

REPUBLIQUE 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 - الجزائر

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

**Etude de la séroprévalence à *Bartonella vinsonii*  
*subsp. Berkhoffii* chez une population de chiens de fourrière**

Présenté par : ABDI Soumeya  
AKACHE Yasmine  
Soutenu le : 25 Juin 2014

**Le jury :**

- . **Président** : GHALMI.F, Maitre de conférences – Classe A
- . **Promoteur** : AZZAG. N, Maitre de conférences – Classe B
- . **Examineur** : DERDOUR. S, Maitre-assistant – Classe A
- . **Examineur** : BOUHAMED. R, Maitre-assistant – Classe B

**Année universitaire : 2013/2014**

## *Remerciements :*

*A ma mère adorée qui m'a inoculé le virus des sciences ;*

*A mon père pour son indéfectible confiance. Il m'a appris la rigueur et la persévérance ;*

*A ma sœur et mes frères qui m'ont montré l'exemple ;*

*A Bilel YAHIA pour son aide inestimable et sa remarquable patience ;*

*A feu Mr NOUAR et Mr GUEZZANE qui m'ont permis de réaliser mon rêve en m'ouvrant les portes de l'ENSV ;*

*Merci à tous ceux qui de près ou de loin m'ont aidée à la réalisation de ce travail.*

*Mlle Yasmine AKACHE*

## *Remerciements :*

*Tout d'abord, j'aimerais remercier mes parents pour la confiance qu'ils ont eue en moi et pour leurs soutiens, sans eux je n'aurais jamais pu en arriver là.*

*Je tiens aussi à remercier vivement la famille AKACHE de m'avoir ouvert la porte de leur foyer ainsi que leurs cœurs.*

*Mes profonds remerciements vont à mes frères et sœurs pour leurs encouragements.*

*Je voudrais remercier également tous mes ami(e)s en particulier ARKAM Nassim pour sa présence et son soutien moral.*

*Mes remerciements vont enfin à toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

*Mlle Soumeya ABDI*

## *Remerciements :*

*Merci à tout le corps enseignant de l'ENSV et particulièrement :*

*A Mme AZZAG, notre enseignante et promotrice pour ses conseils avisés, sa disponibilité et sa gentillesse*

*A Mme GHALMI, présidente du jury, Mme DERDOUR et Mlle BOUHAMED, examinatrices, qui nous ont honorés de leur présence et nous ont aidés à améliorer notre travail grâce à leurs remarques pertinentes.*



## **RESUME :**

Les *Bartonella* sont des bactéries hémotropes infectant de nombreux mammifères domestiques ou sauvages. Plusieurs d'entre elles sont directement incriminées comme agents de zoonoses. On connaît actuellement 27 espèces ou sous-espèces de *Bartonella*.

Le chien est plutôt considéré comme étant un hôte accidentel, avec un tableau clinique se rapprochant de celui de l'homme. Au sein des réservoirs, la transmission se fait principalement par l'intermédiaire d'arthropodes hématophages, tels que la puce du chat (*Ctenocephalides felis*) et/ou les tiques (du genre *Ixodes*).

La prévention de l'infection chez les carnivores consiste essentiellement à lutter contre les acariens grâce à des traitements adaptés.

Depuis une vingtaine d'années, les recherches sur les bartonelles se sont intensifiées. De nouvelles espèces sont régulièrement découvertes.

Le but de notre travail était de déterminer la présence de *Bartonella vinsonii berkhoffii* chez une population chien de fourrière en Algérie. L'analyse des sérums prélevés a été réalisée par immunofluorescence indirecte.

Parmi les 24 sérums testés 10 se sont avérés positifs à *Bartonella vinsonii berkhoffii* soit une prévalence de 41.66%

**Mots-clés :** *Bartonella*, *Bartonella vinsonii berkhoffii*, réservoirs, vecteurs, chiens, sérologie.

## **RESUME :**

*Bartonella* are hemotropic bacteria that infect numerous wild and domestic mammals, and some are directly responsible for zoonotic infections. There are 27 currently known species or subspecies of *Bartonella*.

Dogs are considered as accidental hosts for *Bartonella*, and clinical features in this species are very similar to those seen in man. In reservoir species, the main vectors of *Bartonella* are hematophagous arthropods, such as cat flea (*Ctenocephalides felis*) and/or ticks (genus *Ixodes*).

The prevention in carnivores relies mostly on appropriate tick and flea control with appropriate treatment.

During the last twenty years research on *Bartonella spp* intensified and new species are regularly been discovered.

The aim of this study was to determine the presence of *Bartonella vinsonii berkhoffii* on dogs in Algeria.

We analyzed sera from a population of 24 stray dogs by indirect immunofluorescence.

10 sera of 24 or 41.66 % were positive for *Bartonella vinsonii berkhoffii*.

**Key words:** *Bartonella*, *Bartonella vinsonii berkhoffii*, réservoirs, vectors, dogs, serology.

## **ملخص :**

البروتولة بكتيرية موجهة لدم تصيب العديد من الثدييات الأليفة و المتوحشة. العديد منها متورطة بشكل مباشر في الأمراض الحيوان المننسة

تعرف حاليا عليها 27 نوعا او نوع فرعى من البروتولة.

تعتبر الكلاب مضيفا عرضيا مع جدول أعراض يقترب من جدول أعراض الإنسان يحدث الانتقال بشكل رئيسي من خلال

المفصليات أكالات الدماء مثل برغوة القط و/ او القراد

الوقاية من الانتشار عند أكالات اللحوم تتمثل في محاربة القب بشكل أساسي من خلال استعمال العلاج المناسب

تفاقت الأبحاث حول بروتونيل منذ عشرين عاما أدى إلى اكتشاف العديد من أنواعها بشكل منتظم

الهدف من أعمالنا هو إثبات وجود بروتونيل عند فئة من الكلاب الضالة و لهادا اعتمدنا على تقنية تحلي ل 24 مصلا دمويا و

أظهرت النتائج 10 ايجابيين ل بروتونيل أي نسبة انتشار 41,66%.

