg/mL (Bethyl laboratories, Inc., Etats-Unis) ont été dilués au 1/50 dans du PBS pour la révélation. Le témoin négatif a été réalisé en déposant du tampon PBS dans l'un des puits de chaque lame ; le témoin positif correspondait à un sérum de chien infecté par *A. phagocytophilum* et séropositif en IFI. Suite à ce criblage, tous les échantillons négatifs au 1/50 ont été considérés séronégatifs et écartés de la suite de l'étude. 26 animaux sur les 69 testés par IFI sont séropositifs soit un pourcentage de 37.68%

III. CO-INFECTION À ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM ET BORRELIA BURGENDORFERI

Le nombre de chiens séropositifs pour les agents infectieux *A. phagocytophilum* et *Borrelia burgdorferi* est de 4 soit un pourcentage de 33.33%. (A+B+ :4/12, A-B+ : 8/12 soit 66.66%)

VI. ETUDE DES FACTEURS DE RISQUE

La question que nous nous sommes posées était de savoir quels étaient les facteurs qui influençaient positivement ou négativement la séroprévalence. Les facteurs considérés sont

les suivants : l'âge, la race, le sexe, la présence d'ectoparasites et l'état général du chien. Ainsi, si on analyse les chiens selon leur état général et la présence d'ectoparasites on ne constate pas de différence significative pour *A. phagocytophilum* de même avec les facteurs sexe et âge ($p>0.05$). De façon intéressante, le nombre de chiens séropositifs *A. phagocytophilum*, est plus important chez les chiens de fourrière que chez les chiens de propriétaires ($P<0.05$).

	MALE	FEMELLE
<i>A.phagocytophilum</i> +	9	17
<i>A.phagocytophilum</i> -	22	21
Total	31	38

Tableau 6 : Séroprévalence selon le sexe.

	SAIN	MALADE
<i>A.phagocytophilum</i> +	19	7
<i>A.phagocytophilum</i> -	25	18
Total	44	25

Tableau 7 : Séroprévalence selon le statut médical du chien.

	<i>C1</i>	<i>C2</i>	<i>C3</i>	<i>C4</i>
<i>A.phagocytophilum</i> +	4	1	1	1
<i>A.phagocytophilum</i> -	11	2	2	3
Total	15	3	3	3

Tableau 8 : Séroprévalence selon les pathologies décrites.

	<i>FOURIERE</i>	<i>PROPRIETERE</i>
<i>A.phagocytophilum</i> +	14	12
<i>A.phagocytophilum</i> -	15	28
Total	29	40

Tableau 9 : Séroprévalence selon l'origine du chien.

	PRESENCE ECTO	ABSENCE ECTO*
<i>A.phagocytophilum</i> +	20	6
<i>A.phagocytophilum</i> -	33	16
Total	53	22

*ectoparasites

Tableau 10 : Séroprévalence selon la présence ou l'absence d'ectoparasites.

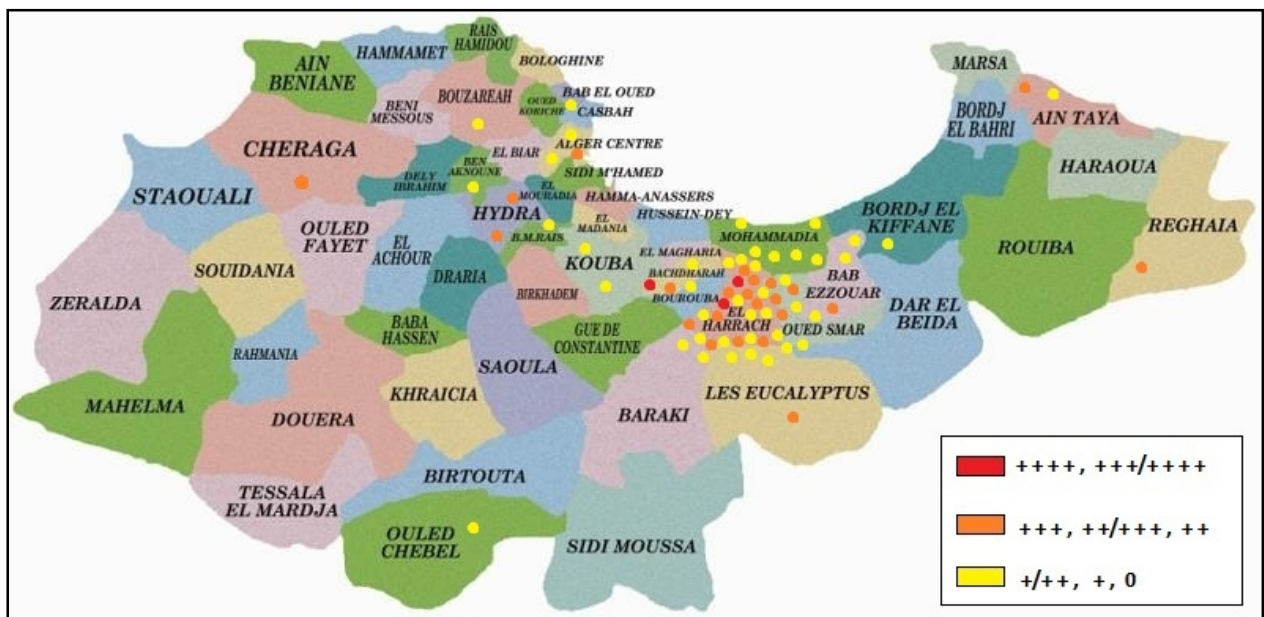


Figure 28 : Répartition géographique selon le barème de lectures des lames d'immunofluorescence.

