

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER

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

DEPISTAGE DE L'EHRlichiose MONOCYTAIRE CANINE
A L'ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE
-ALGER-

Présenté par : **Douidene Mostefa**
Handis Chihab
Ouali yahia

Le jury :

- . Président** Dr. Derdour S. Y.
- . Promoteur** Dr. Bentchikou T.
- . Examineur** Dr. Azzag N.
- . Examineur** Pr. Aissi M.

Année universitaire : 2013/2014

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre PROMOTEUR : Mr. Bentchikou T. qui a su nous conseiller, et nous guider tout le long de ce travail.

Nous sommes très reconnaissants envers les membres du jury:

Dr. Derdour Y. S. pour nous avoir honoré de présider le jury.

Dr. Azzag M. et Pr. Aïssi M. pour avoir accepté d'examiner notre mémoire.

Nos remerciements et notre gratitude, pour tous les professeurs de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

A nos familles qui nous ont toujours soutenus, pendant tout notre parcours

Résumé

L'ehrlichiose monocyttaire canine est une maladie infectieuse ubiquiste due à de petites bactéries intramonocytaires obligatoires (*Ehrlichia canis*), transmises principalement par la tique brune *Rhipicephalus sanguineus*. L'infection se manifeste par des signes cliniques non spécifiques, accompagnés de troubles hématologiques, qui ne peuvent orienter le vétérinaire que vers un diagnostic de présomption.

Cette étude consiste à établir un dépistage de la maladie au niveau de l'Ecole National Supérieure Vétérinaire d'Alger, au moyen d'un diagnostic rapide basé sur la technique d'immunochromatographie, ainsi que la mise en évidence directe d'*E.canis* par un frottis sanguin.

Mots clés : *Ehrlichia canis*, ehrlichiose, chien, immunochromatographie

Abstract

Canine monocytic ehrlichiosis is an infectious worldwide disease caused by small obligatory intramonocytic bacterium (*Ehrlichia canis*), principally transmitted by the brown tick *Rhipicephalus sanguineus*. The infection is characterized non specific clinical signs with hematological disorders, which can only orient the veterinary practitioner towards a presumptive diagnosis.

This study is to develop a screening for the disease at the Higher National Veterinary School of Algiers, by the quick diagnosis using immunochromatography technique, thus the direct highlighting of *E.canis* in a blood smear.

Keywords: *Ehrlichia canis*, ehrlichiosis, dog, immunochromatography

ملخص

إرليكيوز الكلاب هو مرض معد يتواجد في كل أنحاء العالم تسببه بكتيريا صغيرة التي تستلزم وجودها داخل الكريات الدموية البيضاء الأحادية. يتم إنتقال هذا المرض عن طريق القراد البني. تتميز هذه العدوى عن طريق علامات سريرية غير محددة مع اضطرابات دموية التي لا يمكن من خلالها أن يقوم البيطري بالتشخيص النهائي. هذه الدراسة تتمثل في الكشف عن هذا المرض على مستوى المدرسة الوطنية العليا للبيطرة بالجزائر بواسطة التشخيص السريع الذي يستند على طريقة الإيمنىوكروماتوغرافيا وكذلك عزل البكتيريا عن طريق شريحة دم.

الكلمات المفتاحية : الإرليكيوز, الكلاب , الإيمنىوكروماتوغرافيا

SOMMAIRE

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE :

ETUDE GENERALE DE L'EHRlichiose MONOCYTAIRE CANINE.....2

I.AGENT ETIOLOGIQUE.....3

I.1.Historique.....3

I.2.Classification et taxonomie.....4

I.3.Morphologie.....5

I.4.Cycle de développement.....7

II.EPIDEMIOLOGIE.....8

II.1.Agent vecteur : la tique *Rhipicephalus sanguineus*.....8

II.1.1.Morphologie.....8

II.1.2.Cycle.....8

II.1.3.Contamination de la tique par *E.canis*.....8

II.1.3.Transmission d'*E.canis*.....9

II.2.Espèces sensibles à *E.canis*.....9

II.3.Répartition géographique.....9

II.4.Distribution saisonnière.....9

III.POUVOIR PATHOGENE ET IMMUNOGENE.....10

III.1.Pathogénie.....10

III.1.1.Pathogénie des troubles hématologiques.....10

III.1.1.1.Troubles de l'hémostase primaire.....10

III.1.1.2.Anémie.....11

III.1.1.3.Modification de la formule leucocytaire.....11

III.1.2.Pathogénie des troubles biochimiques.....11

III.1.2.1. Protéines sériques.....11

III.1.2.2.Atteinte hépatorénale.....12

III.2.Immunité.....	12
IV.CLINIQUE.....	13
IV.1.Signes cliniques.....	13
IV.1.1.Forme aiguë.....	13
IV.1.2.Forme chronique.....	13
IV.2.Signes biologiques.....	15
IV.2.1.Signes hématologiques.....	15
IV.2.1.1.Forme aiguë.....	15
IV.2.1.2.Forme asymptomatique.....	15
IV.2.1.3.Forme chronique.....	15
IV.2.2.Signes biochimiques.....	16
IV.2.2.1.Forme aiguë.....	16
IV.2.2.2.Forme symptomatique.....	16
IV.2.2.3.Forme chronique.....	16
V.LESIONS.....	17
VI.DIAGNOSTIC.....	17
VI.1.Diagnostic clinique.....	17
VI.2.Diagnostic expérimental.....	18
VI.2.1.Diagnostic hématologique.....	18
VI.2.1.1.Bilan sanguin.....	18
VI.2.1.2.Électrophorèse.....	18
VI.2.2.Diagnostic cytologique.....	18
VI.2.2.1.Frottis sanguin.....	18
VI.2.2.2.Culture.....	19
VI.2.3.Diagnostic sérologique.....	19
VI.2.3.1.Immunofluorescence indirecte.....	19
VI.2.3.2.Elisa.....	19
VI.2.3.3.Western Blot.....	20
VI.2.3.4.Tests immunochromatographique.....	20

VI.2.4.Diagnostic moléculaire.....	20
VI.3.Diagnostic nécroscopique.....	21
VI.4.Diagnostic différentiel.....	21
VII.PRONOSTIC.....	21
VIII.TRAITEMENT.....	22
VIII.1.Traitement étiologique.....	22
VIII.1.1.Doxycycline.....	22
VIII.1.2.Oxytétracycline.....	22
VIII.1.3.Chloramphénicol.....	23
VIII.1.4.Enrofloxacin.....	23
VIII.1.5.Imidocarb.....	23
VIII.2.Traitement adjuvant.....	23
IX.PROPHYLAXIE.....	24
DEUXIEME PARTIE	
<u>ETUDE EXPERIMENTALE</u>.....	25
I.MATERIEL ET METHODES.....	26
I.1.Objectif de l'étude.....	26
I.2.Durée et lieu de l'étude.....	26
I.3.Déroulement général.....	26
I.4.Animaux.....	26
I.5.Matériels utilisés.....	27
I.5.1.Equipement.....	27
I.5.2.Consommables.....	27
I.6.Méthodes utilisées pour le diagnostic.....	27
I.6.1.Analyse sérologique.....	27
I.6.1.Mise en évidence direct de l'agent pathogène.....	28

II.RESULTATS.....	30
II.1.Analyses sérologiques.....	30
II.1.1.Evaluation des résultats selon la race.....	30
II.1.2.Evaluation des résultats l'âge.....	31
II.1.3.Evaluation des résultats selon le degré d'infestation aux tiques.....	32
II.2.Analyses cliniques.....	33
II.2.1.Symptômes.....	33
II.2.2.Frottis sanguin.....	33
III.DISCUSSION.....	34
III.1. A propos de la méthode utilisée.....	34
III.1.1.Tests rapides sérologiques.....	34
III.1.2.Frottis sanguin.....	34
III.2.A propos des résultats obtenus lors de l'analyse sérologique.....	35
III.2.1.Résultats obtenus selon la race.....	35
III.2.2.Résultats obtenus selon l'âge.....	35
III.2.3.Résultats obtenus selon le degré d'infestation aux tiques.....	35
III.3.A propos des résultats de l'analyse clinique.....	35
CONCLUSION.....	36
BIBLIOGRAPHIE.....	37
ANNEXES.....	41

TABLE DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

Figure 1- Ancienne classification des bactéries de l'ordre des rickettsiales.....	4
Figure 2- Nouvelle classification des bactéries de l'ordre des rickettsiales.....	5
Figure 3- Morula d' <i>Ehrlichia canis</i> dans un monocyte.....	6
Figure 4- Corps d'inclusions dans le cytoplasme d'un lymphocyte.....	6
Figure 5- Cycle d' <i>Ehrlichia canis</i> dans un monocyte.....	7
Figure 6- Quelques manifestations cliniques de l'ehrlichiose monocyttaire canine à <i>E.canis</i>	14
Figure 7- Les différentes étapes de la réalisation d'un frottis sanguin.....	29
Figure 8- Nombre de chiens séropositifs au test Speed®ehrli.....	30
Figure 9- Répartition des cas séropositifs selon la race.....	31
Figure 10- Nombres des chiens séropositifs et séronégatifs selon l'âge.....	32
Figure 11- Répartition des chiens séropositifs selon le degré d'infestation aux tiques.....	33

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I- Nombre de cas séropositifs et séronégatifs selon la race.....	31
Tableau II- Nombre des chiens séropositifs et séronégatifs selon le degré d'infestation.....	32
Aux tiques	

Introduction :

La découverte en Algérie en 1935 d'une bactérie ressemblant à une *Rickettsia*, responsable d'un syndrome fébrile chez le chien a marqué le début des recherches sur les ehrlichioses.

L'ehrlichiose monocyttaire canine est une maladie systémique, transmise par la tique brune *Rhipicephalus sanguineus*, avec une distribution mondiale. Elle est rencontrée en Afrique, en Europe, en Asie du sud, en Inde et aux Etats-Unis.

Ainsi, notre travail tentera de présenter, dans une première partie, la maladie dans sa globalité, par la suite, nous présenterons les résultats de notre étude expérimentale, qui a permis de faire un dépistage de l'ehrlichiose monocyttaire canine, au sein de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger à l'aide d'un kit de diagnostic rapide Speed®ehrli et complété par un frottis sanguin.

PREMIERE PARTIE

ETUDE GENERALE **DE L'EHRlichIOSE MONOCYTAIRE** **CANINE**

I. AGENT ETIOLOGIQUE

L'ehrlichiose est une maladie systémique, transmise par les tiques, et provoquée par divers espèces de rickettsies du genre Ehrlichia.

On connaît plusieurs espèces d'ehrlichia qui infectent le chien, mais *E.canis* provoque la forme la plus fréquente de la maladie chez le chien, l'ehrlichiose monocyttaire canine.

I.1.Historique

L'histoire des ehrlichioses débute avec la découverte en 1935 en Algérie, par Donatien et Lestoquard d'une bactérie avec des caractères en commun avec les rickettsies (*Donatien et Lestoquard, 1935*).

En 1937, ces mêmes auteurs l'ont distinguée de *Rickettsia conori*, et ont identifié la tique *Rhipicephalus sanguineus* comme vecteur de l'infection, et montrent que des chiens de Marseille et Montpellier sont également infectés (*Donatien et Lestoquard, 1937*). Dix ans plus tard, le nom de genre Ehrlichia lui est donné en l'honneur de Paul Ehrlich (*Dumler et al.2001*).

Par la suite, l'infection a été identifiée en Afrique, en Inde, au Moyen-Orient, aux Antilles puis en 1962 aux Etats-Unis d'Amérique (*Ewing, 1963*) et dans cette même année, en Tunisie un syndrome hémorragique atteignant des chiens des chenils militaires est observé par des vétérinaires (*Bobin et al. 1962*) et sera plus tard associé à l'ehrlichiose canine (*Chabassol et Michel, 1972*).

Au début des années 1970, apparaît une grande épizootie particulièrement meurtrières sur les chiens militaires américains stationnés au Viêt-Nam, les auteurs la nomment la pancytopenie tropicale canine (*Huxsoll et al.1970*). En 1971, la technique de culture in vitro d'*Ehrlichia canis* est mise au point (*Nyindo et al.1971*) et dès 1972 un test sérologique par immunofluorescence indirecte est disponible.