## SOMMAIRE :

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE .....	8
CHAPITRE 1: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE .....	9
I INTRODUCTION:.....	9
II HISTORIQUE:.....	9
III ETUDE BACTERIOLOGIQUE DE L'AGENT ETIOLOGIQUE:.....	10
III.1 Taxonomie:.....	10
III.2 Caractères morphologiques, culturels et biochimiques des bartonelles :.....	12
IV ETUDE DE LA BARTONELLOSE CANINE: .....	12
IV.1 Epidémiologie chez le chien : .....	12
IV.1.1 Prévalence et facteurs favorisants : .....	12
IV.1.2 Transmission vectorielle et co-infection : .....	13
IV.1.3 Spécificité d'hôte : .....	14
IV.2 Clinique chez le chien : .....	14
IV.2.1 Clinique due à <i>Bartonella vinsonii</i> subsp. <i>berkhoffii</i> :.....	14
a) Symptômes :.....	14
b) Résultats des examens complémentaires .....	15
c) Modifications des paramètres biochimiques, hématologiques et urinaires... 15	
d) Modifications histologiques.....	15
IV.2.2 Clinique due à <i>Bartonella henselae</i> : .....	15
a) Symptômes .....	15
b) Résultats des examens complémentaires .....	16
c) Modifications des paramètres biochimiques, hématologiques et urinaires... 16	
d) Modifications histologiques.....	16
V PATHOGENIE :.....	16
VI DIAGNOSTIC:.....	16
VI.1 Diagnostic clinique :.....	16

VI.2	Hémoculture :.....	17
VI.3	Sérologie : .....	17
VI.4	Biologie moléculaire : .....	17
VII	TRAITEMENT CHEZ LE CHIEN : .....	18
VII.1	Posologie :.....	18
VIII	PREVENTION CHEZ LE CHIEN : .....	18
PARTIE EXPERIMENTALE.....		20
CHAPITRE 2: MATERIEL ET METHODE : .....		21
I	MATERIEL :.....	21
I.1	Population de chiens prélevés : .....	21
II	METHODE : .....	21
II.1	Prélèvements sanguins :.....	21
II.1.1	Prélèvements sur chiens errants : .....	21
II.1.2	Préparation et conservation des sérums : .....	21
II.2	L'analyse par Immunofluorescence indirecte : .....	21
II.2.1	Principe d'immunofluorescence indirecte : .....	21
II.2.2	Matériels utilisé : .....	22
II.2.3	Etapes de réalisation de l'immunofluorescence indirecte (IFI): .....	23
CHAPITRE 3: RESULTATS .....		25
I	DESCRIPTION DE LA POPULATION : .....	25
II	RESULTATS SEROLOGIQUES : .....	25
CHAPITRE 4: DISCUSSION .....		27
CHAPITRE 5: CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS .....		27

## TABLE DES FIGURES

Figure 1: Taxonomie de <i>bartonella vinsonii Berkhoffii</i> .....	11
Figure 2 : Tableau des résultats et schéma de la lame correspondante.....	23
Figure 3: Technique d'immunofluorescence indirecte.....	24
Figure 4: Diagramme circulaire représentant les résultats de l'immunofluorescence indirecte .....	25
Figure 5: Diagramme Résultats l'immunofluorescence indirecte VECTEURS.....	26
Figure 6: Diagramme Résultats IFI - SEXE-AGE.....	26

## TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1: Barème de lecture des lames.....	23
Tableau 2 : Résultats de l'immunofluorescence indirecte en fonction du sexe, l'âge et des vecteurs.....	26

# **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

# CHAPITRE 1: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

## I INTRODUCTION:

Les espèces du genre *Bartonella* sont des bactéries Gram négatif connues depuis le début du XXème siècle.

Ce sont des bactéries hémotropes responsables d'infections chez les animaux domestiques et sauvages et certaines d'entre elles sont des agents de zoonoses.

La première victime de ces bactéries fut l'être humain (1909), quant au chien, il est considéré comme étant un hôte accidentel avec un tableau clinique qui se rapproche de celui de l'homme.

*B. vinsonii* est isolée de rongeurs vers la moitié du XXème siècle, mais le rôle de réservoir ne fut alloué aux animaux que bien plus tard. (1)

La transmission de ces bactéries se fait par l'intermédiaire de divers arthropodes hématophages comme la puce du chat (*Ctenocephalides felis*), les tiques (du genre *Ixodes*) ou les mouches piqueuses (*Hippoboscidae*)

Durant ces 20 dernières années, de nombreuses publications mettent en avant la découverte de nouvelles espèces de *Bartonella*.

L'espèce la plus fréquemment rencontrée est *B.henselae* découverte par (Regnery *et al.* 1992 ; Koehler *et al.* 1994) (2) mise en cause dans la maladie des griffes du chat mais également dans certaines Bartonelloses canines.

Notre étude a été menée au sein de l'Ecole nationale supérieure vétérinaire d'Alger ainsi qu'à l'institut national de médecine vétérinaire d'Alger. Le but de nos travaux a été de confirmer la présence de *Bartonella vinsonii berkhoffii* en Algérie. Pour se faire, nous avons effectué des prélèvements sanguins sur une population de 24 chiens errants afin d'analyser leurs sérums en nous appuyant sur une technique sérologique qui est l'immunofluorescence indirecte.

Dans la première partie de notre mémoire de fin d'études, nous avons synthétisé les principales données bibliographiques relatives à la bactérie, aux manifestations cliniques qu'elle peut occasionner chez les espèces sensibles, et en particulier le chien, et à son épidémiologie. Dans la seconde partie nous avons traité le volet expérimental.

## II HISTORIQUE:

Le nom *Bartonella* vient du nom d'Alberto BARTON découvreur du germe responsable de la maladie de Carrión en 1909 (3)

En 1946 *Bartonella vinsonii* fut découverte.

*B. vinsonii subsp. Berkhoffii* fut isolée pour la première fois en mai 1993 (**Breitschwerdt et al**) du sang d'un chien atteint d'une endocardite.

### III ETUDE BACTERIOLOGIQUE DE L'AGENT ETIOLOGIQUE:

#### III.1 Taxonomie:

Avant 1993, les familles des *Bartonellaceae* et *Rickettsiaceae* furent classées dans l'ordre des rickettsiales. Ainsi le genre *Rochalimaea* faisait partie de la famille des *Rickettsiaceae* et les genres *Bartonella* et *Grahamella* à la famille des *Bartonellaceae*.