QUATRIME PARTIE : DISCUSSION

Ce n'est pas un hasard si la description de l'Anaplasmose Granulocytaire Humaine a été faite initialement aux États-Unis. Toutes les conditions y étaient réunies pour voir cette maladie se développer, et les moyens technologiques disponibles permettaient sans difficulté de mettre à jour ces émergences. Les foyers sont tous apparus dans des zones giboyeuses infestées de tiques, et déjà touchés par la borréliose de Lyme et par la babésiose. *Ixodes* et *Anaplasma phagocytophilum* peuvent toucher de nombreuses espèces de mammifères, dont le chien et l'Homme, et les rongeurs sauvages semblent jouer un rôle de réservoir. *A. phagocytophilum* est présente dans le monde entier, tout comme son vecteur, dont les espèces diffèrent selon les régions du monde, et atteint les chiens de tous âges. Le diagnostic de cette infection bactérienne étant souvent difficile, compte tenu du tableau clinique peu évocateur et de l'existence de nombreux cas asymptomatiques, peu de données sont disponibles quant à leur prévalence en Afrique du nord et en Algérie.

Le niveau de prévalence obtenue pour *A. phagocytophilum* était de 37.8 %. Ainsi ce pourcentage est comparable à celui décrit par Azzag et ses collaborateurs en 2012 (40.4 %) et dans la littérature (Banet *et al.*, 1998 ; Mircean *et al.*, 2012 ; Cardoso *et al.*, 2012). Cependant, notre pourcentage était nettement plus élevé que celui décrit dans une étude espagnole (11.5%)(Solano-Gallego *et al.*, 2006).

Dans ce contexte, il aurait également été plus judicieux pour chaque cas de réaliser une PCR Celle-ci reste l'outil de diagnostic le plus pertinent pour détecter une infection précoce. Il aurait aussi été intéressant de réaliser un frottis sanguin de façon systématique pour optimiser le diagnostic et préciser le moment de l'infection: les morulas apparaissent dès 4 jours post-inoculation, persistent jusqu'à 8 jours (CARRADE *et al.* 2009) et précèdent de quelques jours l'apparition des anticorps. Dans le cas d'un frottis positif et d'une sérologie positive nous aurions donc pu déterminer si le chien était atteint ou non de la maladie.

D'autre part, un pourcentage de 33.33 % de co-infection à *Borrelia burgdorferi* et *Anaplasma phagocytophilum* a été retrouvé sur cette base sérologique, ce qui est comparable à la fréquence rapportée de co-infection des chiens avec ces deux agents dans la littérature (Mircean *et al.*, 2012).

Enfin, certains prélèvements n'ont malheureusement pas pu être exploités, faute de moyens matériels au cours de l'étude (lames IF pour *A. phagocytophilum*).

CONCLUSION ET RECOMANDATIONS

I. CONCLUSION GENERALE

Ce travail nous a permis de déterminer par immunofluorescence indirecte la présence d'*Anaplasma phagocytophilum*, vectorisée par des arthropodes hématophages dans la population canine de la région d'Alger.

La comparaison de la séroprévalence à *Anaplasma phagocytophilum*, entre les chiens domestiqués et les chiens errants, fut sans surprise, bien plus importante chez ces derniers.

Par ailleurs, notre étude n'a pas permis de mettre en évidence une relation entre le statut sérologiques des chiens et leur âge, leur race ou leur état de santé. Il semblerait que la bactérie sévisse tout en engendrant un portage asymptomatique.

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure qu'*A. phagocytophilum* est transmise au meilleur ami de l'homme. Compte tenu de son pouvoir pathogène potentiel pour les espèces domestiques et de son potentiel zoonotique, cette maladie bactérienne devrait systématiquement figurer dans le diagnostic différentiel des maladies infectieuses vectorisées chez les carnivores.

II. RECOMMANDATION

Notre modeste travail s'inscrit dans l'optique de servir comme point de départ à divers travaux qui pourraient jaillir par la suite à partir des résultats que nous avons obtenu. L'importante séroprévalence à *A. phagocytophilum* nous pousse à nous poser certaines questions et nécessite d'autres travaux de recherche:

- La séropositivité à *A. phagocytophilum* qui a été observée chez certains chiens, nécessite la recherche d'*A. phagocytophilum* dans le sang par biologie moléculaire. Dans ce contexte, il serait donc judicieux pour chaque cas de réaliser une PCR : celle-ci reste l'outil de diagnostic le plus pertinent dans la détection d'une infection. D'autre part, cela permettrait de faire la distinction entre *A. phagocytophilum* et *A. platys*.

- Ces nouvelles approches permettront d'améliorer les connaissances que l'on a du risque de transmission de l'Anaplasmose granulocytaire canine en Algérie.

References bibliographiques

References bibliographiques

ADELSON M E., RAO RVS., TILTON R C., CABETS K., ESKOW E., FEIN L., OCCI J L., MORDECHAI E., 2004: Prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Bartonella* spp., *Babesia microti*, and *Anaplasma phagocytophila* in *Ixodes scapularis* ticks collected in northern New Jersey. *J Clin Microbiol* 42,2799–2801.

AGUERO-ROSENFELD ME., 2002: Diagnosis of human granulocytic ehrlichiosis: State of the art. *Vector Borne Zoonotic Dis*;2:233–239.