En 1986, un cas d'ehrlichiose humaine est décrit aux Etats-Unis. On a d'abord supposé que l'agent en cause était Ehrlichia canis (*Maeda et al. 1987*) avant que l'agent de l'ehrlichiose monocyttaire humaine, *Ehrlichia chaffeensis*, ne soit identifié en 1991 (*Anderson et al.1991*).

Dans le même temps, d'autres ehrlichioses vétérinaires ont pu être mise en évidence, causées par des espèces bactériennes proche d'*Ehrlichia canis* mais avec un tropisme cellulaire variable (monocytes, granulocytes ou thrombocytes), associée au développement de nouvelles techniques de biologie moléculaire, ont mené à de nombreuses découvertes sur ces organismes. En 2001, une nouvelle classification a été établie.

I.2. Classification et Taxonomie

Avant 2001, on considérait que le genre *Ehrlichia* appartenait à la tribu des Ehrlichieae, qui faisait elle-même partie de la famille des Rickettsiaceae de l'ordre des Rickettsiales.

L'ordre des Rickettsiales comprenait initialement toutes les bactéries intra-cellulaires dont les actuelles *Chlamydia* furent séparés secondairement, il comprend trois familles, les Rickettsiaceae, Bartonellaceae et les Anaplasmaceae (Rikihisa, 1991) (Figure1).

L'application des outils de phylogénie moléculaire au monde des rickettsies a apporté une nouvelle vision de la taxonomie des genres rickettsiens. Ce sont principalement les gènes de l'ARN ribosomal 16S et le gène de la protéine de choc thermique GroESL qui ont été étudiés.

Ces études ont permis plus récemment d'établir une nouvelle classification et une nouvelle nomenclature proposée par l'équipe de Dulmer (Figure 2). Les auteurs proposent que les tribus des Ehrlichieae et Wolbachieae sont déplacées dans la famille des Anaplasmataceae, toujours parmi l'ordre des Rickettsiales. Seuls les Rickettsieae demeurent dans la famille des Rickettsiaceae (Dumler *et al.* 2001). Les Ehrlichieae font ainsi partie du sous-groupe alpha 1 des proteobactéries, de l'ordre des Rickettsiales et de la famille des Anaplasmataceae (Raoult *et Brouqui*, 1998).

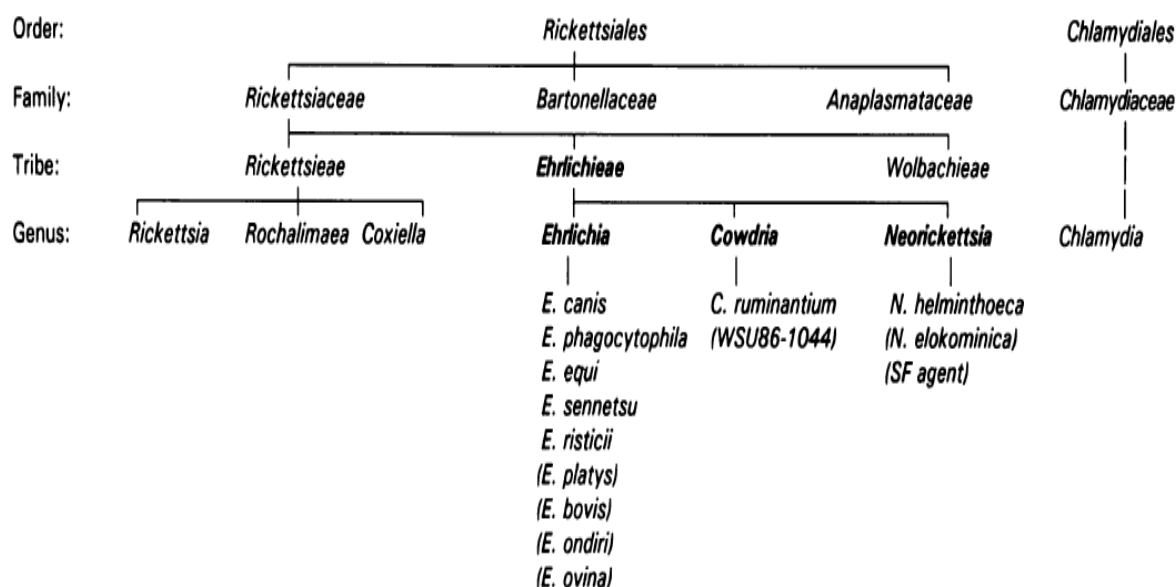


Figure 1. Ancienne classification des bactéries de l'ordre des rickettsiales (Rikihisa, 1991).

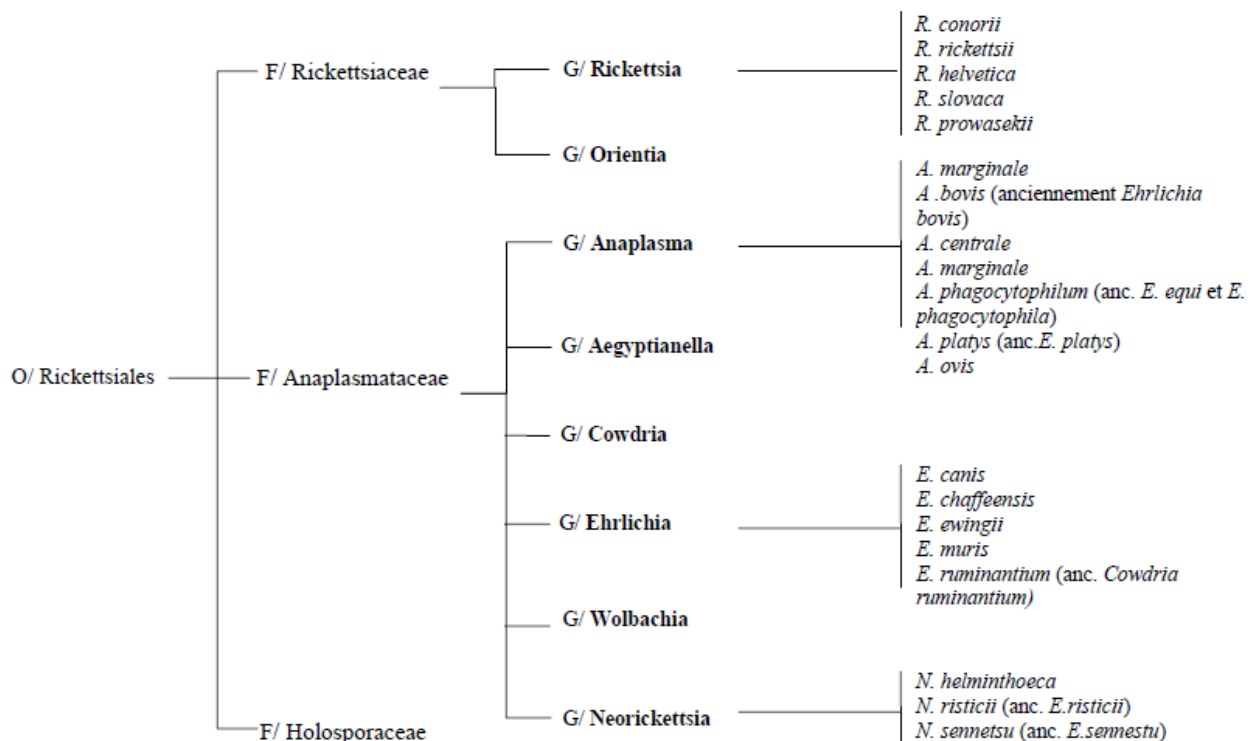


Figure 2. Nouvelle classification des bactéries de l'ordre des rickettsiales (Garritty et al.2003)

I.3. Morphologie

Les ehrlichieae sont des bactéries gram négatif intracellulaires obligatoires visibles en microscopie optique, elles se présentent sous la forme de petites cocci –environ 0.5µm- et présentent dans le cytoplasme a l'intérieur d'une membrane parasitophore issue de la cellule hôte.

Elles prennent une coloration basophile bleu foncée à mauve avec une coloration de type Romanowsky et rouge pale avec une coloration de Macchiavello. Ces bactéries sont généralement rondes à ellipsoïdes, mais sont souvent pléomorphes en culture (Rikihisa, 1991).

Ces bactéries sont visibles au microscope optique après coloration de May-Grunwald Giemsa (figure3) ou coloration rapide (Diff-Quick®) (figure4), sous forme d'inclusion cytoplasmique rouge, lilas ou bleu foncée selon le stade de développement de la bactérie (Nyindo, 1971).

En microscopie électronique, l'agent infectieux se présente sous forme d'un ou plusieurs corps élémentaires, plus ou moins étroitement agglomérés, entourés par la membrane simple d'une vacuole. Chaque corps élémentaire est délimité par deux membranes trilamellaires et contient un nucléide, ainsi que des granules semblables à des ribosomes (Simpson, 1972).



Figure 3. Morula d'*Ehrlichia canis* dans un monocyte (Drouffe, 2007)



Figure 4. Corps d'inclusion (flèche) dans le cytoplasme d'un lymphocyte
(Diff-Quick, $\times 100$) (Beaufils et al.2002)

I.4.Cycle de developpement

Ehrlichia canis est aujourd'hui considérée comme le modèle des *Ehrlichia*. Son cycle, représentatif des ehrlichioses, comporte trois stades de développement: le corps élémentaire, le corps initial ou réticulé et la morula (figure 5). Le cycle commence par la pénétration d'un corps élémentaire dans la cellule par phagocytose. Celui-ci se multiplie par division binaire pendant deux jours pour atteindre une taille de 0.2 à 0.6µm, les corps élémentaires se regroupent pour former un corps initial dont la taille varie de 0.4 à 2µm. Les corps initiaux s'agglomèrent ensuite pour former en trois à cinq jours une morula. Celle-ci est délimitée par une vacuole et peut contenir de 2 à 40 corps élémentaires (*Davoust, 1993*).

Les bactéries se multiplient dans la vésicule de phagocytose par inhibition de la fusion phagolysosomiale. Ce mécanisme est lié à l'activité métabolique de la bactérie (*Davoust et Prazy, 1995*). Le contenu de la vacuole de la phagocytose est libérée par éclatement du phagosome.

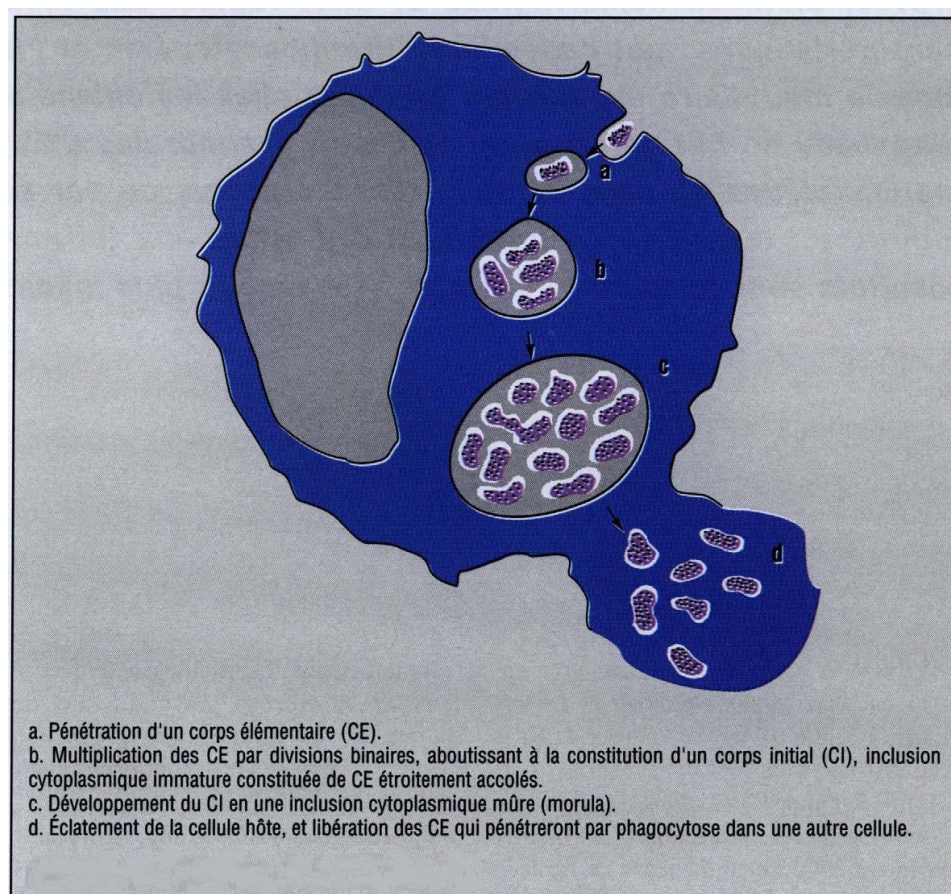


Figure 5. Cycle d'*Ehrlichia canis* dans un monocyte (*Beaufils, 1997*)

II .EPIDEMIOLOGIE

II.1.Agent vecteur : la tique Rhipicephalus sanguineus

II.1.1.Morphologie

La tique brune du chien *Rhipicephalus sanguineus* appartient a la famille des Ixodidae.Le corps a l'état adulte de cette famille présente en face dorsale un écusson chitinisé appelé scutum qui comporte parfois plusieurs sillons a sa surface.Chez le male, le scutum recouvre entièrement la face dorsale et limite ainsi la quantité de sang ingérée,alors que la femelle présente un scutum plus petit et son corps peut alors se distendre de façon plus importante lors de la réplétion (*Bourdeau, 1993*).