Pendant longtemps, le genre *Bartonella* ne comptait qu'une seule espèce : *Bartonella bacilliformis*.

Cette classification fut basée uniquement sur des critères phénotypiques.

Après 1993, (**Brenner et al**) (18), en s'appuyant sur des critères génotypiques, ont proposé une reclassification, celle-ci consistait à placer le genre *Rochalimaea* dans le genre *Bartonella*.

Les genres *Bartonella* et *Grahamella*, et le genre *Rochalimaea* sont séparés de l'ordre des *Rickettsiales*.

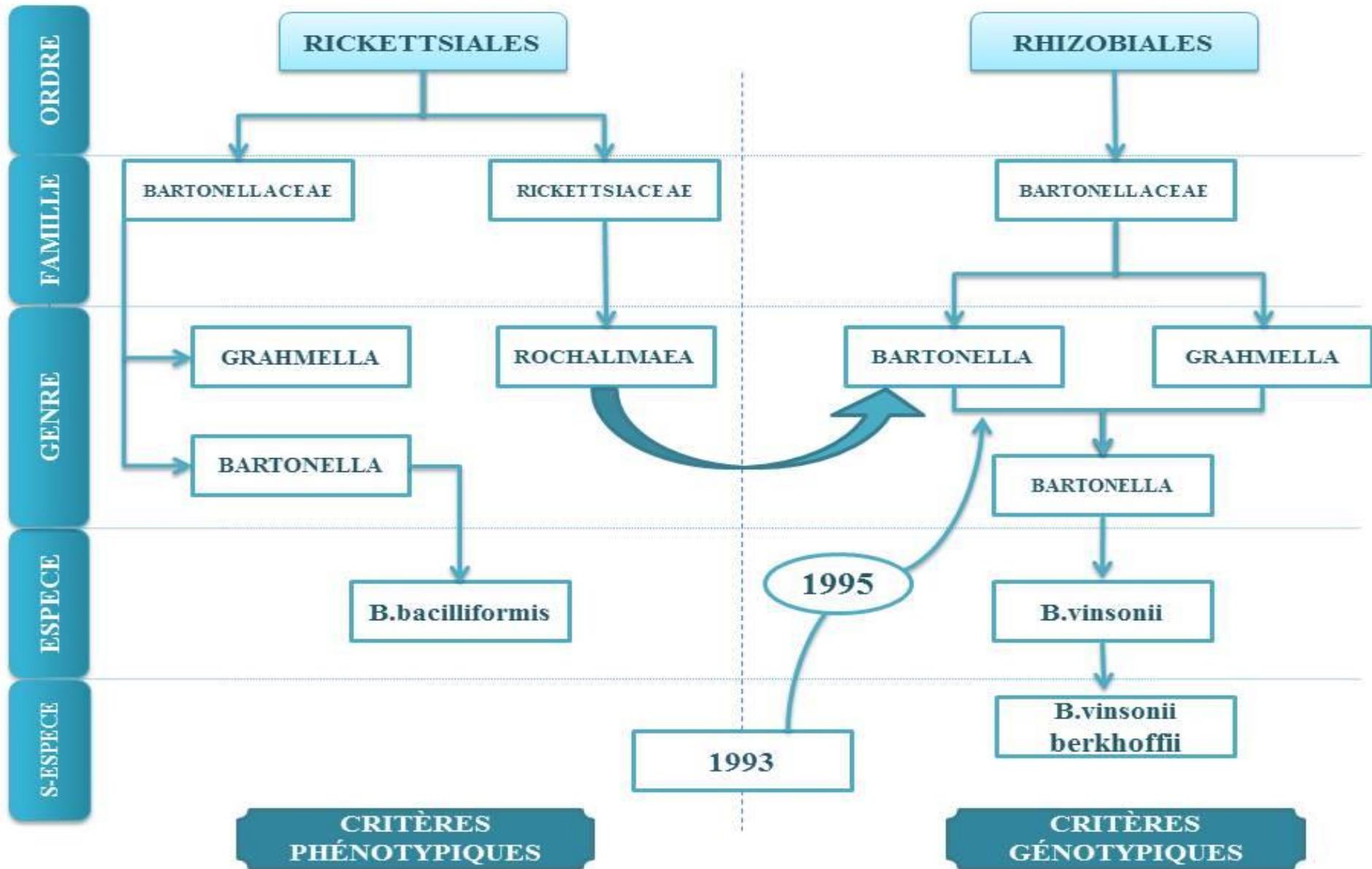
Ainsi, la famille des *Bartonellaceae* est composée du genre *Bartonella* et *Grahamella* et fait désormais partie de l'ordre des *Rhizobiales*.

En 1995, (**Birtles et al**) (18) parvinrent à restructurer la famille des *Bartonellaceae* en réunissant les genres *Bartonella* et *Grahamella* pour former le genre *Bartonella*.

Ce remodelage a permis d'éliminer les genres *Grahamella* et *Rochalimaea* autrefois utilisés

Le genre *Bartonella* appartient donc à la famille *Bartonellaceae*, de la sous-classe des  $\alpha$ 2-*Proteobacteria*.

Le genre *Bartonella* comporte actuellement 27 espèces et sous espèces dont *Bartonella vinsonii subsp berkhoffii* mise en cause dans la bartonellose canine.



(Figure 1: Taxonomie de *Bartonella vinsonii berkhoffii*)

### III.2 Caractères morphologiques, culturels et biochimiques des bartonelles :

Les espèces du genre *Bartonella* sont des micro-organismes, Gram négatif et intracellulaires facultatifs.

Ce sont des bactéries polymorphes, mais le plus souvent en forme de bacilles ou coccobacilles.

De très petite taille, elles ne dépassent pas 3 µm de longueur. (4) Il n'est pas aisé de cultiver les bartonelles, elles peuvent être isolées sur un milieu inerte enrichi en sang de lapin ou de cheval (5) (gélose Columbia), un délai de 10 jours est recommandé entre la préparation de la gélose et l'ensemencement. (6)

La croissance se fait en anaérobiose, l'incubation s'effectue à une température optimale (35° à 37°) dans une atmosphère humide en présence de 5 % de CO<sub>2</sub>.