ALVES AS., MILHANO N., SANTOS-SILVA M., SANTOS AS., VILHENA M., DE SOUSA R., 2009 : Evidence of *Bartonella* spp., *Rickettsia* spp. and *Anaplasma phagocytophilum* in domestic, shelter and stray cat blood and fleas, Portugal. *Clin Microbiol Infect*. Dec;15 Suppl 2:1-3. Epub Mar 26.

AMUSATEGUI I., TESOIRO MA., KAKOMA I., SAINZ A., 2008 : Serological reactivity to *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Neorickettsia risticii*, *Borrelia burgdorferi* and *Rickettsia conorii* in dogs from northwestern Spain. *Vector Borne Zoonotic Dis*. Dec;8(6):797-803.

BARBARA GREIG., KRISTIN M., ASANOVICH P., JANE ARMSTRONG., DUMLER JS., 1996: Geographic, Clinical, Serologic, and Molecular Evidence of Granulocytic Ehrlichiosis, a Likely Zoonotic Disease, in Minnesota and Wisconsin Dogs. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, Jan. p. 44–48 Vol. 34, No. 1 .

BAYARD-MC NEELEY M, BANSAL A, CHOWDHURY I, GIRAO G, SMALL CB, SEITER K, NELSON J, LIVERIS D, SCHWARTZ I, MC NEELEY DF, WORMSER GP, AGUERO-ROSENFELD ME., 2004: In vivo and in vitro studies on *Anaplasma phagocytophilum* infection of the myeloid cells of a patient with chronic myelogenous leukaemia and human granulocytic ehrlichiosis. *J Clin Pathol*. May;57(5):499-503.

BARUTZKI D., DE NICOLA A., ZEZIOLA M., REULE M., 2006: Seroprevalence of Anaplasma phagocytophilum infection in dogs in Germany]. Berl Munch Tierarztl Wochenschr;119(7-8): 342-347.

BEALL MJ., CHANDRASHEKAR R., EBERTS MD., CYR KE., DINIZ PP., MAINVILLE C., HEGARTY BC., CRAWFORD JM., BREITSCHWERDT EB., 2008: Serological and molecular prevalence of Borrelia burgdorferi, Anaplasma phagocytophilum, and Ehrlichia species in dogs from Minnesota. Vector Borne Zoonotic Dis;8: 455-464.

BENNET D., MAY C., 1995: Joint diseases of dogs and cats. In *Textbook of Veterinary Internal Medicine Volume*

BEXFIELD N H., VILLIERS EJ., HERRTAGE ME., 2005: Immunemediated haemolytic anaemia and thrombocytopenia associated with Anaplasma phagocytophilum in a dog. J Small Anim Pract 46, 543–548.

BORJESSON DL., SIMON S I., TABLIN F., BARTHOLD SW., 2001: Thrombocytopenia in a mouse model of human granulocytic ehrlichiosis. J Infect Dis 184, 1475–1479.

BORJESSON DL., BRAZZELL JL., FEFERMAN R., 2005: Platelet dysfunction after association with Anaplasma phagocytophilum in vitro. Ann N Y Acad Sci 1063, 413–415.

BORJESSON DL., BRAZZELL JL., FEFERMAN R., Annals of the New York Academy of Sciences Volume 1063, Rickettsioses: From Genome to Proteome, Pathobiology, and Rickettsiae as an International Threat pages 413–415.

BOWN KJ., BEGON M., BENNETT M., BIRTLES RJ., BURTHE S., LAMBIN X., TELFER S., WOLDEHIWET Z., OGDEN NH., 2006: Sympatric Ixodes trianguliceps and Ixodes ricinus Ticks Feeding on Field Voles (Microtus agrestis): Potential for Increased Risk of Anaplasma phagocytophilum in the United Kingdom? Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 6 (4) : 404 - 410.

BRANGER, S., ROLAIN, J.M. & RAOULT, D., 2004. Evaluation of Antibiotic Susceptibilities of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Anaplasma phagocytophilum* by Real-Time PCR. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(12), pp.4822-4828.

BRENNER, D. J., O'Connor, S. P., Winkler, H. H. & STEIGERWALT, A. G. 1993). Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *Bartonella quintana* comb.nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov., *Bartonella henselae* comb.nov., and *Bartonella elizabethae* comb. nov., and to remove the family Bartonellaceae from the order Rickettsiales. *Int J Syst Bacteriol* 43, 777±786

BOWMAN D., LITTLE SE., LORENTZEN L., SHIELDS J., SULLIVAN MP., CARLIN EP., 2009: Prevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in the United States: results of a national clinic-based serologic survey. *Parasitol Vet.* 2009 9 mars, 160 (1-2) :138-48. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.10.093. Epub 2008 Nov 5

BREITSCHWERDT EB., HEGARTY BC., HANCOCK SI., 1998: Sequential Evaluation of Dogs Naturally Infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia ewingii*, or *Bartonella vinsonii*. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(9), pp.2645-2651.

BAKKEN JS., DUMLER JS., 2008: Human Granulocytic Anaplasmosis. *Infectious Disease Clinics of North America*, 22(3), pp.433-448.

BAKKEN JS., KRUEH JK., LUND T., et al 1996: Exposure to Deer Blood May Be a Cause of Human. *Clinical Infectious Diseases*, 23, pp.198.

BEXFIELD NH., VILLIERS EJ., HERRTAGE., ME., 2005: Immune-mediated hemolytic anaemia and thrombocytopenia associated with *Anaplasma phagocytophilum* in a dog. *Journal of Small Animal Practice*, 46(11), pp.543-548.