II.1.2.Cycle

Le cycle de *Rhipicephalus sanguineus* est **hétéroxène** car il nécessite trois hôtes différents (trixènes) avec une nette préférence pour le chien.

Il comporte quatre stades évolutifs : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte.Le cycle de vie est long d'une durée totale de quelques mois a plusieurs années (*Bourdeau, 1993*).La rapidité du cycle dépend de facteurs climatiques (température, hygrométrie) et de l'accès a l'hôte.

II.1.3.Contamination de la tique par E.canis

La contamination de la tique par *E.canis* se produit lors d'un repas sanguin sur un animal contaminé.

Les bactéries se retrouvent dans l'intestin moyen de la tique, celui-ci étant conservé au cours des mues successives, il va permettre ainsi la persistance des bactéries aux différents stades de développement.Ce mécanisme est appelé « **Transmission trans-stadiale** » (*Davoust, 1993*).

Il faut noter que la transmission de l'agent pathogène a la progéniture n'a pas été mise en évidence, cependant il a été montré que la tique peut abriter l'organisme jusqu'à **155** jours et donc la survie de la bactérie dans la tique pendant l'hiver jusqu'au printemps suivant (*Lewis et al.1997*).

II.1.4. Transmission d'*E.canis*

La tique inocule les bactéries de *E.canis* via sa salive a la fin du gorgement rapide, lorsque les sécrétions salivaires sont les plus importantes (Bourdeau, 1993). En général l'agent infectieux n'est transmis a l'hôte qu'après une durée minimum d'attachement, environ 30heurs (Sauger, 2005).

Bien que la transmission vectorielle représente l'immense majorité des cas, il faut noter que la transfusion sanguine et également un mode de contamination possible (Beaufils, 1997).

II.2. Espèces sensibles a *Ehrlichia canis*

L'ehrlichiose a *E.canis* infecte le chien, ainsi que d'autres canidés sauvages (loups, chacals, renards, coyotes..). Un organisme morphologiquement et sérologiquement proche a été décrit occasionnellement chez le chat (Beaufils, 1997).

Chez le chien, il n'existe aucune prédisposition de sexe ou d'âge, selon les différentes études rétrospectives effectuées. Toutefois, la forme et la sévérité de la maladie sont différentes selon la race des individus. Le Berger Allemand semble plus sensible a l'infection, cela est due a un déficit de l'immunité a médiation cellulaire dans cette race (Nyindo et al. 1980).

II.3. Répartition géographique

La distribution géographique de l'ehrlichiose canine correspond a celle de son vecteur *Rhipicephalus sanguineus*. Ainsi, on retrouve *E.canis* dans les zones comprises entre 50° de latitude nord et 35° de latitude sud (Davoust, 1993). On la retrouve sur les continents américain, africain, asie du sud-est, et spécialement sur le pourtour méditerranéen. L'Australie semble etre indemne (Neer et Harrus, 2006).

II.4. Distribution saisonnière

Dans les pays tempérés, les cas d'ehrlichiose s'observent toute l'année, avec un pic des cas cliniques durant la saison chaude, de la fin du printemps au début d'automne, période pendant laquelle l'activité du vecteur est maximale (Davoust, 1993).

III. POUVOIR PATHOGENE ET IMMUNOGENE :

III.1. Pathogénie :

III.1.1. Pathogénie des troubles hématologiques:

III.1.1.1. Troubles de l'hémostase primaire :

III.1.1.1.1. Vascularite :

Cette vascularite, est liée à l'interaction des cellules infectées avec les cellules endothéliales. Ces lésions sont responsables des principales observations cliniques, variable selon les organes atteints (*Martin, 2004*).

III.1.1.1.2. Thrombopénie :

Les mécanismes de la thrombopénie lors de la forme aiguë ne sont pas encore totalement élucidés, elle semble être plurifactorielle. Les principales hypothèses sont une consommation accrue due à une vascularite généralement observée, une séquestration splénique, une destruction à médiation immune, et toutes sortes de dommages entraînent une moindre durée de vie des plaquettes (*Harrus et al. 2011*).

Lors de la forme chronique, c'est une hypoplasie médullaire qu'est responsable de la thrombopénie. Compte tenu du renouvellement quotidien important du pool plaquettaire et la faible durée de vie des plaquettes, la thrombopénie survient rapidement et elle est durable (*Davoust et al.1996*). On ne connaît pas encore le mécanisme de cette hypoplasie, mais des mécanismes à médiation immune sont encore une fois évoqués.

III.1.1.1.3. Thrombopathie :

Une thrombopathie est également constatée et expliquerait, conjointement avec la thrombopénie, la tendance aux saignements observée. Des auteurs ont montré, dès 1980 qu'il existait une diminution de l'adhésion plaquettaire lors de l'ehrlichiose aiguë (*Lovering et al. 1980*). Des observations ont révélé qu'un facteur soluble appelé PMIF (Platelet Migration Inhibiting Factor) empêchait la formation de pseudopodes. Les plaquettes ainsi affectés s'arrondissent et ne peuvent alors s'agglutiner (*Kakoma et al.1980*).

III.1.1.2. Anémie :

Lors de la forme aigue de l'ehrlichiose, l'anémie est inconstante. Elle est due à une hémolyse intra vasculaire. On suppose que le mécanisme responsable de cette destruction soit encore une fois à médiation immune, les anticorps dirigés contre *E.canis* se fixeraient à la membrane des globules rouges, entrainant leur lyse par les cellules effectrices du système immunitaire (*Davoust et al.1996*).

Lors de la forme chronique, l'anémie rencontrée est arégénérative, d'origine centrale, liée à l'hypoplasie médullaire. On a également très tôt évoqué la possibilité de mécanismes à médiation immune comme cause de cette anémie (*Buhles et al. 1975*).

III.1.1.3. Modification de la formule leucocytaire :

On observe une leucopénie suivie d'une leucocytose. L'origine supposée de cette leucopénie est une réaction à médiation immune puisqu'elle est concomitante de la thrombopénie. Une autre origine serait une margination des leucocytes dans le système vasculaire (*Kakoma et al. 1980*). La leucocytose lui succédant est un signe de l'inflammation. Lors d'une atteinte médullaire, cela entraine une leucopénie modérée à sévère.

III.1.2. Pathogénie des troubles biochimiques :

III.1.2.1. Protéines sériques :

L'**hypoalbuminémie** constatée peut être due à une fuite rénale d'albumine (albuminurie sans lésions rénales notables associées) observée au début de la maladie. Mais l'atteinte hépatique (infiltration plasmocytaire périvasculaire) ainsi que les saignements, l'exsudation et l'anorexie transitoire constituent également des causes possibles.

Certains auteurs pensent également qu'elle est purement physiologique : Le taux d'albumine est en partie régulé par la pression oncotique. Une augmentation de cette dernière, suite à la synthèse massive de globuline (alpha-2, beta et gammaglobulines) observée durant le début de la maladie entrainerait, par compensation, une diminution de la synthèse hépatique d'albumine. Cela permettrait d'éviter l'apparition d'une hyperviscosité sanguine (*Harrus et al. 1996*).

L'augmentation des **alpha2-globulines** est la conséquence de la synthèse hépatique de protéines de l'inflammation. La production précoce d'**IgM** et d'**IgA** explique la montée rapide du bloc des **beta2-globulines**. Cette importance du bloc bêta-2 s'atténue chez les animaux pancytopeniques. L'augmentation des gammaglobulines correspond notamment à la production d'immunoglobulines G. On peut penser qu'une stimulation antigénique prolongée entraîne une plasmocytose, qu'est responsable d'une production exagérée et inappropriée d'**IgG**, comme cela est observé dans d'autres maladies chroniques avec une stimulation antigénique importante et prolongée (*Harrus et al. 1996*).

Une baisse des globulines, et notamment des gammaglobulines, est observée en phase finale de la forme chronique grave, suggérant une baisse de l'état d'immunité de l'animal (*Harrus et al. 1997*).

III.1.2.2. Atteinte hépato-rénale :

L'atteinte hépatique comme l'atteinte rénale sont liées à une infiltration lympho-plasmocytaire interstitielle que l'on retrouve dans le tableau lésionnel. Lors de chronique compliquée, il est possible également d'observer une glomérulonéphrite, vraisemblablement liée au dépôt de complexes immuns circulant (*Cohn, 2003*).

III.2. Immunité :

La cinétique des anticorps a été étudiée suite à l'infection expérimentale (*Weisiger, 1975*). Les **IgA** et **IgM** apparaissent dès le septième jour après l'infection. Les **IgG** sont présentes dès le 14^{ème} jour et atteignent leur concentration maximale vers le 80^{ème} jour. Même dans les cas où l'on parvient à éliminer totalement les bactéries (PCR négatif), les anticorps persistent plusieurs mois. Ces anticorps ne sont pas protecteurs et témoignent seulement de l'infection. En effet, les chiens séropositifs peuvent être réinfectés et présenter à nouveau des signes cliniques. Cependant, *in vitro*, le sérum de chiens infectés inhibe la croissance d'*Ehrlichia canis* dans les monocytes canins (*Davoust, 1993*). L'immunité que développe un animal suite à l'infection a donc une part humorale, mais aussi cellulaire. C'est la combinaison des deux qu'est à l'origine de l'équilibre défenses hôte-bactéries en phase subclinique. L'immunité cellulaire semble avoir un rôle majeur. En effet, les Bergers Allemands ont une immunité cellulaire plus faible que d'autres races alors que leur réponse humorale semble équivalente. Et cette race semble non seulement plus sensible à l'infection par *Ehrlichia canis*, mais aussi elle est plus marquée avec en particulier une tendance à la pancytopenie tropicale canine (*Neer et Harrus, 2006*).

IV. CLINIQUE :

IV.1. Signes cliniques :

IV.1.1. Forme aigue :

Après une période d'incubation de 8 a 20 jours, la forme aigue de l'ehrlichiose canine se manifeste par des signes cliniques peu spécifiques qui peuvent durer de quelques jours a quelques semaines (*Davoust, 1993*).

Les principaux symptômes rencontrés sont souvent bénigns, et se caractérisent par des signes généraux tels qu'une hyperthermie brutale (39.5°C a 41.5°C) (*Davoust et al. 1996*), anorexie, apathie, et amaigrissement (*Davoust, 1993*). D'autres signes apparaissent moins fréquemment tel que un jetage oculo-nasal, une dyspnée, des vomissements ou encore des signes hémorragiques liés au déficit plaquettaire qui peuvent se manifester sous formes de pétéchies ou des ecchymoses au niveau cutané ou muqueux, une épistaxis est parfois observée (*Khallaayoune et al. 2002*). L'hyperthermie est rencontrée dans 95% des cas (*Davoust et al. 1996*) et c'est le signe clinique le plus constant dans la forme aigüe.

Certains animaux ont des signes très discrets qui passent inaperçus et d'autres peuvent avoir une forme aigue sévère qui se manifeste par une atteinte hépato-splénique grave (*Davoust et al.1991*).