Des milieux de culture liquides sont désormais disponibles (Maggi *et al.* 2005) (18)

Pour croître, les bactéries utilisent le pyruvate, la succinate, la glutamine ou l'acide glutamique.

Les bartonelles ne possèdent pas la propriété d'acido-alcool-résistance.

Après 10 à 56 jours de culture, les colonies commencent à apparaître, d'une couleur blanc nacré, elles sont rugueuses, adhérentes et s'enfoncent dans la gélose. (7)

Ces bactéries sont en général catalase, oxydase, uréase et nitrate réductase négatives.

Un frottis sanguin fait à partir d'un animal infecté et en état de bactériémie, permet de voir ces bactéries à l'examen direct.

## IV ETUDE DE LA BARTONELLOSE CANINE:

### IV.1 Epidémiologie chez le chien :

#### IV.1.1 Prévalence et facteurs favorisants :

Dans l'ensemble, la prévalence des anticorps anti- *B. vinsonii berkhoffii* chez les chiens domestiques est très faible (<5%) (Pappalardo *et al.* 1997 ; Solano-Gallego *et al.*, 2004 ; Kernif *et al.*, 2010), mais peut être plus élevée chez les chiens errants ou vivants dans un milieu rural où la fréquence d'exposition aux tiques ou aux puces est plus importante qu'en milieu urbain. Ce qui peut constituer un facteur de risque influant sur l'accroissement de la prévalence de *B. vinsonii berkhoffii* chez les chiens ruraux (Breitschwerdt *et al.*, 2000).

Par ailleurs, la séropositivité à *Bartonella* ne persiste pas longtemps chez des chiens infectés naturellement. Ainsi, des chiens inoculés expérimentalement par *B. vinsonii berkhoffii* développent durant les 4 premières semaines post inoculation (Pi), un titre IgG très élevée

avec un seuil de positivité au 1/4096 mais qui après 243 jours PI baisse avec une positivité au 1/64 (**Pappalardo et al, 2000**).

Diverses enquêtes épidémiologiques ont montré que la saison, le sexe, l'âge et la race ne sont pas considérés comme des facteurs qui influent sur la prévalence de la bartonellose canine (**Pappalardo et al.1997 ; Solano-Gallego et al, 2004 ; Kernif et al, 2010**)

#### IV.1.2 Transmission vectorielle et co-infection :

Les vecteurs hématophages mis en cause dans l'entretien et la transmission des bartonelles chez le chien sont variés. Outre la puce du chat (*Ctenocephalides felis*) et son implication dans l'entretien de l'infection à *Bartonella henselae*, d'autres vecteurs sont impliqués, notamment les tiques (**Breitschwerdt et al., 2000 ; Baneth et al., 1998**). Dans une étude récente, des auteurs suggèrent qu'il est très probable que *Rhipicephalus sanguineus* soit un vecteur compétent dans la transmission de *B.vinsonii berkhoffii* à l'hôte vertébré (**Billeter et al, 2012**).

Par ailleurs, une corrélation existe entre la séropositivité à *Bartonella vinsonii* et à *Rickettsia rickettsia*. Cela laisse supposer que *Dermacentor variabilis*, la seule tique reconnue comme vecteur de *Rickettsia rickettsia*, serait aussi un vecteur de *Bartonella spp*. Cette tique est connue pour se nourrir sur de petits rongeurs, sur les chiens, sur l'homme. Elle est rencontrée au printemps, en été et en automne. (7)

En 2001, (**Hinrichsen et al**) (8) ont étudié les sérums de 277 chiens à Rhode Island. Ils ont montré que l'exposition des chiens aux tiques est un facteur de risque en ce qui concerne l'infection à *B. vinsonii subsp. berkhoffii*. Cette espèce de bartonelle serait transmise par la tique *Amblyomma americanum* aux Etats-Unis. Ils ont aussi remarqué que les chiens infectés par cette bartonelle le sont simultanément par des *Ehrlichia* et des *Borrelia*.

D'après **Chomel** (9), d'autres études montrent une relation entre l'infestation des chiens par des tiques et la séropositivité à *B. vinsonii subsp. berkhoffii*. Les tiques incriminées aux Etats-Unis seraient donc : *Dermacentor*, *Amblyomma*, *Rhipicephalus* et *Ixodes*.

D'autre part, les sérums de chiens infectés expérimentalement par *Ehrlichia canis* ou *Rickettsia rickettsiane* présentent pas de réactions croisées avec les antigènes de bartonelles.

Alors que 36% des sérums de chiens infectés naturellement par *Ehrlichia canis* et 52% par *Babesia canis*, ont réagi positivement à *B. vinsonii*. Sachant que les deux premiers agents sont transmis par *Rhipicephalus sanguineus*, cette dernière pourrait intervenir dans la transmission de *B. vinsonii* en particulier dans des chenils soumis à de fortes infestations par les tiques.

Cependant, pour **Chomel**, les tiques du genre *Ixodes* ne joueraient pas le rôle de vecteurs pour les carnivores. (**Breitschwerdt et al**) (10) ont montré que les sérums de 4 chiens sur 12 atteints d'ehrlichiose soit 33% sont réactifs aux antigènes de *B. vinsonii subsp berkhoffii*. De même, ils montrent que 23 chiens sur 27 soit 85% issus d'un chenil très infecté par les tiques sont séropositifs à *B. vinsonii subsp. Berkhoffii* (11).

#### IV.1.3 Spécificité d'hôte :

La transmission des bactéries serait influencée par la prédilection du vecteur pour certains hôtes, ce qui engendre l'association d'une bartonelle donnée avec un hôte spécifique.

(**Breitschwerdt et Kordick**) ont relaté une expérience menée par **Chomel et al** qui démontrait que les chiens ne devenaient pas bactériémiques avec *B.henselae*, de même que les chats ne développaient pas de bactériémies avec *B.vinsoniisubsp berkhoffii*.