CARON N., HERNANDEZ J., 2011: Anaplasmosse granulocytaire chez un chien. *Le Point Vétérinaire*, 42(315), pp.48-51.

CARRADE DD., FOLEY JE., BORJESSON DL., et al 2009 : Canine Granulocytic Anaplasmosis: a Review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(6), pp.1129-1141.

CHABANNE L., MARTIN C., 2005: Comment diagnostiquer et traiter l'éhrlichiose chez le chien. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire*, 24, pp.25-29.

CHABANNE (2009).Recueil de cas clinique ENVA ALFORT .

CHIMIER, A.M., 2006. Contribution à l'étude de la prévalence de l'infection à *Anaplasma phagocytophilum* dans la faune sauvage en France. *Thèse de Doctorat Vétérinaire*, Faculté de Médecine (ENVA), Créteil, 110 p.

COHN LA., 2003: Ehrlichiosis and related infections. *The Veterinary Clinics Small Animal Practice*, 33(4), pp.863-884.

CORSTVET RE., GAUNT SD., KARNS PA., McBRIDE JW., BATTISTINI RA., MAUTERER LA., AUSTIN FW., 1993: Detection of humoral antigen and antibody by enzyme-linked immunosorbent assay in horses with experimentally induced Ehrlichia equi infection. *J. Vet. Diagn.*, 5, 37-39.

DINIZ, PP.. BREITSCHWERDT EB., 2012: *Anaplasma phagocytophilum* Infection (Canine Granulocytotropic Anaplasmosis). In: Greene C.E., *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 4th edition, Elsevier, pp. 244-254.

DE PAIVA DINIZ PP., SCHWARTZ DS., DE MORAIS HS., BREITSCHWERDT EB., 2007 : Surveillance for zoonotic vector-borne infections using sick dogs from southeastern Brazil. *Vector Borne Zoonotic Dis.* Winter;7(4):689-97.

DE LA FUENTE J., GORTAZAR C., 2012: Wild Boars as Hosts of Human-Pathogenic *Anaplasma phagocytophilum* Variants. *Emerg Infect Dis.* 2012 ; 18 (12) : 2094 -2095.

DUFFY J., PITTLEKOW MR., KOLBERT C. P., RUTLEDGE BJ., PERSING DH., 1997: Coinfection with *Borrelia burgdorferi* and the agent of human granulocytic ehrlichiosis. *Lancet* 349, 399.

DE LA FUENTE J., LEW A., LUTZ H., MELI ML., HOFMANN-LEHMANN R., SHKAP V., MOLAD T., MANGOLD AJ., ALMAZAN C., NARANJO V., GORTAZAR C., TORINA A., CARACAPPA S., GARCIA-PEREZ AL., BARRAL M., OPORTO B., CECI L., CARELLI G., BLOUIN EF., KOCAN KM., 2005 : Genetic diversity of anaplasma species major surface proteins and implications for anaplasmosis serodiagnosis and vaccine development. *Anim Health Res Rev*;6: 75-89.

DOUCET D., WALKER VK, QIN W., 2009: The bugs that came in from the cold: molecular adaptations to low temperatures in insects. *Cell Mol Life Sci.* 200; 66 (8) : 1404-18.

DUMLER JS., BARBET AF., BEKKER CP., DASCH GA., PALMER GH., RAY SC., RIKIHISA Y., RURANGIRWA FR., 2001: Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. *Int J Syst Evol Microbiol*;51: 2145-2165.

ENGVALL EO., EGENVALL A., 2002: Granulocytic ehrlichiosis in Swedish dogs and horses. *Int J MED MICROBIOL. JUN*;291 SUPPL 33:100-3.

EGENVALL A., LILLIEHOOK I., BJOERSDORFF A., ENGVALL EO., KARLSTAM E., ARTURSSON K., HELDTANDER M., GUNNARSSON A., 2000: Detection of granulocytic Ehrlichia species DNA by PCR in persistently infected dogs. *Vet Rec*;146: 186-190.

ENGVALL EO., PETTERSSON B., PERSSON M., et al 1996: A 16S rRNA-Based PCR Assay for Detection and Identification of Granulocytic *Ehrlichia* Species in Dogs, Horses, and Cattle. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(9), pp.2170-2174.

EGENVALL A., BONNETT BN., GUNNARSSON A., et al 2000: Sero-prevalence of Granulocytic *Ehrlichia spp.* and *Borrelia burgdorferi sensu lato* in Swedish Dogs 1991-94. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 32(1), pp.19-25.

EGENVALL, AE., HEDHAMMAR AA., BJOERSDORFF AI., 1997: Clinical features and serology of 14 dogs affected by granulocytic ehrlichiosis in Sweden. *Veterinary Record*, 140(9), pp.222-226

EGENVALL A., BJOERSDORFF A., LILLIEHOOK I., ENGVALL EO., KARLSTAM E., ARTURSSON K., HEDHAMMAR A., GUNNARSSON A., 1998: Early manifestations of granulocytic ehrlichiosis in dogs inoculated experimentally with a Swedish Ehrlichia species isolate. *Vet Rec* ;143: 412-417.

EGENVALL A., LILLIEHOOK I., BJOERSDORFF A., ENGVALL EO., KARLSTAM E., ARTURSSON K., HELDTANDER M., GUNNARSSON A., 2000: Detection of granulocytic Ehrlichia species DNA by PCR in persistently infected dogs. *Vet Rec*;146: 186-190.