IV.1.2. Forme chronique :

Après la forme aigue et même en absence de traitement, les symptômes peuvent s'atténuer et l'animal reprend du poids, mais la bactérie persiste, en particulier dans les monocytes spléniques (*Cohn, 2003*). Si la réaction immunitaire de l'hôte est suffisante, l'animal devient porteur asymptomatique et cela pourra durer plusieurs années, voire toute la vie de l'animal. Au contraire, si les défenses sont insuffisantes ou lors d'immunodépression, l'animal développe la forme chronique avec des signes cliniques semblables a ceux de la forme aigue mais plus accentués. Parfois cette forme chronique prend une forme sévère très grave, dont les symptômes sont un amaigrissement accompagné d'une splénomégalie et parfois d'une hépatomégalie. La fièvre est inconstante a la forme chronique (*Lappin, 1997*).

La tendance aux saignements est un signe clinique fréquemment retrouvé, il concerne 25 a 60% des cas (*Cohn, 2003*), on observe : une épistaxis, des ecchymoses, un méléna, une hématurie, des pétéchies, des hémorragies rétinienes et cérébrales..

Sur le plan locomoteur il peut y'avoir des boiteries et des douleurs articulaires dues a une hémarthrose ou a une polyarthrite d'origine immunitaire (*Neer et Harrus, 2006*).

Les yeux peuvent etre le siège de nombreuses lésions. Il peut y'avoir une uveite, une kératoconjunctivite, des hémorragies réiniennes, un décollement de la rétine..(*Kommenou et al. 2007*).

Des anomalies pulmonaires sont parfois rapportés, ces anomalies peuvent etre une polypnée, des bruits respiratoires augmentés, voire une dyspnée.

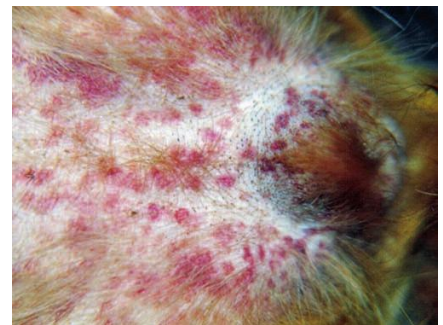
Certains animaux présentent des signes cutanés, tels qu'une pyodermite, probablement secondaire a l'immunodépression (*Carlotti et Bensignor, 1996*).

Des signes neurologiques sont aussi possibles, et peuvent etre attribués a des hémorragies ou a l'infiltration des cellules mononuclées dans les tissus du SNC. Ils sont donc très variés : ataxie, convulsion, stupeur, nystagmus.. (*Davoust, 2001*)

Enfin, le tableau clinique est très souvent enrichi et aggravé par des surinfections bactériennes et parfois des co-infections avec d'autres affections vectorielles.



Pétéchies sur muqueuse buccale



Pétéchies cutanés



Hémorragie sclérale



Epistaxis

Figure 6. Quelques manifestations cliniques de l'ehrlichiose monocyttaire canine a *E.canis* (*Harrus et al. 2011*).

IV.2. Signes biologiques :

IV.2.1. Signes hématologiques :

IV.2.1.1. Forme aigue :

On observe une thrombopénie modérée (30.10^6 plaquettes/ml en moyenne) (*Dvoust et al.1996*), certains chiens peuvent présenter une numération plaquettaire normale, avec toutefois des signes cliniques d'hémorragies liés a un défaut de fonctionnement plaquettaires. Les temps de coagulation sont normaux, et le temps de saignement est augmenté (*Davoust, 1993*).

On rencontre également une anémie dans certains cas (*Davoust et al. 1996*), souvent légère secondaire aux hémorragies, et sans répercussion clinique. Dans de rares cas, il s'agit d'une anémie hémolytique, avec comme conséquence un ictère et une hémoglobinurie (*Davoust et al. 1996*).

Par ailleurs, la numération leucocytaire est souvent modifiée, on observe soit une leucocytose (10.5%), soit une leucopénie (42.1%) (*Davoust et al. 1996*). La moelle osseuse est souvent hyperplasique (*Cohn, 2003*).

IV.2.1.2. Forme asymptomatique :

On note généralement une thrombopénie, une neutropénie peut être aussi observée (*Harrus et al. 1997*). Le myélogramme se révèle généralement normal (*Buhles et al.1975*).

IV.2.1.3. Forme chronique :

Ils sont principalement dus a une hypoplasie voire une aplasie médullaire. On observe donc une pancytopénie a savoir :

- Une thrombopénie d'origine centrale, due a une atteinte de mégacaryocytes.
- Une anémie arégénérative due a la raréfaction des cellules souches hématopoitiques.
- Une leucopénie.

La baisse des mégacaryocytes et des précurseurs granulocytaires est visible sur le myélogramme des 6 a 8 semaines après une infection expérimentale chez des Bergers Allemands développant la forme chronique sévère (*Buhles et al. 1975*).

Le test de coombs est positif dans un certain nombre de cas d'ehrlichioses chroniques. La destruction a médiation immune et les saignements chroniques participent donc également a la pathogénie de l'anémie (*Brouqui et al. 1992*).

IV.2.2. Signes biochimiques :

IV.2.2.1. Forme aigue :

Il est fréquemment rapporté une augmentation des enzymes hépatiques circulantes : les phosphatases alcalines (PAL) et les transaminases (ALAT) (*Davoust, 1993*), ce qu'est la conséquence de lésions infiltratives du foie.

On note des modifications des protéines sériques et du profil électrophorétique. Dans les premiers temps de l'infection, on peut voir une diminution des protéines totales, due à une hypoalbuminémie et une hyperglobulinémie relative (*Kakoma et al. 1980*). Lors d'infection expérimentale, un pic en beta-gamma est visible des 19 jours après inoculation et la gammaglobulinémie augmente très rapidement (*Davoust et al. 1991*).

IV.2.2.2. Forme asymptomatique :

Si on fait des analyses, on s'aperçoit que l'animal n'est pas guéri. En effet, les anomalies protéiques sont toujours présentes : hypoalbuminémie et hyperglobulinémie. Le profil d'électrophorèse montre une hypergammaglobulinémie (*Ghorbel et al. 1993*).

IV.2.2.3. Forme chronique :

On constate fréquemment une augmentation des enzymes hépatiques : phosphatase alcaline (PAL), lactate déshydrogénase (LDH) et les transaminases (ALAT), parfois accompagnées d'une hyperbilirubinémie modérée.

Une protéinurie est parfois constatée, avec ou sans élévation de l'urémie et de la créatininémie. L'électrophorèse des protéines sériques permet de mettre en évidence une hyperprotéinémie (>80g/l), marquée par une augmentation des fractions alpha-2, beta et gamma (*Burhgen et al. 1971*).

V. LÉSIONS :

Elles varient selon la forme de la maladie et selon sa gravité. On observe globalement des lésions de type pétéchies et echymoses, une hyperplasie réticulo-endothéliale généralisée accompagnée d'un œdème des organes concernés.

Du point de vue histologique, on observe le plus souvent une infiltration plasmocytaire perivascularaire concernant divers organes dont les méninges, les reins, les poumons, le foie, la rate, la moelle osseuse et les nœuds lymphatiques (*Hildebrandt et al. 1973*).

Des lésions précoces de phlébite et de vasculite sont souvent observées dans les reins, suivies d'une infiltration lympho-plasmocytaire. Les poumons sont d'abord le siège de lésions de pneumonie interstitielle, puis de lésions hémorragiques et infiltratives interstitielles et péri-bronchiques. La rate présente généralement une hyperplasie réticulo-endothéliale et une infiltration lympho-plasmocytaire. Enfin, dans le foie, une infiltration d'intensité variable par des macrophages, des lymphocytes ou encore des plasmocytes peut être observée au niveau de la triade porte. On note également parfois des dépôts d'hémosidérine dans le foie et la rate (*Davoust et al. 1991*).

C'est dans les poumons, la rate et les nœuds (ganglions) lymphatique des chiens atteints expérimentalement que l'on retrouve le plus grand nombre de morulae. Au niveau des poumons, les germes peuvent être mis en évidence dans les macrophages alvéolaires (*Rikihisa, 1991*).

VI. DIAGNOSTIC :

VI.1. Diagnostic clinique :

Il n'existe pas de signes cliniques pathognomoniques de l'ehrlichiose monocyttaire chez le chien. Cependant des symptômes non spécifiques (amaigrissement, fièvre, épistaxis..) ainsi qu'un commémoratif qui indique la présence de tiques et d'autres facteurs épidémiologiques de l'ehrlichiose, comme nous l'avons vu précédemment, peuvent évoquer un signe d'appel qui exige plus d'investigation de recherche afin de confirmer le diagnostic.

VI.2. Diagnostic expérimental :

VI.2.1. Diagnostic hématologiques :

VI.2.1.1. Bilan sanguin :

Il s'agit d'un diagnostic indirect et non spécifique. Un bilan sanguin qui conclut à une pancytopenie, avec leucopénie, anémie (de nature variable selon le stade de la maladie) et surtout une thrombopénie est un support de suspicion qui doit cependant être complété d'un diagnostic direct.

VI.2.1.2. Électrophorèse des protéines :

L'électrophorèse des protéines est un examen qui permet une bonne orientation dans le diagnostic. On observe fréquemment une hyperimmunoglobulinémie, associée à une élévation des fractions bêta et alpha-2. Une hypoalbuminémie est souvent présente. Mais ces modifications apparaissent parfois après les premiers signes cliniques de la forme aiguë, donc une électrophorèse normale n'est pas un critère d'exclusion.

VI.2.2. Diagnostic cytologique :

VI.2.2.1. Frottis sanguin :

L'observation des Ehrlichia sous forme d'inclusions intracytoplasmiques dans les cellules mononuclées du frottis sanguin permet un diagnostic de certitude (*Beaufils et al. 1995*). Les résultats sont meilleurs sur frottis sanguins périphériques que sur frottis sanguin veineux classique (*Neer et Harrus, 2006*). Ces inclusions peuvent aussi être mises en évidence sur étalement de ponction de moelle osseuse ou calque d'organe (*Elias, 1991*). On utilise préférentiellement la coloration de May Grönwald et Giemsa qui fait apparaître les morulas sous forme d'inclusions intracytoplasmiques de couleur rose à pourpre dans les monocytes (de couleur toujours différente de celle du noyau). La coloration rapide de type Diff quick est aussi utilisable (*Davoust, 1993*).

Un frottis sanguin avec absence de morulas ne permet pas du tout d'exclure l'ehrlichiose. En effet, les morulas sont visibles seulement durant un intervalle de temps très réduit, pendant la forme aiguë uniquement. De plus, tous les monocytes ne sont pas infectés, ainsi que la proportion des cellules mononuclées présentes dans le sang est faible.

VI.2.2.2. Culture :

La mise en culture est le moyen de diagnostic le plus sensible. On met en culture la phase leucocytaire du serum sur des milieux cellulaires spécifiques. Cette technique permet de détecter la présence d'*Ehrlichia canis* dès le deuxième jour suivant l'infection (Iqbal, 1994).

Cependant, étant donné son coût très élevé et les délais longs (au minimum deux semaines), cette technique n'est pas utilisée en pratique aujourd'hui, et demeure uniquement un outil de recherche.

VI.2.3. Diagnostic sérologique :

VI.2.3.1. Immunofluorescence indirecte :

Elle reste aujourd'hui la technique sérologique de référence. Elle a été mise en place depuis 1972. Après dilution, le sérum de l'animal est mis en contact avec l'antigène *E.canis* (préparation de cellules infectées). Après lavage, la fixation des anticorps sériques est révélée par un conjugué marqué par un fluorochrome qui émet une fluorescence sous un microscope adapté.

Les anticorps peuvent être détectés dès le 7^{ème} jour après infection, cependant certains chiens ne séroconvertissent qu'après 28 jours. La majorité des laboratoires mesurent les IgG qui n'apparaissent que 20 jours après l'infection. L'idéal est donc de réaliser une cinétique d'anticorps (2 prélèvements à 10 jours d'intervalle). L'animal est considéré comme en éhrlichiose évolutive lors de séroconversion ou d'une augmentation de titre d'au moins quatre dilutions (Davoust, 2001).

VI.2.3.2. Elisa :

Cette méthode permet d'obtenir des résultats quantitatifs. Il existe des techniques en phase liquide, utilisées par les laboratoires, et des techniques en phase solide qui sont accessibles aux praticiens.