Cependant, il n'est pas rare de retrouver plusieurs espèces de bartonelles sur le même hôte, de la même façon, il est possible de retrouver une espèce de bartonelle sur plusieurs espèces d'hôtes.

#### IV.2 Clinique chez le chien :

Diverses manifestations cliniques ont été recensées avec certitude chez le chien. Elles se traduisent par une endocardite, une arythmie cardiaque (*Bartonella vinsonii berkhoffii*), une rhinite granulomateuse (*Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii*), une péliose hépatique (*B. henselae*), une méningo-encéphalite granulomateuse neutrophilique avec une vascularite chronique (*Bartonella vinsonii berkhoffii*) et enfin une lymphadénite granulomateuse (*B.henselae*) (**Guptill, 2010**).

Compte tenu de ces différentes manifestations cliniques, le chien pourrait constituer un excellent modèle pour les infections humaines à *Bartonella*, puisque les symptômes chez cette espèce sont assez similaires chez l'homme et que les espèces de *Bartonella* incriminées chez le chien sont aussi celles qui ont été identifiées comme pathogènes pour l'espèce humaine (**Boulouis et al. 2007**).

##### IV.2.1 Clinique due à *Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii* :

###### a) Symptômes :

*Bartonella vinsonii subsp. berkhoffii* est une bactérie hémotrope.

Les chiens affectés présentent des signes d'endocardite ou de myocardite, des arythmies, et des souffles cardiaques, ces symptômes sont d'apparition brutale.

Fièvre, abattement, et inappétence font également partie du tableau clinique.

Une difficulté au déplacement provoquée par des douleurs aux membres peut éventuellement évoquer une polyarthrite

La perte de poids, les crises convulsives, les épistaxis récurrentes, les tremblements de membres, les vomissements et diarrhées, l'ataxie, la thrombocytopénie, la vasculite cutanée suppurative nécrosante, l'infarctus rénal, la lymphadénite granulomateuse, ainsi que la rhinite n'ont pas été confirmés comme étant des symptômes rattachés la bartonellose.

b) Résultats des examens complémentaires

L'électrocardiogramme montre des extrasystoles ventriculaires le plus souvent isolées. Dans certains cas, on peut observer des fibrillations atriales ou des blocs atrio-ventriculaires complets. L'échocardiographie révèle une large lésion végétative sur les valves aortiques et /ou mitrales en général, mettant ainsi en évidence une grande insuffisance valvulaire aortique et mitrale. Le ventricule gauche est dilaté.

c) Modifications des paramètres biochimiques, hématologiques et urinaires

Les examens de laboratoire peuvent révéler une anémie avec sphérocytose, une hyperglobulinémie et une hyperprotéinémie ainsi qu'une neutrophilie. On peut noter aussi une protéinurie et une hémoglobinurie. Les anomalies biochimiques incluent : hypoalbuminémie, azotémie, hypokaliémie. Les analyses d'urine montrent une protéinurie et une hémoglobinurie (parfois), ainsi qu'une bilirubinurie, une pyurie et une bactériurie.

d) Modifications histologiques

Microscopiquement, les lésions valvulaires sont composées d'un abondant tissu thrombotique contenant des débris cellulaires, des macrophages, des neutrophiles, des érythrocytes, de l'hémosidérine, des zones de fibrose et de minéralisation ainsi que de nombreuses colonies bacillaires. On peut noter de sévères foyers de myocardite associés à l'inflammation des artères coronaires et à des zones de nécrose fibrinoïde. Ces foyers inflammatoires sont caractérisés par une perte de fibres myocardiques, une néovascularisation et un nombre variable de neutrophiles et de macrophages.

#### IV.2.2 Clinique due à *Bartonella henselae* :

a) Symptômes

*Bartonella henselae* est responsable chez le chien de la péliose hépatique. Elle entraîne l'apparition d'ascite (liquide séro-hémorragique, transsudat modifié) d'où une distension abdominale.

b) Résultats des examens complémentaires

La radiographie et l'échographie révèlent une hépatomégalie. Le foie contient de multiples petites masses nodulaires et des structures kystiques.

c) Modifications des paramètres biochimiques, hématologiques et urinaires

Les modifications de la numération et de la formule sanguine sont les suivantes : leucocytose avec neutrophilie, monocytose et éosinopénie. Les anomalies biochimiques incluent : hyponatrémie, hypochlorémie, hyperkaliémie (plus probablement due à l'effusion péritonéale), et une augmentation des phosphatases alcalines.

d) Modifications histologiques

Histologiquement, la maladie se traduit par de multiples espaces dilatés remplis de sang entourés par un stroma fibromyxoïde contenant des cellules inflammatoires et des capillaires dilatés. Les espaces remplis de sang sont entourés partiellement par une simple épaisseur d'endothélium.

## **V PATHOGENIE :**

L'hémotropisme des bartonelles est déterminé par leur besoin en fer. Ces bactéries persistent au sein de leur hôte grâce à une biologie particulière et une transmission par le biais de vecteurs arthropodes piqueurs variés.

En effet, après inoculation, les bartonelles ne peuvent coloniser les érythrocytes qu'après un passage dans une niche cellulaire primaire, encore mal connue, dans laquelle la bactérie se multiplie et persiste. La phase de bactériémie a lieu 4 à 5 jours post-inoculation par l'invasion des érythrocytes mûres. Ce mode d'infection permet aux *Bartonella* d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte et constitue en outre une excellente adaptation à la diffusion dans tout l'organisme et à la transmission vectorielle.

## **VI DIAGNOSTIC:**

### **VI.1 Diagnostic clinique :**

Le diagnostic clinique est difficile à établir chez les chiens. En effet, les signes cliniques observés sont peu caractéristiques. Une infection à *Bartonella* devrait être

suspectée chez un chien atteint d'une endocardite et plus spécifiquement d'une endocardiose valvulaire (**MacDonald et al, 2004**). Une bartonellose doit être également évoquée chez des chiens présentant une fièvre intermittente, une léthargie, une boiterie et une atteinte granulomateuse inexplicables.

Chez les chiens séropositifs à *B. vinsonii berkhoffii*, on constate très souvent une anomalie de la formule de numération sanguine (**Breitschwerdt et al, 2004**).