EWING SA., DAWSON JE., PANCIERA RJ., MATHEW JS., PRATT KW., KATAVOLOS P., TELFORD SR 3RD.1997: Dogs infected with a human granulocytotropic Ehrlichia spp. (Rickettsiales: Ehrlichieae), *Journal Medical Entomology* Nov;34(6):710-8.

FOLEY JE., FOLEY P., MADIGAN JE., 2001: Spatial distribution of seropositivity to the causative agent of granulocytic ehrlichiosis in dogs in California. *Am J Vet Res*;62: 1599-1605.

GRANICK JL., ARMSTRONG PJ., BENDER JB., 2009: Anaplasma phagocytophilum infection in dogs: 34 cases (2000-2007). *J Am Vet Med Assoc*.

GARY AT., WEBB JA., HEGARTY BC., BREITSCHWERDT EB., 2006: The low seroprevalence of tick-transmitted agents of disease in dogs from southern Ontario and Quebec. *Can Vet J*. December; 47(12): 1194–1200

GRIBBLE D.H., 1969. Equine ehrlichiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 155, 462–469. Lewis

HOROWITZ HW., HSIEH TC., AGUERO-ROSENFELD ME., et al 2001:

Antimicrobial Susceptibility of *Ehrlichia phagocytophila*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(3), pp.786-788.

HUDSON, J.R., 1950. The recognition of tick-borne fever as a disease of cattle. *Brit. Vet. J.* 106, 3–17.

INOKUMA H., OHNO, K., ONISHI, T., RAOULT, D., BROUQUI, P., 2001. Detection of ehrlichial infection by PCR in dogs from Yamaguchi and Okinawa Prefectures, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 63, 815–817.

KAWAHARA M., RIKIHISA Y., LIN Q., ISOGAI E., TAHARA K., ITAGAKI A., HIRAMITSU Y., TAJIMA T., 2006: Novel genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma centrale*, and a novel *Ehrlichia* sp. in wild deer and ticks on two major islands in Japan. *Appl Environ Microbiol*;72: 1102-1109.

KEESING F., HERSH MH., TIBBETTS M., MCHENRY DJ., DUERR S., BRUNNER J., KILLILEA M., LOGIUDICE K., SCHMIDT KA., 2012: Ostfeld RS. Reservoir Competence of Vertebrate Hosts for *Anaplasma phagocytophilum*. *Emerg Infect Dis*; 18 (12) : 2013 -2016.

KLEIN MB., MILLER JS., NELSON C M., GOODMAN JL., 1997: Primary bone marrow progenitors of both granulocytic and monocytic lineages are susceptible to infection with the agent of human granulocytic ehrlichiosis. *J Infect Dis* 176, 1405–1409.

KLEIN MB., MILLER JS., NELSON CM., et al 1997: Primary Bone Marrow Progenitors of Both Granulocytic and Monocytic Lineages Are Susceptible to Infection with the Agent of Human Granulocytic Ehrlichiosis. *The Journal of Infectious Diseases*, 176(5), pp.1405-1409.

KOHN B., GALKE D., BEELITZ P., PFISTER K., 2008: Clinical features of canine granulocytic anaplasmosis in 18 naturally infected dogs. *J Vet Intern Med.* 2008 Nov-Dec;22(6):1289-95. doi: 10.1111/j.1939-1676.2008.0180.x. Epub Sep 9.

KOHN B., GALKE D., BEELITZ P., PFISTER K., 2008: Clinical features of canine granulocytic anaplasmosis in 18 naturally infected dogs. *J Vet Intern Med* 2008;22: 1289-1295.

LESTER SJ., BREITSCHWERDT EB., COLLIS CD., et al 2005 : *Anaplasma phagocytophilum* infection (granulocytic anaplasmosis) in a dog from Vancouver Island. *The Canadian Veterinary Journal.*, 46(9), pp.825-827.

LEVIN ML., DESVIGNES F., 1999: Fish D. Disparity in the natural cycle of *Borrelia burgdorferi* and the agent of Human Granulocytic Ehrlichiosis. *Emerging Infectious Diseases*; 5 (2).

LIN M., RIKIHISA Y., 2003: *Ehrlichia chaffeensis* and *A. phagocytophilum* lack genes for lipid A biosynthesis and incorporate cholesterol for their survival. *Infection and Immunity*, 71 (9), p. 5324–5331.

LITTLE SE, O’CONNOR TP, HEMPSTEAD J, (2010) *Ehrlichia ewingii* infection and exposure rates in dogs from the south central United States. *Veterinary Parasitology*, DOI:10.1016/j.veterinary parasitology. 05.006.

MacLeod, J., 1932. Preliminary studies in tick transmission of louping ill.II. A study of the reaction of sheep to tick infestation. *Vet. J.* 88, 276–284.

MAGNARELLI LA., IJDO JW., ANDERSON JF., MADIGAN JE., DUMLER JS., FIKRIG E., 1997: Antibodies to *Ehrlichia equi* in dogs from the northeastern United States. *J Am Vet Med Assoc.* Nov 1;211(9):1134-7.

MAGNARELLI LA., IJDO JW., VAN ANDEL AE., et al 2001: Evaluation of a polyvalent enzyme-linked immunosorbent assay incorporating a recombinant p44 antigen for diagnosis of granulocytic ehrlichiosis in dogs and horses. *American Journal of Veterinary Research*, 62(1), pp.29-32.