La technique d'Elisa en phase solide est basée sur l'utilisation d'un support en plastique qui est sensibilisé avec des antigènes purifiés d'*E.canis* sur lesquels se fixent des anticorps spécifiques. La révélation est obtenue à l'aide de conjugué anti-immunoglobulines de chien couplé à une enzyme agissant sur un substrat chromogène. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en anticorps, évaluée par comparaison à un abaque (Alleman et al. 2001).

VI.2.3.3. Western-Blot :

Cette méthode consiste à dénaturer l'antigène, puis à faire migrer les peptides obtenus sur un gel. Après l'électrophorèse, les peptides sont transférés sur une membrane de nitrocellulose. Celle-ci est mise à incuber avec le sérum dilué de l'animal. Le marquage se fait ensuite par réaction colorée sur le conjugué (*Davoust, 2001*). Elle permet de distinguer les différents anticorps en fonction de leur spécificité vis-à-vis des différents antigènes d'*Ehrlichia canis*.

Cette méthode ne demande pas d'expérience pour la lecture, mais nécessite un équipement important et est donc réservée aux laboratoires. Elle est au moins aussi sensible que l'IFI (*Rikihisa, 1999*).

VI.2.3.4. Tests immuno-chromatographiques :

Il s'agit de tests rapides disponibles pour le praticien. Ils sont rapides et faciles d'emploi, Ils ne donnent toutefois que des résultats qualitatifs. Leur principe est l'immunomigration sur membrane sensibilisée par un antigène spécifique d'*E. canis*. La réaction positive se traduit par une bande colorée, et une seconde bande colorée permet la validation du test.

VI.2.4. Diagnostic moléculaire (PCR) :

Cette technique de biologie moléculaire est en plein développement. Les séquences d'ADN de la bactérie présente dans le prélèvement sont amplifiées à partir d'amorces nucléotidiques très spécifiques de l'espèce. Ainsi, on a détecté la bactérie même présente en quantité infime, et ce de manière très spécifique, et précocement. Expérimentalement, on met en évidence la bactérie dès le 4^{ème} jour (*Iqbal et al. 1994*) et la PCR est souvent positive avant que la séroconversion n'intervienne. Cependant, lors d'infection naturelle, la sensibilité semble être moins élevée.

Dans plusieurs études, des animaux positifs à l'immunofluorescence indirecte avaient des PCR négatives. Cela vient du fait que les PCR sont souvent effectuées sur des prélèvements sanguins et que la bactérie est présente très peu de temps dans les cellules sanguines. La PCR sur prélèvement splénique serait plus sensible.

Ainsi, les auteurs recommandent l'utilisation conjointe de la PCR et de la sérologie. La PCR permet de détecter des animaux infectés en phase aiguë alors que la séroconversion n'a pas encore eu lieu. La sensibilité de ce test est meilleure sur biopsie splénique, ponction LCR, ponction articulaire, ou prélèvement d'humour aqueux, lors d'atteinte des organes correspondants en phase chronique (*Harrus et al. 2011*). Enfin, la PCR serait intéressante pour vérifier l'élimination définitive de l'organisme après traitement.

VI.3. Diagnostic nécroscopique :

Les lésions déjà citées ne sont pas pathognomoniques. Pourtant certaines, lorsqu'elles sont rencontrées lors d'autopsie, sont en faveur de l'ehrlichiose comme l'infiltration des méninges, du rein et de l'œil par des cellules plasmatiques considérées comme caractéristiques de la pancytopenie tropicale canine (*Hildebrandt et al. 1973*).

VI.4. Diagnostic différentiel :

Le diagnostic différentiel s'avère très complexe et il est illusoire du fait du manque de spécificité clinique. Cependant, on peut noter en particulier qu'il faut faire la distinction avec :

- Les autres maladies transmises par *Rhipicephalus sanguineus* : en particulier la babésiose, l'hépatozoonose..
- Les autres ehrlichiose au sens large.
- La leishmaniose dans les zones endémiques
- La maladie de carré, en effet, elles ont communes signes généraux, l'ehrlichiose peut entraîner un jetage occulo-nasal, des signes digestifs et neurologiques, et les inclusions virales peuvent être confondues avec les morulas.
- Les maladies cachectisantes d'évolution chronique.
- Les maladies responsables d'épistaxis ou de troubles de l'hémostase en général.

VII. PRONOSTIC :

Le pronostic est très variable selon la forme de la maladie, il est généralement bon pour un chien en forme aigue, si il est correctement traité et à temps. La maladie est essentiellement rencontrée lors de la forme chronique grave, pour laquelle le pronostic devra toujours être très réservé. Les animaux qui présentent la forme asymptomatique devraient être traités, car ils risquent de déclencher la forme chronique (*Beaufils, 1997*).

VIII. TRAITEMENT :

VIII.1. Traitement étiologique :

Le traitement étiologique de l'ehrlichiose a pour objectif la guérison clinique des chiens malades et la stérilisation des porteurs asymptomatiques. La guérison est souvent spectaculaire, dès les premiers jours du traitement. Cependant, si la durée du traitement est insuffisante, certains chiens peuvent rester porteurs d'*E.canis* et développer ultérieurement des complications nerveuses, oculaires, et hémorragiques.

VIII.1.1. Doxycycline :

Les tétracyclines sont depuis longtemps, le traitement de choix de l'ehrlichiose (Davoust, 2001), en particulier la doxycycline. Elle est la molécule la plus active in vitro sur *E.canis* en exerçant une activité bactériostatique par inhibition de l'ARN de transfert et blocage de la réplication protéique. La posologie est de 10 mg/kg/j per os pendant au moins 21 jours lors de forme chronique et 5 mg/kg/j en une seule prise durant 7 à 10 jours lors de la forme aiguë (Ghorbel et al. 1993).

Bien que la guérison soit spectaculaire, il semble que les chiens restent séropositifs, même dix mois après le traitement (Davoust et al. 1994). Il est admis qu'un taux d'anticorps élevé est lié à la persistance de l'agent pathogène.

VIII.1.2. Oxytétracycline :

L'oxytétracycline peut être utilisée pour le traitement de l'ehrlichiose canine à la dose de 25mg/kg, trois fois par jour pendant 14 jours per os et en dehors des repas, ce qui correspond à une dose de 66mg/kg/j répartie en deux ou trois prises (Davoust, 1993).

L'efficacité de l'oxytétracycline sur le plan épidémiologique a été très discutée par différents auteurs. Si les signes cliniques et hématologiques disparaissent après un traitement de 14 jours, l'animal peut rester porteur du germe, ce qui se traduit par une réaction sérologique positive. Cependant, il a été montré qu'un traitement de 18 jours à base d'oxytétracycline provoque la disparition des anticorps à partir du 5^{ème} mois, donc la stérilisation de l'animal vis-à-vis d'*Ehrlichia canis* (Ghorbel et al. 1993).

VIII.1.3. Chloramphénicol :

Il a été utilisé en particulier chez les jeunes ou les femelles gestantes chez qui les tétracyclines sont contre-indiquées (coloration anormale des dents..). Un traitement a la posologie de 25 à 50 mg/kg deux fois par jour pendant 2 à 3 semaines semble entrainer la guérison clinique. Cependant cette molécule doit être utilisée avec précaution, et son usage est proscrit chez les animaux présentant une aplasie médullaire (*Harrus et al. 2011*).

VIII.1.4. Enrofloxaciné :

Une étude a montré que l'utilisation d'enrofloxaciné a la posologie de 5 mg/kg/j durant 15 jours entraîne une guérison clinique (*Kontos et Athanasiou, 1998*). D'après certains auteurs, cette molécule ne semble pas active contre *E.canis* (*Neer et al. 1999*). Aux vues de ces résultats discordants, il semble plus prudent d'utiliser une autre thérapeutique.

VIII.1.5. Imidocarbé :

L'imidocarbé dispropionate est un anaplasmodicide et un babésicide. Néanmoins, Cette molécule peut être utilisée pour le traitement de l'ehrlichiose canine. Il consiste en une ou deux injections sous cutanées a la dose de 5-7 mg/kg a 15 jours d'intervalle. Certains auteurs déconseillent son utilisation en première intention aux vues de ses effets secondaires (douleur au point d'injection, une diarrhée, hyperthermie..) (*Beaufils, 1997*).

VIII.2. Traitement adjuvant :

Il s'agit d'une thérapeutique de soutien, avec administration intraveineuse de solutés cristalloïdes ou de colloïdes, une transfusion de sang frais total (20ml/kg) peut être nécessaire en cas de pertes sanguines majeures. Par contre, pour pallier a la thrombopénie, seule l'injection d'un plasma enrichi en thrombocytes (10 ml/kg) semble intéressante (*Harrus et al.2011*).

Une corticothérapie (methylprednisolone 2mg/kg/j pendant 2 a 7 jours) peut être entamée (*Beaufils, 1997*).

Les stéroïdes sont parfois indiqués pour stimuler la moelle osseuse hypoplasique (nandrolone, oxymétholone..).

IX. PROPHYLAXIE :

Aucun vaccin n'est actuellement disponible. La prophylaxie repose essentiellement sur la lutte contre les tiques. Celle-ci doit être systématique sur les chiens, quelle que soit leur région de résidence. Elle doit être particulièrement rigoureuse dans les régions où *Rhipicephalus sanguineus* est très répandu, et en particulier lors de séjour prévu dans ces régions.

En zone endémique, ou de forte concentration de chiens propice à l'infestation par les tiques et à la transmission de maladies vectorielles, il est préférable de pratiquer un dépistage sérologique sur tous les animaux et d'effectuer un traitement à la doxycycline sur les animaux à fort titre d'anticorps. Des mesures sanitaires doivent être mises en place, avec sérologie systématique des nouveaux chiens avant introduction, assortie d'une lutte rigoureuse contre le vecteur. Ainsi, le cycle d'*E.canis* sera interrompu puisqu'il n'y a pas de transmission transovarienne. Enfin, en zone enzootique, tout donneur de sang doit être préalablement soumis à une sérologie (Davoust, 2001).

DEUXIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL ET METHODES :

I.1. Objectif de l'étude :

L'objectif de notre étude consiste à faire un dépistage de l'ehrlichiose monocyttaire canine et d'établir un diagnostic immédiat au cours d'un examen clinique de routine, tout en se basant sur des tests sérologiques rapides **Speed®ehrli** du laboratoire BVT, ainsi que la mise en évidence directe de l'agent pathogène au moyen d'un frottis sanguin.

I.2. Durée et lieu de l'étude :

Dans la période qui s'est déroulée du 02 mars au 08 mai 2014. Toutes les analyses sérologiques des échantillons et frottis sanguins prélevés, se sont déroulées au niveau de la clinique canine, et les manipulations au niveau des laboratoires de microbiologie et de parasitologie de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

I.3. Déroulement général :

Dans un premier temps un ensemble de questions étaient posées pour chaque propriétaire sous forme d'un questionnaire (annexe I).

Dans un second temps un prélèvement sanguin était réalisé pour chaque chien sur un tube EDTA, afin de faire un test sérologique rapide (Speed®ehrli).

Un frottis sanguin a parfois été réalisé à l'aide d'une goutte de sang périphérique lorsque le test Speed®ehrli se révèle positif.

I.4. Animaux :

L'étude est basée sur un effectif de **30 chiens** au total, vivant dans des régions soumises à un climat tempéré, utilitaires ou de compagnie, de tout âge et sexe confondus. Par ailleurs, le choix de la race était basé sur les principales races fréquemment rencontrées dans les communes d'Alger et ses alentours.

Pour la plupart de ces chiens on a constaté la présence du vecteur qu'est la tique *Rhipicephalus sanguineus* avec un degré d'infestation différent pour chaque individu.

I.5. Matériel utilisé :

I.5.1. Equipements :

- Microscope optique
- Tubes EDTA
- Lames et lamelles
- Eprouvette graduée
- Boîte de Laveran en verre
- Pipettes à usage unique
- Seringues 2ml
- Bistouris
- Gants chirurgical

I.5.2. Consommables :

- Cellules test Speed®ehrli
- Flacons réactifs Speed®ehrli
- Ethanol
- Eau distillée
- Colorant May Grünwald composé d'eosine (acide) et bleu de méthylène (basique)
- Colorant Giemsa composé d'eosine (acide) et azur de méthylène (basique)

I.6. Méthodes utilisées pour le diagnostic :

I.6.1. Analyse sérologique :

L'analyse sérologique a été réalisée sur les 30 chiens, et une seule fois pour chaque chien pendant la consultation au sein du département clinique de l'école. Le test utilisé est un test sérologique rapide (Speed®ehrli). Nous avons suivi les directives du fabricant pour son utilisation (annexe II).