#### VI.2 Hémoculture :

La culture des bartonelles est fastidieuse. La culture sur gélose et la culture cellulaire sont parfois réalisées en parallèle pour obtenir un résultat optimal. La culture peut être réalisée à partir de sang prélevé sur tube EDTA ou de biopsies ganglionnaires, de valves cardiaques, de biopsies cutanées, de biopsies ostéomédullaires. Ces échantillons biologiques doivent être obligatoirement prélevés stérilement. En effet, les bartonelles sont des bactéries à croissance lente (4 à 6 semaines) et les risques de contamination par des germes secondaires introduits accidentellement lors du prélèvement peuvent stopper leur croissance ou fausser la lecture. Par ailleurs, la congélation du prélèvement est possible en attente d'acheminement ; de plus elle contribuerait à la libération des bactéries intra érythrocytaires.

#### VI.3 Sérologie :

La sérologie est d'intérêt plus limité dans les espèces réservoirs, en particulier chez l'espèce canine. En effet, une sérologie positive ne renseigne pas sur l'état bactériémique et elle n'est pas suffisante pour confirmer une infection à *Bartonella* chez un chien malade.

Les anticorps apparaissent quelques jours après la bactériémie et persistent plusieurs semaines après sa disparition. Ils n'ont pas de réel effet protecteur.

La recherche des anticorps dirigés contre *B. vinsonii berkhoffii* fait appel soit à l'Immunofluorescence Indirecte (IFI), soit aux techniques immuno-enzymatiques représentées essentiellement par l'ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay), et le Western Blot (WB) (**Maurin et al, 2002**). Les antigènes sont préparés soit à partir de bactéries cultivées sur milieu gélosé soit à partir de bactéries cultivées sur cultures cellulaires mais les titres en anticorps varient suivant le mode de préparation.

#### VI.4 Biologie moléculaire :

En réalité, seule la biologie moléculaire permet d'établir une identification spécifique et rapide des bartonelles. De nombreuses techniques de PCR simple ou emboîtée ont été développées afin de diagnostiquer les infections dues aux différentes espèces du genre *Bartonella*. Plusieurs séquences d'amorces ciblant différents gènes sont utilisables. Les gènes

les plus souvent amplifiés sont: *gltA*, *ITS*, *ribCgroEL*, *rpoB*, *PAP* et *ftsZ*. L'amplification de gène par PCR peut être pratiquée directement sur des biopsies (ganglionnaires, hépatiques, spléniques, cutanées, valves cardiaques) ou sur du sang prélevé sur des animaux suspects.

Des PCR quantitatives en temps réel utilisant des sondes spécifiques ont été développées. Ce type de PCR est simple, reproductible, rapide, précis et potentiellement transférable à des échantillons cliniques (**Colborm *et al*, 2010**).

## **VII TRAITEMENT CHEZ LE CHIEN :**

In vitro, plusieurs études ont montrés que les Bartonella étaient toutes particulièrement sensibles aux bêta-lactamines, aux aminosides, aux macrolides, aux tétracyclines, à la rifampicine. Seuls les aminosides sont bactéricides in vitro que ce soit en milieu axénique ou cellulaire. (7)

Chez le chien l'azithromycine ainsi que la doxycycline et l'enrofloxacin sont des traitements de choix.

Pour le traitement d'uvéites la doxycycline a été préconisée. (13)

Pour les endocardites, il sera prescrit de l'amoxicilline-acide clavulanique ou enrofloxacin ou encore la doxycycline (14)

Pour traiter les atteintes granulomateuses l'azithromycine s'est révélé efficace (15)

L'hépatite granulomateuse a répondu favorablement à la doxycycline et l'enrofloxacin (15) mais l'inconvénient est la longue durée du traitement.

### **VII.1 Posologie :**

Les endocardites bactériennes sont traitées avec de l'enrofloxacin (306 mg en 2 prises quotidiennes), doxycycline (400 mg en 2 prises quotidiennes), amoxicilline potentialisée par du clavulanate (530 mg en 2 prises quotidiennes), furosémide (40 mg en 2 prises quotidiennes, lors d'insuffisance cardiaque), digoxine (0,25 mg en 2 prises quotidiennes) et énalapril (20 mg en 2 prises quotidiennes). (7)

## **VIII PREVENTION CHEZ LE CHIEN :**

Pour parer aux infestations on utilisera des sprays ainsi que des diffuseurs à base, essentiellement de pyréthriinoïdes et de régulateurs de croissance des puces.

Pour prévenir l'apparition des puces, on pourra utiliser des colliers à base d'organophosphorés ou de carbamates ou des spot-on à base de pyréthriinoïdes ou de fipronil. Il est possible d'utiliser les mêmes molécules lorsque le chien subit une forte infestation.

Toutes ces mesures visent à lutter contre la propagation dans l'environnement des populations de puces et de tiques ou de tout autre arthropode impliqué dans la dissémination de l'infection chez le chien.

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

## **CHAPITRE 2:        MATERIEL ET METHODE :**

### **I    MATERIEL :**

#### **I.1    Population de chiens prélevés :**

En Algérie, dans le cadre de la lutte contre les zoonoses, l'organisme « Hurbal » a pour mission de capturer les chiens et chats errants provenant de différents endroits à travers Alger.

Etant donné les conditions de vie déplorables et insalubres de ces animaux, ils sont plus exposés que les chiens domestiques aux infestations d'ectoparasites responsables de la transmission de la bartonellose canine.

Pour prouver l'existence et déterminer une séroprévalence, nous avons choisi de travailler sur ces chiens en ajoutant le facteur saison qui est un paramètre important, même si non démontré, dans la transmission de la maladie puisque il existe un pic d'infestation de tiques et de puces au printemps.

### **II    METHODE :**

#### **II.1    Prélèvements sanguins :**

##### **II.1.1 Prélèvements sur chiens errants :**

Les prélèvements sanguins ont été réalisés sur des chiens euthanasiés La ponction est faite de manière aseptique en intracardiaque. Chaque ponction fournit au maximum 5mL répartis dans un tube sec.