MARTIN C., 2004: Les Ehrlichioses du chien: étude bibliographique, diagnostic et comparaison de trois kits de diagnostic sérologique rapide de l’ehrlichiose monocyttaire. *Thèse*

de Doctorat Vétérinaire, Université Claude Bernard (VetAgroSup Campus Vétérinaire de Lyon), Lyon, 180 p.

MASSUNG RE., COURTNEY JW., HIRATZKA SL., et al 2005: *Anaplasma phagocytophilum* in white-tailed deer. *Emerging Infectious Diseases*, 11(10), pp.1604–1606.

MATTHEW D., EBERTS DINIZ PP ., BEALL MJ., DVM., BRETT A.,STILLMAN., CHANDRASHEKAR R., EDWARD B. BREITSCHWERDT EB., 2011: Typical and Atypical Manifestations of *Anaplasma phagocytophilum* Infection in Dogs, by American Animal Hospital Association 47:e86–e94.

MAURIN M., BAKKEN JS., DUMLER JS., 2003: Antibiotic Susceptibilities of *Anaplasma (Ehrlichia) phagocytophilum* Strains from Various Geographic Areas in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(1), pp.413-415.

MAYER-SCHOLL A., AVERHOFF P., ZYCHLINSKY A., 2004: Current Opinon in Microbiology.7(1):62-6.

MOTT J., BARNEWALL RE., RIKIHISA, Y., 1999: Human granulocytic ehrlichiosis agent and *Ehrlichia chaffeensis* reside in different cytoplasmic compartments in HL-60 cells. *Infect Immun* **67**: 1368–1378.

MUNDERLOH UG., LYNCH M J., HERRON MJ., PALMER AT., KURTTI T., NELSON RD., GOODMAN JL., 2004: Infection of endothelial cells with *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum*. *Veterinary Microbiology* 101, 53–64.

NEELAKANTA G., SULTANA H., FISH D., ANDERSON JF., FIKRIG E., 2010: *Anaplasma phagocytophilum* induces *Ixodes scapularis* ticks to express an antifreeze glycoprotein gene that enhances their survival in the cold. *J Clin Invest.*; 120 (9) : 3179–3190

NODA H., MUNDERLOH UG., KURTTI TJ., 1997: Endosymbionts of ticks and their relationship to *Wolbachia* spp. and tick-borne pathogens of humans and animals. *Appl Environ Microbiol.*; 63 (10) : 3926 - 32.

PEDRA JHF., MATTNER J., TAO J., et al 2008: C-Jun NH2-Terminal Kinase 2 Inhibits Gamma Interferon Production during *Anaplasma phagocytophilum* Infection. *Infection and Immunity*, 76(1), pp.308-316.

POITOUT FM., CHABANNE L., 2004: Anaplasmose chez un chien. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire*, 16, pp.45-48.

POITOUT FM., SHINOZAKI JK., STOCKWELL PJ., et al 2005: Genetic Variants of *Anaplasma phagocytophilum* Infecting Dogs in Western Washington State. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(2), pp.796-801.

PUSTERLA N., WEBER R., WOLFENSBERGER C., SCHAR G., ZBINDEN R., FIERZ W., MADIGAN JE., DUMLER JS., LUTZ H., 1998: Serological evidence of human granulocytic ehrlichiosis in Switzerland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*;17: 207-209.

RIKIHISA Y., 2011: Mechanisms of obligatory intracellular infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Clinical Microbiology Reviv*;24(3):469-89.

RIKIHISA Y., 2010: *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis*: subversive manipulators of host cells. *Nat Rev Microbiol*;8: 328-339.

RUIZ-FONS F., FERNÁNDEZ-DE-MERA IG., ACEVEDO P., GORTÁZAR C., DE LA FUENTE J., 2012: Factors driving the abundance of *Ixodes ricinus* and the prevalence of zoonotic *I. ricinus*-borne pathogens in natural foci. *Appl Environ Microbiol* Jan 27.

RODJERS SJ, Morton RJ, BALDWIN CA.(1989) A serological survey of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia equi*, *Rickettsia rickettsii*, and *Borrelia burgdorferi* in dogs in Oklahoma. *J Vet Diagn Invest* 1:154–159.

SILAGHI C., GILLES J., HÖHLE M., FINGERLE V., JUST FT., PFISTER K., 2008: *Anaplasma phagocytophilum* infection in *Ixodes ricinus*, Bavaria, Germany. *Emerg Infect Dis*; 14 (6) : 972 - 974.

SILAGHI C., SKUBALLA J., THIEL C., PFISTER K., PETNEY T., PFÄFFLE M., TARASCHEWSKI H., PASSOS LM., 2012: The European hedgehog (*Erinaceus*

europaeus) - A suitable reservoir for variants of *Anaplasma phagocytophilum* ? *Ticks Tick Borne Dis*; 3 (1) : 49-54.

SKOTARCZAK B., ADAMSKA M., SUPRON M., 2004. Blood DNA analysis for Ehrlichia (*Anaplasma*) phagocytophila and Babesia spp. of dogs from northern Poland. *Acta Vet. Brno* 73, 347–351.

SNODGRASS DR., 1974: Studies on bovine petechial fever and ovine tickborne fever. PhD Thesis, University of Edinburgh

STAFFORD KC., MASSUNG RF., MAGNARELLI LA., IJDO JW., ANDERSON JF., 1999: Infection with agents of human granulocytic ehrlichiosis, Lyme disease, and babesiosis in wild white-footed mice in Connecticut. *J Clin Microbiol* 37, 2887–2892.