I.6.1.1. Principe du test :

C'est un test qualitatif basé sur le principe de l'immuno-chromatographie (ou immuno-migration sur membrane). L'échantillon de sérum ou sang total est déposé sur une extrémité, puis migre vers une zone où les anticorps se lient à un antigène conjugué à un révélateur de type colloïde de sélénium. Ce mélange continue de migrer jusqu'aux antigènes immobilisés sur la membrane au niveau de la fenêtre de lecture. Les anticorps conjugués au complexe antigène-révélateur se lient spécifiquement aux antigènes *E.canis* et s'immobilisent en formant un trait de couleur. En l'absence d'anticorps spécifiques, le conjugué antigène-colloïde traverse la zone de lecture sans produire de signal.

I.6.1.2. Protocole :

La cellule-test a été placée sur une surface plane et horizontale. Ensuite une goutte de l'échantillon prélevé avec une pipette était déposé dans le puits circulaire de la cellule-test, après **5 gouttes** de réactif étaient ajoutées. La lecture du test est faite au bout de **10 à 20 minutes**.

I.6.2. Mise en évidence direct de l'agent pathogène :

Le frottis sanguin n'a pas été réalisé de façon systématique, nous l'avons effectué pour les chiens qui présentaient un résultat positif lors du test Speed®ehrli afin de rechercher d'éventuelles Morulas d'*Ehrlichia canis* au niveau des monocytes.

I.6.2.1 Technique pour la réalisation d'un frottis:

Une première lame propre était posée sur une surface plane sur laquelle une goutte de sang a été déposée à environ 1cm de son bord, ensuite une deuxième lame était posée sur la goutte de sang, en formant un angle de 45° avec la première. Et la laisser s'étaler sur la seconde lame par capillarité, puis on pousse cette dernière sur la première dans un mouvement continu, léger et fluide, sans appuyer, selon un angle de 45°. Le frottis obtenu était ensuite séché à l'air.

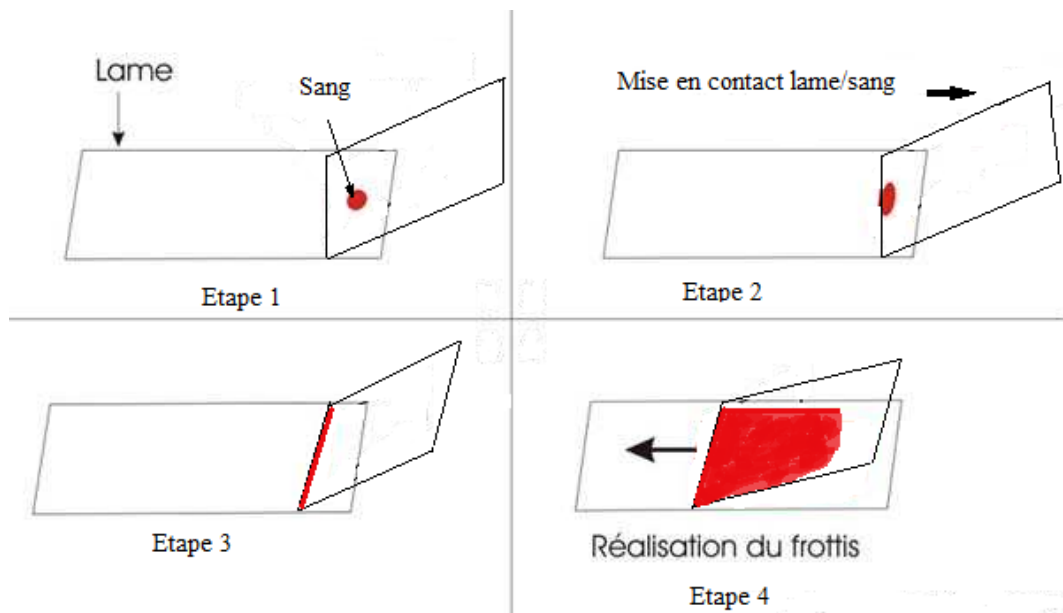


Figure 7. Les différentes étapes pour la réalisation d'un frottis sanguin.

I.6.2.2. Coloration du frottis sanguin :

La technique de coloration utilisée est une coloration par bain de May-Grünwald et Giemsa. Pour cela, on a commencé par mettre une lame dans un bain d'éthanol pendant 5 minutes afin de permettre une bonne pénétration du colorant à l'intérieur des cellules, ensuite la lame était mise dans un bain de colorant pur May-Grünwald pendant 3 minutes, et après la lame était recouverte d'une solution tampon (eau distillée) pendant 5 minutes et rincée par la suite.

Après la lame était mise dans un bain qui contient du Giemsa dilué (2gouttes/1ml d'eau tamponnée) pendant 20 minutes (Giemsa lent), ensuite elle a été lavée à l'eau courante. Enfin, la lame était séchée à l'air en position inclinée, après avoir été essuyée à sa face inférieure avec un papier filtre.

II. RESULTATS :

II.1. Analyses sérologiques :

Le test speed®ehrli est d'ordre qualitatif, et les résultats obtenus ont été pris comme étant positifs lors d'apparition d'une bande de coloration à peine visible avec une bande témoin, notons par ailleurs que lorsque il n'y a apparition d'aucune bande colorée, le test n'a pas été pris en considération. Ainsi sur ce barème on a constaté 12 cas sur 30 comme étant positif au test soit **40%** du nombre total de l'échantillon étudié (Figure 8).

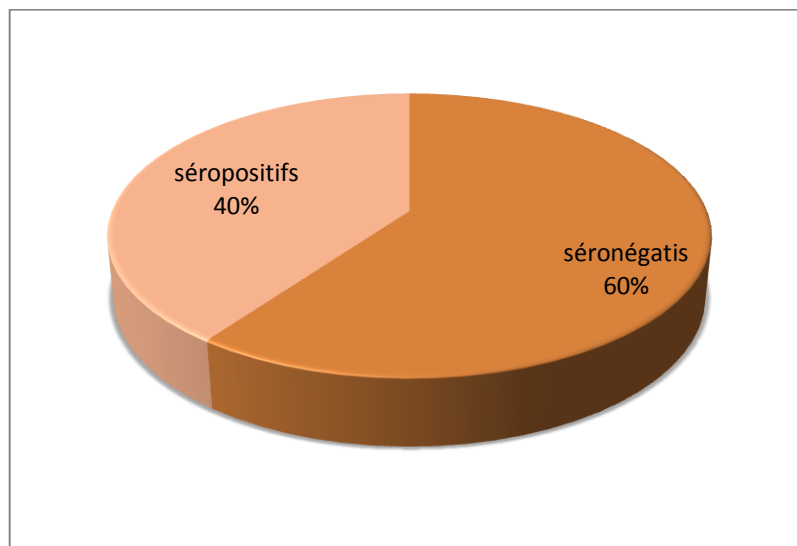


Figure 8. Nombres de chiens séropositifs au test speed®ehrli

II.1.1 Evaluation des résultats selon la race :

Les chiens ont été sélectionnés sans distinction raciale, dans le but d'avoir un réel résultat scientifique.

En effet, on dénombre 4 races, en comptant les croisements, les races représentées pour notre étude sont parmi les races de population les plus admises en clinique canine. Ainsi, on a 12 Bergers allemands, Bergers croisés, 5 Pitt Bull et 4 Rottweilers. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau I.

Tableau I. Nombres de cas séropositifs et séronégatifs selon la race.

Races Résultats	Bergers Allemands	Bergers croisés	Pitt Bull	Rottweilers
Test Positif	7 (23.33%)	3 (10%)	1 (3.33%)	1 (3.33%)
Test Négatif	5 (16.67%)	6 (20%)	3 (10%)	4 (13.33%)

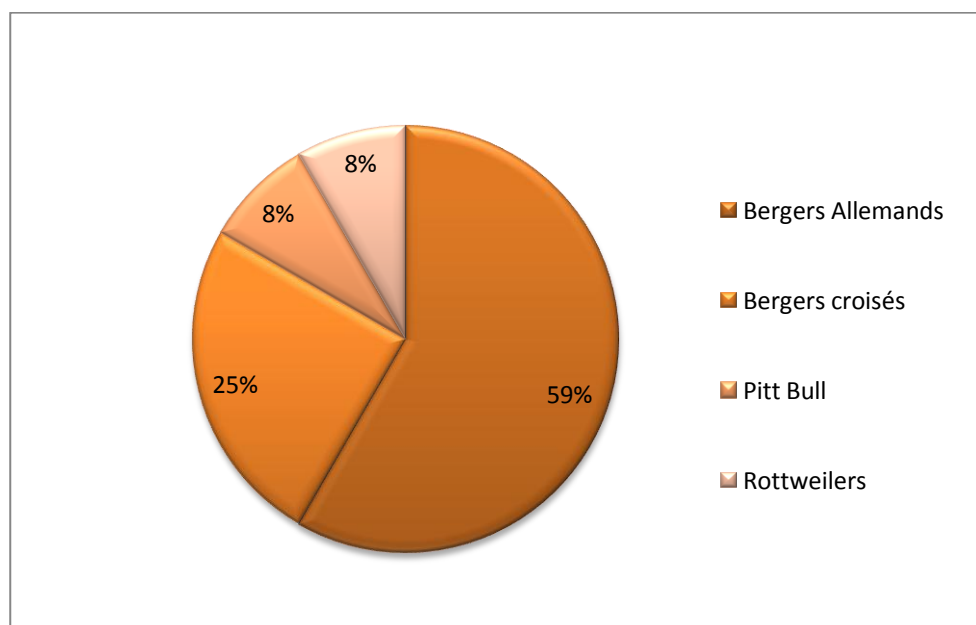


Figure 9. Répartition des cas positifs selon la race.

II.1.2. Evaluation des résultats selon l'âge :

Les chiens qui étaient inclus dans l'étude sont âgés entre 5 mois et 6 ans. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 10.

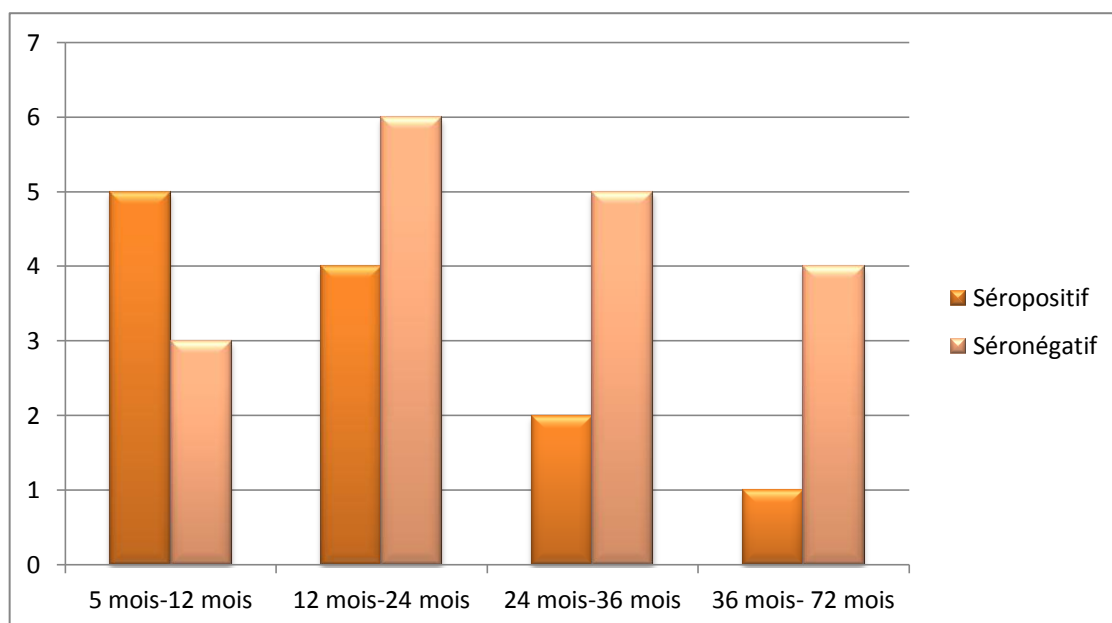


Figure 10. Nombres de chiens séropositifs et séronégatifs selon l'âge.