##### **II.1.2 Préparation et conservation des sérums :**

Une fois les prélèvements effectués, les échantillons ont été transportés au laboratoire de microbiologie de l'ENSV. Les tubes secs ont été centrifugés durant 10 min à 3000 tours/min. Puis les sérums ont été recueillis à l'aide d'une micropipette dans des tubes Eppendorf de 4 ml identifiés et congelés dans l'unique but de les conserver dans l'attente de l'analyse sérologique.

#### **II.2    L'analyse par Immunofluorescence indirecte :**

L'immunofluorescence est une technique permettant de visualiser par fluorescence un complexe antigène particulaire-anticorps. Ses applications sont multiples en virologie, bactériologie et parasitologie. (16)

##### **II.2.1 Principe d'immunofluorescence indirecte :**

L'immunofluorescence indirecte est utilisée pour détecter les anticorps présents dans le sérum à la suite de l'exposition d'un individu à des micro-organismes. Dans cette technique, c'est l'antigène connu qui est fixé sur la lame. L'antisérum à tester est alors ajouté et si l'anticorps spécifique est présent, il réagit avec l'antigène et forme un complexe. Si on ajoute une anti-immunoglobuline marquée à la fluorescéine, elle réagit avec l'anticorps fixé. Après incubation et lavage, la lame est examinée au microscope à fluorescence. Le développement d'une fluorescence montre la présence dans le sérum de l'anticorps dirigé contre l'antigène utilisé dans le test. (17)

#### II.2.2 Matériels utilisés :

- ❖ Lames teflonées Bartonella maison.
- ❖ Conjugué anticorps anti-IgG dechien marqué au fluorochrome (Jackson immunoresearch, USA).
- ❖ Eau distillée stérile.
- ❖ Bleu d'Evans (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France) : Bleu d'Evans (1 %) : soit une goutte dans 5 mL de PBS. Cette solution est utilisée comme contre-colorant dans les réactions d'immunofluorescence, afin d'améliorer les contrastes entre les réactions positives et négatives en masquant les fluorescences non spécifiques et les faisant apparaître en rouge sombre.
- ❖ PBS Phosphate Buffer Saline à reconstituer (biomérieux) : phosphate buffered saline) pH à 7,2. Ce tampon est composé de 7.650 g de chlorure de sodium, de 0.724 g de phosphate di-sodique et de 0.210 g de phosphate mono- potassique. Il se présente sous forme de cristaux à dissoudre dans un litre d'eau distillée stérile. La fluorescence avec des globulines marqués à l'isothiocyanate de fluorescéine est maximale a pH légèrement alcalin, d'où l'utilisation du PBS (4)
- ❖ Lamelles
- ❖ Sérum à tester
- ❖ Pipettes(p20 p50 p1000)
- ❖ Cônes jaunes
- ❖ Cônes bleus
- ❖ Milieu de montage (Fluoprep<sup>ND</sup>, laboratoire Biomérieux) : ce gel est composé d'alcoolpolyvinylique, de glycérine et de tampon tris. Il permet de fixer la lamelle à la lame.
- ❖ Cotons tiges

- ❖ Papier absorbant
- ❖ Agitateur magnétique
- ❖ « Vortex »
- ❖ Chambre humide
- ❖ Etuve à 37°
- ❖ Microscope à fluorescence

### II.2.3 Etapes de réalisation de l'immunofluorescence indirecte (IFI):

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 (10µL de sérum dans 490 µL de PBS). Chaque lame de douze puits comporte un sérum témoin positif et un sérum témoin négatif.

Les lames sont incubées 30 minutes à 37°C sous atmosphère humide suivi de 2 rinçages de 5 minutes dans du PBS.

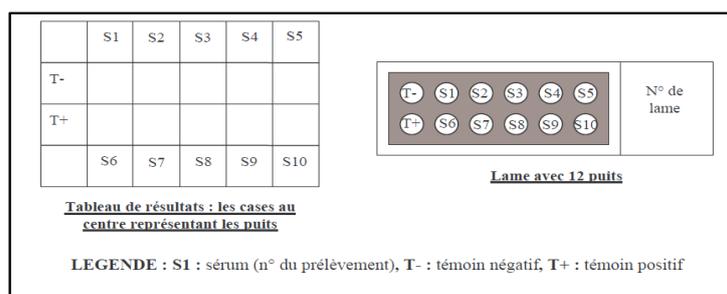
Le conjugué, dilué au 1/50ème, en utilisant une solution de bleu d'Evans dans du PBS (15 µL par puits).

Les lames sont de nouveau incubées à 37°C sous atmosphère humide pendant 30 minutes. Deux rinçages de 5 minutes sont ensuite effectués puis du fluoprep<sup>ND</sup> est ajouté. La lame est recouverte d'une lamelle.