STRIK NI., ALLEMAN AR., BARBET AF., et al 2007 : Characterization of *Anaplasma phagocytophilum* Major Surface Protein 5 and the Extent of Its Cross-Reactivity with *A. marginale*. *Clinical and Vaccine Immunology*, 14(3), pp.262-268.

SUSAN EL., 2012:, Ehrlichiosis and Anaplasmosis in Dogs and Cats, PhD Courtesy of review.

TORINA A., VICENTE J., ALONGI A., SCIMECA S., TURLA R., NICOSIA S., DI MARCO V., CARACAPPA S., DE LA FUENTE J., 2007 : . Observed prevalence of tick-borne pathogens in domestic animals in Sicily, Italy during 2003–2005. *Zoonoses Public Health* 54, 8–15.

TOZON NA., PETROVEC M., AVSIC-ZUPANC T., 2003 : Clinical and Laboratory Features of the First Detected Cases of *A. phagocytophila* Infections in Dogs from Slovenia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 990, pp.424-428.

WALKER DH., DUMLER JS., 1996: Emergence of the ehrlichiosis as human health problems. *Emerging Infectious Diseases* 2, 1–16.

WOESE, C. R., Kandler, O. & Wheelis, M. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains *Archaea*, *Bacteria*, and *Eukarya*. *Proc Natl Acad Sci USA* **87**, 4576±4579 Wisburg

WOLDEHIWET Z., 1991: Lymphocyte subpopulations in peripheral blood of sheep experimentally infected with tick-borne fever. *Research in Veterinary Science* .Volume 51, Pages 40–43

WOLDEHIWET Z., SCOTT GR., 1982: Corticosteroid therapy of tick-borne fever. *Veterinary Record* 110, 151–152.

WEBSTER PJWIJ., CHICOINE LM., AND FIKRIG E., 1998: The agent of human granulocytic ehrlichiosis resides in an endosomal compartment. *J Clin Invest* **101**: 1932–1941

WEISBURG, W. G., DOBSON, M. E., SAMUEL, J. E. & 7 other authors (1989). Phylogenetic diversity of the *Rickettsiae*. *J Bacteriol* **171**,4202±4206.

الكلية الحبيبات الريبكتسيال, هي فاعوسيتوفيلوم قديم سببه بكتيريا - المنتمية الانبلاسماتيسا
الحبيبات الارلشيوز الخيل الارلشيوز ريق فاعوسيتوفيلوم قديم ارلشيا فاعوسيتوفيل تظهر الخلايا مصبنا
الارلشيوز يقوم وبثية سبرية (PCR) بيدي الاحيان التشخيص الحبيبية
الكلية العمومية, الحيواني المهم تحديد يساهم () الحيوانات مظهرتا تاثيرا اهتماما ميدان
يمثل نهاية هذا تحقيق شأنها خطيرة لها. بتقييم
الحبيبة الكلية هذا بتحقيق عينات 69 الاستشعاعية غير
بين مصابين عليها يبدو انه يوجد بين المصلية بالبكتيريا واعمارهم فصيلتهم حالتهم
الصحة لطفيبات الخارجية, 33.33% يتكون 12 هذا بين فاعوسيتوغيلوم فاعوسيتوغيلوم
وبوربلا بيغدورفيري - فاعوسيتوغيلوم - الاستشعاعية غير - فاعوسيتوغيلوم

Résumé

L'anaplasmose granulocytaire canine est une maladie émergente à travers le monde. Elle est causée par une bactérie Gram - appartenant au genre *Anaplasma* et à la famille des *Anaplasmataceae*. *Anaplasma phagocytophilum* est une bactérie intracellulaire obligatoire infectant principalement les granulocytes neutrophiles, transmise par les tiques dures *Ixodes ricinus*. Le chien infecté présentera le plus souvent un syndrome fébrile. Le diagnostic repose sur des arguments épidémio-cliniques et doit être confirmé par des méthodes directes (PCR, culture) et indirecte (sérologie). L'AGC est considérée comme une zoonose. Le chien contribuerait au cycle enzootique chez l'homme et présente donc un impact et un intérêt en santé public, il serait alors utile d'évaluer les zones qui seraient à risque et d'en faire une cartographie.

Ce projet de fin d'étude présente une investigation réalisée sur les échantillons sanguins de 69 chiens dans la région d'Alger, permettant ainsi d'évaluer la séroprévalence de L'anaplasmose granulocytaire canine en réalisant un test d'IFI. Les résultats sont en faveur d'une séroprévalence assez importante, près de quatre chiens sur dix seraient infectés ou auraient contracté la bactérie à un moment ou à un autre. Avec une prévalence de 37.8%, il semblerait à la lumière des résultats obtenus, qu'il n'y ait pas de relation entre le statut sérologique des chiens et leur âge, leur race ou leur état de santé ainsi que le portage d'ectoparasites. Par ailleurs, Notre travail nous a aussi permis de mettre en évidence l'existence d'une coïnfection *A. phagocytophilum* et *Borrelia burgdorferi* avec un taux de 33,33%, parmi un effectif de 12 chiens.

MOTS CLES : - *Anaplasma phagocytophilum*.– Chien-- IFI- sérums- Tiques.