II.1.3. Evaluation des résultats selon le degré d'infestation aux tiques :

Parmi les 30 chiens qui ont subis le test sérologique, on a constaté pour la plupart une présence du vecteur. Cependant le degré d'infestation différée pour chaque individu. Ainsi on a réparti les différents cas selon trois degré, qui ce caractérisent comme suit :

Une atteinte massive c'est-à-dire au delà de 10 tiques, une atteinte légère qui se situe entre 1-10 tiques, et enfin une absence totale de tique lors de l'examen clinique. Le tableau II révèle les résultats obtenus.

Tableau II. Nombres de chiens séro+ et séro- selon le degré d'infestation aux tiques

	Massives	Légère	Absence
Séropositifs	7 (23.33%)	4 (13.33%)	1 (3.33%)
Séronégatifs	3 (10%)	10 (33.33%)	5 (16.67%)

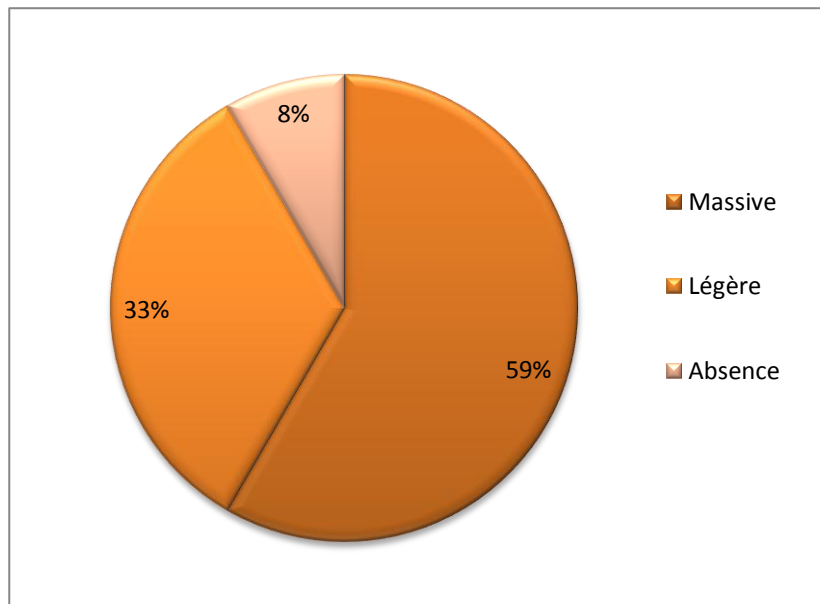


Figure 11. Répartition des chiens séropositifs selon le degré d'infestation aux tiques.

II.2. Analyses cliniques :

II.2.1. Symptômes :

Sur les 12 cas séropositifs au test speed®ehrli, on constat que 5 cas sur 12 présentaient de la fièvre ($>39^{\circ}\text{C}$) soit **41.66%**, et parmi ces chiens on a trouvé 3 cas sur 12 qui présentaient un abattement soit **25%**. Enfin, on a trouvé un cas sur 12 qui présentait une légère anémie soit **8.33%**

II.2.2. Frottis sanguin :

Le frottis sanguin a été réalisé pour 12 chiens de l'échantillon total, ceux révélés positifs au test Speed®ehrli, sur ces 12 cas on a constaté aucune présence d'inclusions cytoplasmiques au niveau des globules blanc et le frottis sanguin présenté un aspect plutôt normal.

III. Discussion :

III.1. A propos de la méthode utilisée :

III.1.1. Test rapide sérologique :

L'utilisation du Speed®ehrli présente plusieurs intérêts. C'est d'abord un test rapide, il nécessite 20 minutes d'attente pour la lecture du résultat, nous avons même constatés l'apparition de la bande colorée avant ce délai pour les résultats positifs.

Dans la pratique, l'utilisation des tests Speed®ehrli est simple avec plusieurs types de prélèvement (sang total, sérum ou plasma), pour notre étude nous avons utilisé du sang total afin d'obtenir les résultats dans de bref délai.

Ce test est fiable avec une sensibilité assez élevée (*Martin, 2004*), l'inconvénient majeur de ce test est l'absence de résultats quantitatifs, qui ne permet pas de suivi sérologique. Ainsi, l'interprétation des résultats nécessite une confrontation avec le contexte clinique et épidémiologique de l'animal, au même titre que tout examen biologique.

III.1.2. Frottis sanguin :

Le frottis sanguin est un moyen simple, facile pour le réaliser, et il permet d'optimiser le diagnostic et de préciser le moment de l'infection, car la présence de morula est plus importante à la forme aigue de la maladie (*Beaufils, 1997*). Cependant, il est insuffisant et demande de l'expérience pour sa bonne lecture. Ainsi un résultat négatif n'est pas interprétable vu sa faible sensibilité.

III.2. A propos des résultats obtenus lors de l'analyse sérologique :

III.2.1. Résultats obtenus selon la race :

On a constaté dans notre étude que la race Berger Allemand était préférentiellement touché, avec un taux de **58.33%** des cas séropositifs, par ailleurs il apparait très nettement que les animaux métissés, qui sont issus d'un croisement entre races, sont beaucoup moins atteint que les animaux de race pure, seulement **25%** de la totalité des chiens séropositifs, on peut alors imaginer qu'il existerait une résistance liée à la génétique, plus importante en cas de croisements. Ces résultats obtenus concordent avec une étude menée par certains auteurs (*Harrus et al. 1997*).

Pour les races Pitbull et Rottweiler, on a constaté qu'ils sont moins sensibles. Cependant étant donné le faible effectif de ces races, nos observations restent à confirmer.

III.2.2. Résultats obtenus selon l'âge :

La maladie s'observe surtout chez les jeunes animaux, en particulier ceux âgés de moins d'un an, avec 9 cas sur 12 chiens séropositifs soit **75%**, et on note un nombre légèrement plus élevé chez les chiens âgés de 5 mois à 12 mois, avec un nombre de 5 cas sur 12 chiens séropositifs, soit **41.68%**. En revanche, chez les moins jeunes, ceux qui sont âgés au delà de 12 mois, on a constaté seulement 3 cas, ce qui représente **25%** des chiens séropositifs.

III.2.3. Résultats obtenus selon degré d'infestation aux tiques :

On a constaté que la majorité des chiens qui présentaient une forte infestation aux tiques, ils étaient positifs au test, avec un taux de **58.33%** de la totalité des chiens séropositifs. En revanche, ceux qui présentaient une faible infestation, voir absence total de tiques, on note seulement **41.66%** des chiens séropositifs.

Donc d'après les résultats obtenus dans cette étude, on constate qu'il y'a une relation étroite entre la présence du vecteur et la maladie.

III.3. A propos des résultats de l'analyse clinique :

Les chiens inclus dans cette étude, ne présentés aucun signes évocateurs d'une anomalie hématologique, on a constaté seulement un cas séropositifs qui présenté une légère anémie, qui peut être due à l'ehrlichiose, comme elle peut être la conséquence de la forte infestation aux tiques.

La majorité des cas séropositifs, soit **58.33%** ne présentaient aucuns symptômes, on a seulement constaté 5 cas séropositifs avec une fièvre. Cependant le frottis sanguin de tous les cas séropositifs, était plutôt normal sans aucune présence d'inclusions intracytoplasmiques, ce qui nous laisse supposer que les animaux présenter la forme asymptomatique de la maladie.

CONCLUSION :

L'ehrlichiose monocyttaire à *Ehrlichia canis* est aujourd'hui l'ehrlichiose canine la mieux connue. Son diagnostic précoce est essentiel compte-tenu de la gravité potentielle des formes chroniques, on doit alors l'inclure dans le diagnostic différentiel de nombreuses maladies hématologiques et/ou inflammatoires.

Les résultats de notre étude expérimentale permettent de conclure que cette maladie est bien présente dans la région d'Alger, mais souvent sous sa forme asymptomatique. Ainsi il est important d'envisager une prophylaxie avec un dépistage précoce, pour éviter d'éventuelles complications de la maladie.

BIBLIOGRAPHIE:

ALLEMAN R.A., Mc SHERRY L.J., BARBET A.F., BREITSCHWERDT E.B., SORENSON H.L., BOWIE M., BELANGER M., 2001: Recombinant Major Antigenic Protein 2 of *Ehrlichia canis* : a potential diagnostic tool. *J. Clin. Microbiol.*, 39 (7): 2494-2499.

ANDERSON, B.E., DAWSON, J.E., JONES, D.C. et al., 1991 : *Ehrlichia chaffeensis*, a New Species Associated with Human Ehrlichiosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(12), pp.2838-2842.

BEAUFILS J.P., 1997 : Ehrlichiose canine. In: *Encyclopédie vétérinaire. Médecine générale*. Elsevier, Paris, vol. 3, (1200), 1-7.

BEAUFILS J.P. ; BREITSCHWERDT E. ; HANCOCK S.I. ; HEGARTY B.C. ; MARTIN- GRANEL J. ; JUMELLE P. ; BARBAULT-JUMELLE M. ; BLAVIER A., 2002 : Ehrlichiose féline : identification génétique de l'agent chez deux chats. *Prat. méd. chir. Anim. Cie.*, vol. 37, (3), 235-238.

BEAUFILS J.P. ; MARTIN-GRANEL J. ; JUMELLE P., 1997 : Ehrlichiose féline : à propos de deux cas. *Bull. Acad. vét. Fr.*, vol. 70, (1), 73-80.

BEAUFILS J.P. ; MARTIN-GRANEL J. ; JUMELLE P., 1995 : Diagnostic cytologique des ehrlichioses canines. *Prat. méd. chir. Anim. Cie.*, vol. 30, (2), 189-195.

BOURDEAU P., 1993 : Les tiques d'importance vétérinaire et médicale. Première et deuxième parties. *Le Point Vétérinaire*, 25(151), 13-41.

BOBIN A., CHABASSOL C., DE BRUX J., FIEHRER A., GUILLOT G., MICHEL C., PIGOURY L., 1962 : Syndrome hémorragique thrombotique thrombocytopénique du chien en Tunisie. *Rev. Path. Gén.*; 62 : 317-334.

BROUQUI, P., DUMLER, J., S., RAOULT, D., WALKER, D., H., 1992 : Antigenic characterization of Ehrlichiae : protein immunoblotting of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia sennetsu*, and *Ehrlichia risticii*. *J.Clin.Micobiol.*. 30(5): p. 1062-1066.

BURHGEN, G., A., BEISEL, W., R., WALKER, J., S., NIMS, R., M., HUXSOLL, D., L., HILDEBRANDT, P., K., 1971 : Development of hypergammaglobulinemia in tropical canine pancytopenia. *Am.J.Vet.Res.*. 32: p. 749-756.

BUHLES, W., C., HUXSOLL, D., L., HILDEBRANDT, P., K., 1975 : Tropical Canine Pancytopenia : Role of aplastic anaemia in the pathogenesis of severe disease. *J.Comp.Path.* 85: p. 511-521.

CARLOTTI D.N. ; BENSIGNOR E., 1996 : Manifestations dermatologiques de l'ehrlichiose canine. *Prat. méd. chir. Anim. Cie.*, vol. 31, (4), 325-326.

CHABASSOL C., MICHEL C., 1972 : Syndrome hémorragique thrombocytopénique du chien en Tunisie : comparaison avec la pancytopénie canine tropicale récemment décrite au Sud Viêt-Nam. *Soc. Méd. Chir. Hôp. Form. San. Armées.*, 4 : 189-195.

COHN L.A., 2003 : Ehrlichiosis and related infections. Vet.Clin.North.AM.Small.Anim.Pract., 33, 863-884.

DAVOUST B. ; PARZY D. ; PUBERT D. ; DIRSON O. ; HASSELOT N., 1994 : Evaluation de l'efficacité de la doxycycline dans la lutte contre l'ehrlichiose canine asymptomatique. Prat. méd. chir. Anim. Cie., vol. 29, (6), 575-581

DAVOUST B. ; PARZY D. ; PUBERT D. ; MARTET G. ; DEPARIS X. ; OTT D., 1996 : Signes hématologiques de l'ehrlichiose canine aiguë. Rev. Méd. vét., vol. 147, (1), 69-74

DAVOUST B. ; PARZY D., 1995 : Actualités des ehrlichioses. Bull. mens. Soc. vét. prat. Fr., vol. 79, (4), 183-204

DAVOUST B., 1993 : L'ehrlichiose canine. Point vét., vol. 25, (151), 43-51

DAVOUST B., 2001 : Ehrlichiose monocyttaire canine. Prat. Méd. Chir. Anim. Comp., 36 : 553-564.

DAVOUST, B., PARZY, D., VIDOR, E., HASSELOT, N., MARTET, G., 1991 : Ehrlichiose canine expérimentale. Etude clinique et thérapeutique. Rec.Med.Vet., p.33-40.

DONATIEN A., LESTOQUARD F., 1935 : Existence en Algérie d'une Rickettsia du chien. Bull. Soc. Path. Exot., 28 : 418-419.

DONATIEN A., LESTOQUARD F., 1937 : Etat actuel des connaissances sur les rickettsioses animales. Arch. Inst. Pasteur d'Algérie., 15 : 142-187.

DROUFFE A., 2007 : Situation actuelle des ehrlichioses canines en France : Enquête nationale auprès des cliniques vétérinaires. These pour le diplôme d'état de docteur vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Nantes, 211 p.

DUMLER J.S., BARBET A.F., BEKKER C.P.J., DASH G.A., RAY S.C., RIKIHISA Y., RURANGIRWA F.R., 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.

ELIAS E., 1991 : Diagnosis of ehrlichiosis from the presence of inclusion bodies or morulae of E. canis. J. SmallAnim. Pract. 33 : 540-543.

EWING S.A., 1963 : Observations on Leukocytic Inclusion Bodies from Dogs infected with Babesia canis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 143: 503-506.

GARRITY M., BELL J.A., LILBURN T.G., 2003 : Taxonomic Outline of the Procaryotes. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd edition.p230.

GHORBEL A. ; CLERC B. ; CADORE J.L. ; DJAIEM A. ; SAYN M.J., 1993 : Ehrlichiose asymptomatique. Etude de l'électrophorèse des protéines sériques. Rec. Méd. vét., vol. 169, (7), 561-566.

GHORBEL A. ; CADORE J.L. ; CLERC B. ; BOUATTOUT A. ; VIDOR E. ; SAYN M.J., 1993 : L'efficacité de l'oxytétracycline dans le traitement de l'ehrlichiose canine. Rev. Méd. vét., vol. 144, (2), 109-114.

HARRUS S., BARKH., WANER T., 1997 : Canine monocytic ehrlichiosis : An update. Comp.Cont.Ed.Pract.Vet.. 19(4): p. 431-444.

HARRUS, S., KASS, P., H., KLEMENT, E., WANER, T., 1997: Canine monocytic ehrlichiosis : A retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease. Vet.Rec., 141: p. 360-363.

HARRUS, S., WANER, T., AVIDAR, Y., BOGIN, E., PEH, H., BARK, H., 1996: Serum protein alterations in canine ehrlichiosis. Vet.Parasitol. 66: p. 241-249.

HARRUS S., WANER T., NEER T. M., 2011 : Ehrlichia canis infection. In infectious diseases of the dog and cat, Green.W.B.Saunders company., 227-238.

HILDEBRANDT P.K. HUXSOLL D.L. WALKER J.S. et al. 1973 :Pathology of canine Ehrlichiosis(Tropical Canine Pancytopenia). Am. J. Vet. Res. 34 (10) : 1309-1320.

HUXSOLL D.L., HILDEBRANDT P.K., NIMS R.M., WALKER J.S., 1970 : Tropical Canine Pancytopenia. J. Am. Vet. Med. Assoc., 157: 1627-1632.

IQBAL Z., CHAICHANASIRIWITHAYA W., RIKIHISA Y., 1994 :Comparison of PCR with other tests for early diagnosis of canine ehrlichiosis. J. Clin. Microbiol., 32 (7), 1658-1662.

KAKOMA, I., CARSON., C., A., RISTIC, M., 1980 : Direct and indirect lymphocyte participation in the immunity and immunopathology of tropical canine pancytopenia- A review. Comp.Immun.Microbiol.Infect.Dis., 3: p. 291-298.

KHALLAAYOUNE K. ; RHALEM A. ; SAHIBI H. ; HAMLIRI A., 2002 : Bactériologie sanguine des carnivores domestiques : l'épistaxis, signe clinique d'ehrlichiose chez un chien. Point vét., vol. 33, (229), 66-69.

KOMNENOU A.A., MYLONAKIS M.E., KOUTI V., TENDOMA L., LEONTIDES L., SKOUNTZOU E., DESSIRIS A., KOUTINAS A.F., OFRI R., 2007 : Ocular manifestation of natural canine monocytic Ehrlichiosis : a retrospective study of 90 cases. Veterinary Ophtalmology., 10 (3), 137-142.

KONTOS V.I., ATHANASIOU L.V., 1998 : Use of enrofloxacin in the treatment of acute canine ehrlichiosis. Canine Practice., 23(3), 10-14.

LAPPIN M.R., 1997: Rickettsial diseases, in: LEIB MS, MONROE WE (eds). Practical small animal internal medicine. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 861-872.

LEWIS G.E., RISTIC M., SMITH R.D., LINCOLN T., STEPHENSON E.H., 1997 : The brown tick Rhipicephalus sanguineus and the dog as experimental hosts of Ehrlichia canis. Am. J. Vet. Res., 38, 12, 1953-1955.

LOVERING, S., L., PIERCE, K., R., ADAMS, L., G., 1980: Serum complement and blood platelet adhesiveness in acute canine ehrlichiosis. *Am.J.Vet.Res.*, **41**(8): p. 1266-1271.

MAEDA K., MARKOWITZ N., HAWLEY R.C., RISTIC M., COX D., McDADE J.E., 1987 : Human infection with *Ehrlichia canis* a leukocytic Rickettsia. *N. Eng. J. Med.*, 316 (14) : 853-856.

MARTIN C., 2004 : Les ehrlichioses du chien : étude bibliographique, diagnostic et comparaison de trois kits de diagnostic sérologique rapide de l'ehrlichiose monocyttaire, Thèse Méd. Vét. Lyon, n°59, 180p.

NEER T. M., HARRUS S., 2006 : Canine monocytotropic Ehrlichiosis and Neorickettsiosis (*E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ruminantium*, *N. sennetsu* and *N. risticii* infections). In *Infectious diseases of the dog and cat*. Greene. W. B. Saunders Company. 203-219.

NEER T.M. et al., 1999 : Efficacy of enrofloxacin for the treatment of experimentally induced *Ehrlichia canis* infection. *J. Vet. Intern. Med.* 13: 501-504.

NYINDO M.B.A., RISTIC M., HUXSOLL D.L., SMITH A.R., 1971 : Tropical canine pancytopenia: in vitro cultivation of the causative agent – *Ehrlichia canis*. *Am. J. Vet. Res.*, 32: 1651-1658.

NYINDO M.B.A., HUXSOLL D.L., RISTIC M. et al., 1980 : Cell-mediated and humoral immune responses of German Shepherd dogs and Beagles to experimental infection with *Ehrlichia canis*. *Am. J. Vet. Res.* 41: 250-254.

RAOULT D. et BROUQUI P., 1998 : Les rickettsioses. Paris : Elsevier, 190 p.

RIKIHISA Y., 1999 : Ehrlichiae of veterinary importance. In *Rickettsiae and rickettsial diseases at the turn of the third millennium*, P. Brouqui, Editor. Elsevier : Paris, 393-405.

RIKIHISA Y., 1991: The Tribe Ehrlichiae and Ehrlichial Diseases. *Clin.Microbiol.Rev.*, 4(1) 286-308.

SAUGER, B., 2005 : Maladies bactériennes transmises par les tiques en Europe et leurs particularités. Thèse de Doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine (ONIRIS), Nantes, 154 p.

SIMPSON C.P., 1972 : Structure of *Ehrlichia canis* in blood monocytes of a dog. *J. Am. Vet. Res.*, 33, 2451-2454.

WEISIGER R.M., RISTIC M., HUXSOLL D.L., 1975 : Kinetics of antibody response to *Ehrlichia canis* assayed by indirect fluorescence antibody method. *Am. J. Vet. Res.*, 36 (5):686-694.

Annexe I : Questionnaire pour le dépistage de l'ehrlichiose monocyttaire canine

Nom du propriétaire :

N° de cas :

Adresse :

Information concernant le chien :

Race :

Age :

Sexe :

Lieu de vie habituel :

Antécédents pathologiques :

Date et nom du dernier traitement parasitaire :

Examen clinique :

Température rectale :

Peau : ☐ Aspect normal ☐ Lésions ☐

Muqueuses : ☐ Aspect normal ☐ Anormal ☐

Comportement : ☐ Normal ☐ Anormal ☐

Œil : ☐ Aspect normal ☐ Lésions ☐

Appareil digestif : ☐ Normal ☐ Anormal ☐

Appareil locomoteur : ☐ Normal ☐ Anormal ☐

Système nerveux : ☐ Normal ☐ Anormal ☐

Degré d'infestation aux tiques : ☐ léger ☐ massif ☐ Absence

Date :

Annexe II - FICHE PRODUIT : Speed®EHRLI - Laboratoire BVT

Principe :

Le Speed®EHRLI est un test qualitatif basé sur le principe de l'immuno-chromatographie (ou immuno-migration sur membrane). L'échantillon (sang total, sérum ou plasma) est déposé dans un puits sur du papier absorbant contenant un conjugué, sous forme d'anticorps anti-Ig de chien fixés à des particules colorées. Après l'ajout d'un réactif, les complexes conjugués anticorps Migrent sur la membrane, et, en présence d'Ac spécifiques, produisent une bande rose au niveau de l'antigène d'*Ehrlichia canis*.

Le mélange continue à migrer sur le support et atteint alors une zone de contrôle à l'extrémité de la fenêtre, où les particules colorées forment une bande de contrôle rose, témoin positif qui confirme la validité et la bonne réalisation du test.

Mode d'emploi

Placer la cellule-test sur une surface plane et horizontale.

Déposer une goutte de l'échantillon prélevé avec la pipette dans le puits circulaire (ou deux gouttes de sang frais).

Ajouter ensuite 5 gouttes de réactif dans le puits, et la migration débute. Si celle-ci ne démarre pas, rajouter 2 gouttes de réactif supplémentaires.

Le temps de réaction est de 20 minutes.

Vérifier l'apparition de la bande de contrôle positif à l'extrémité droite de la plage de migration ; l'absence de cette bande rend le test invalide.

La bande sur la gauche est la bande de positivité (antigène spécifique d'*Ehrlichia canis*). Un test peut être considéré comme positif dès l'instant où la bande rose apparaît. Si l'intensité de la bande est très faible, le résultat doit être considéré comme douteux et la probabilité d'ehrlichiose ne peut être écartée. Le laboratoire préconise de tester à nouveau après 10 à 15 jours.

Comme tout résultat biologique, il doit, bien entendu, être corrélé au tableau clinique, au contexte épidémiologique et aux autres résultats d'analyse.

L'apparition d'un fond rosé sur la fenêtre de migration ne modifie en rien la validité du test. Par contre, l'utilisation de sérums hémolysés ou d'échantillon de sang total mal conservés peut conduire à une lecture plus délicate du test. Il est préférable dans ce cas de renouveler le prélèvement.

Présentation

Les cellules-test sont conditionnées sous emballage unitaire, en kits de six unités, et sont munies de pipettes à usage unique permettant l'adjonction de l'échantillon (40 µL), d'un flacon compte-goutte de réactif et d'une notice.

Recommandations

Les tests sont valables **18 mois** à température ambiante à partir de la date de fabrication. Une date de péremption est indiquée sur chaque kit.

Les échantillons doivent être utilisés frais dans la journée ou doivent être conservés 7 jours au maximum au réfrigérateur pour sérum et plasma et **3 jours** pour le sang total frais sur anticoagulant.

Le sérum et le plasma peuvent être également conservés à **-20°C**.

Déposer les kits sur une surface plane et utiliser une pipette neuve à chaque prélèvement.