Summary

The Canine Granulocytic Anaplasmosis is an emergent disease across the world due to Gram- bacteria of the *Anaplasma* Genus that belongs to the family of *Anaplasmataceae*, genospecies: *Anaplasma phagocytophilum* , Obligate intracellular bacteria, it infects mainly neutrophil granulocytes and it is a vector borne disease transmitted by hard ticks *Ixodes ricinus*.. Most of the time, the infected dog will present a febrile syndrome. The diagnosis is based on the epidemio-clinical arguments and confirmed by direct methods (PCR, culture) and indirect ones (serology). The canine granulocytic anaplasmosis is considered as a zoonosis, dogs contribute to the enzootic cycle in human therefore it represents an impact and a major interest in public health, it would be subservient to evaluate (measure) the extant of risk areas and to map them.

This project consists of an investigation realized on 69 blood samples of dogs through Algiers, permitting the evaluation of the Seroprevalence of canine Granulocytic Anaplasmosis, by carrying out indirect immunofluorescence antibody test (IFA). The results are in favor of an important seroprevalence, about four out of ten dogs would be infected or had contracted the bacteria at one time or another with a prevalence of 37.8%. According to the results it seems that there is no connection between the serological statues of dogs and their age, their breed state of health and the presence of ectoparasites. Moreover, our work permitted us to put into evidence the existence of a coinfection to *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in a population of 12 dogs with a prevalence of 33,33%.

Key words: *Anaplasma phagocytophilum* – Dog - IFA – Serum – tick.

:

الكليية الحبيبات سببه بكتيريا - المنتمية الانبلاسماتيسا , الريكتسيال, هي فاغوسيتوفيلوم قديما ارلشيا فاغوسيتوفيلو تظهر الخلايا, مصيبتا الحبيبات , ريق " " ايضا . الخيل الارلشيوز PCR (غير) الحيوانات مظهرتا تأثيرا . ييدي الاحيان التشخيص يقوم وبنية سيرية يساهم خطرية شانها المهم تحديد الحبيبة الكليية العمومية, اهتماما ميدان طريق .

يمثل نهاية هذا تحقيق عينات 69 بتقييم عليها يبدو انه يوجد هذا

الحبيبة الكليية هذا بتحقيق الاستشعاعية غير 37,8% لطفيبات الخارجية, يتكون 12

بين مصابين بالبكتيريا واعمارهم فصيلتهم حالتهم الصحية 33.33% يكون

بين المصلية فاغوسيتو غيلوم وبوريلا بيغدور فيري - الاستشعاعية غير

Résumé

L'anaplasmose granulocytaire canine est une maladie émergente à travers le monde. Elle est causée par une bactérie Gram - appartenant au genre *Anaplasma* et à la famille des *Anaplasmataceae*. *Anaplasma phagocytophilum* est une bactérie intracellulaire obligatoire infectant principalement les granulocytes neutrophiles, transmise par les tiques dures *Ixodes ricinus*. Le chien infecté présentera le plus souvent un syndrome fébrile. Le diagnostic repose sur des arguments épidémio-cliniques et doit être confirmé par des méthodes directes (PCR, culture) et indirecte (sérologie). L'AGC est considérée comme une zoonose. Le chien contribuerait au cycle enzootique chez l'homme et présente donc un impact et un intérêt en santé public, il serait alors utile d'évaluer les zones qui seraient à risque et d'en faire une cartographie.

Ce projet de fin d'étude présente une investigation réalisée sur les échantillons sanguins de 69 chiens dans la région d'Alger, permettant ainsi d'évaluer la séroprévalence de L'anaplasmose granulocytaire canine en réalisant un test d'IFI. Les résultats sont en faveur d'une séroprévalence assez importante, près de quatre chiens sur dix seraient infectés ou auraient contracté la bactérie à un moment ou à un autre. Avec une prévalence de 37.8%, il semblerait à la lumière des résultats obtenus, qu'il n'y ait pas de relation entre le statut sérologique des chiens et leur âge, leur race ou leur état de santé ainsi que le portage d'ectoparasites. Par ailleurs, Notre travail nous a aussi permis de mettre en évidence l'existence d'une coïnfection *A. phagocytophilum* et *Borrelia burgdorferi* avec un taux de 33,33%, parmi un effectif de 12 chiens.

MOTS CLES : - *Anaplasma phagocytophilum*.- Chien-- IFI- sérums- Tiques.

Summary

The Canine Granulocytic Anaplasmosis is an emergent disease across the world due to Gram- bacteria of the *Anaplasma* Genus that belongs to the family of *Anaplasmataceae*, genospecies: *Anaplasma phagocytophilum* , Obligate intracellular bacteria, it infects mainly neutrophil granulocytes and it is a vector borne disease transmitted by hard ticks *Ixodes ricinus*.. Most of the time, the infected dog will present a febrile syndrome. The diagnosis is based on the epidemio-clinical arguments and confirmed by direct methods (PCR, culture) and indirect ones (serology). The canine granulocytic anaplasmosis is considered as a zoonosis, dogs contribute to the enzootic cycle in human therefore it represents an impact and a major interest in public health, it would be subservient to evaluate (measure) the extant of risk areas and to map them.

This project consists of an investigation realized on 69 blood samples of dogs through Algiers, permitting the evaluation of the Seroprevalence of canine Granulocytic Anaplasmosis, by carrying out indirect immunofluorescence antibody test (IFA). The results are in favor of an important seroprevalence, about four out of ten dogs would be infected or had contracted the bacteria at one time or another with a prevalence of 37.8%. According to the results it seems that there is no connection between the serological statues of dogs and their age, their breed state of health and the presence of ectoparasites. Moreover, our work permitted us to put into evidence the existence of a coinfection to *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in a population of 12 dogs with a prevalence of 33,33%.

Key words: *Anaplasma phagocytophilum* – Dog - IFA – Serum – tick.