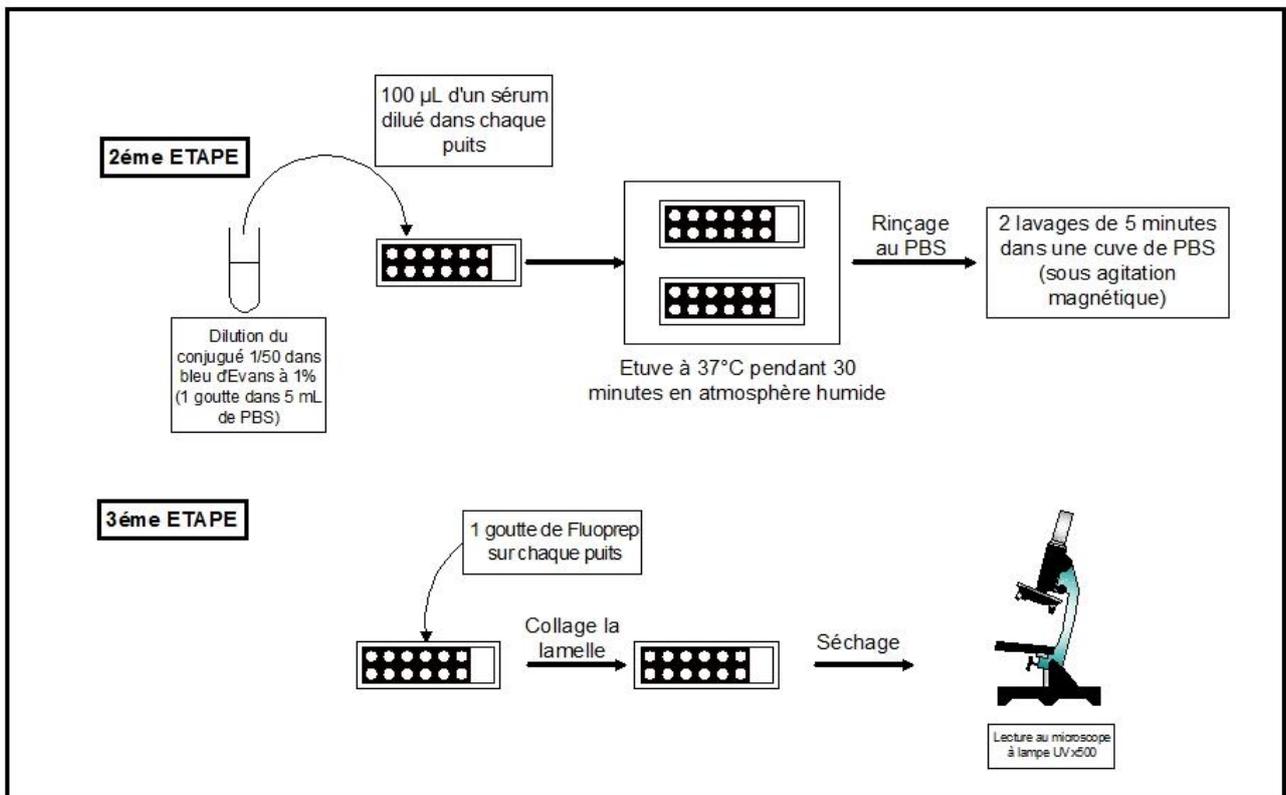
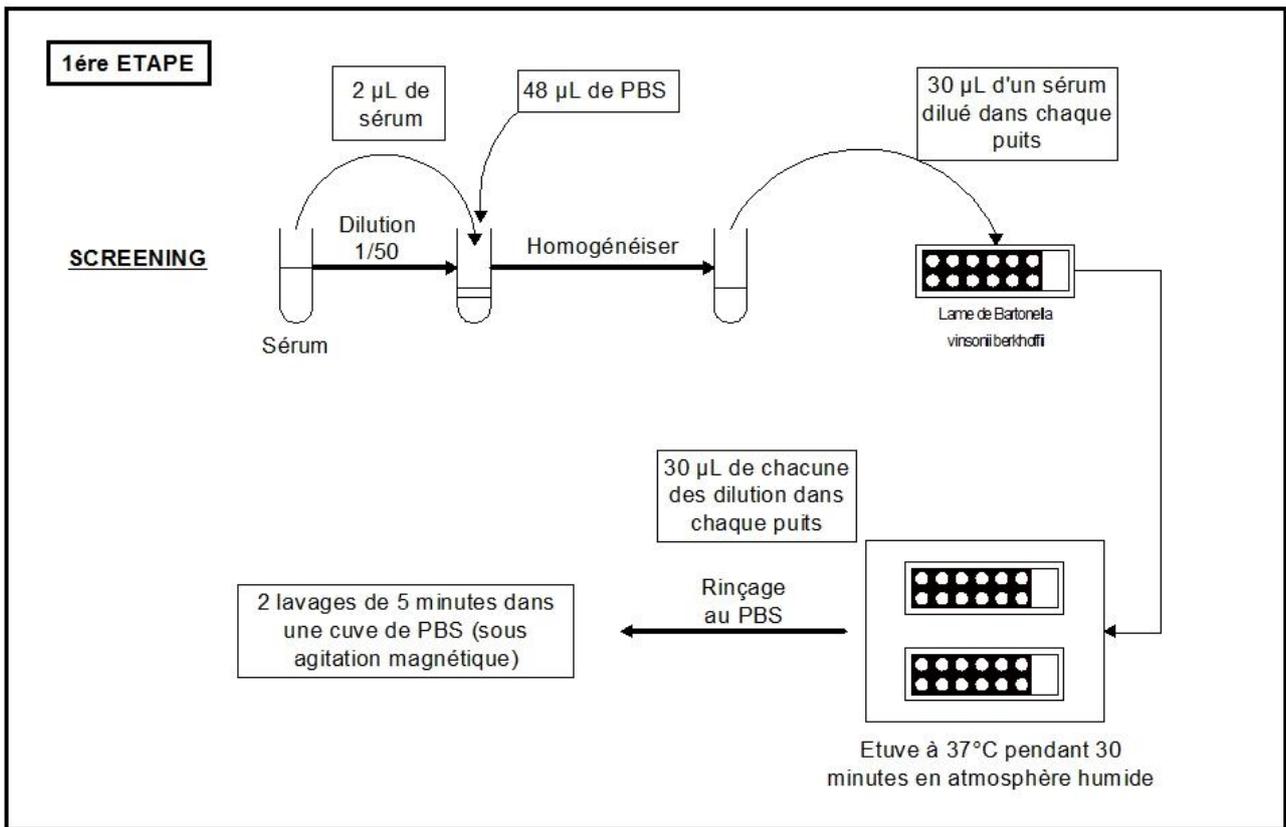
Les lames ont été lues au microscope (grossissement x40) à fluorescence. La lecture a été réalisée en double aveugle selon un barème prédéfini comme l'indique le tableau (1). Les résultats ont été indiqués sur la feuille de résultats comme l'indique la figure (2).

RESULTAT	SIGNIFICATION
0	Fluorescence non spécifique, puits identique au contrôle négatif
+	Bactéries visibles mais absence de fluorescence
++	Fluorescence modérée dans la plupart des cellules infectées
+++	Fluorescence dans toutes les cellules infectées et hors des cellules
++++	Fluorescence très intense dans et hors des cellules

(Tableau 1: Barème de des lames d'immunofluorescence)



(Figure 2: tableau des résultats et schéma de la lame correspondante)



(Figure 3: Technique d'immunofluorescence indirecte)

## CHAPITRE 3: RESULTATS

### I DESCRIPTION DE LA POPULATION :

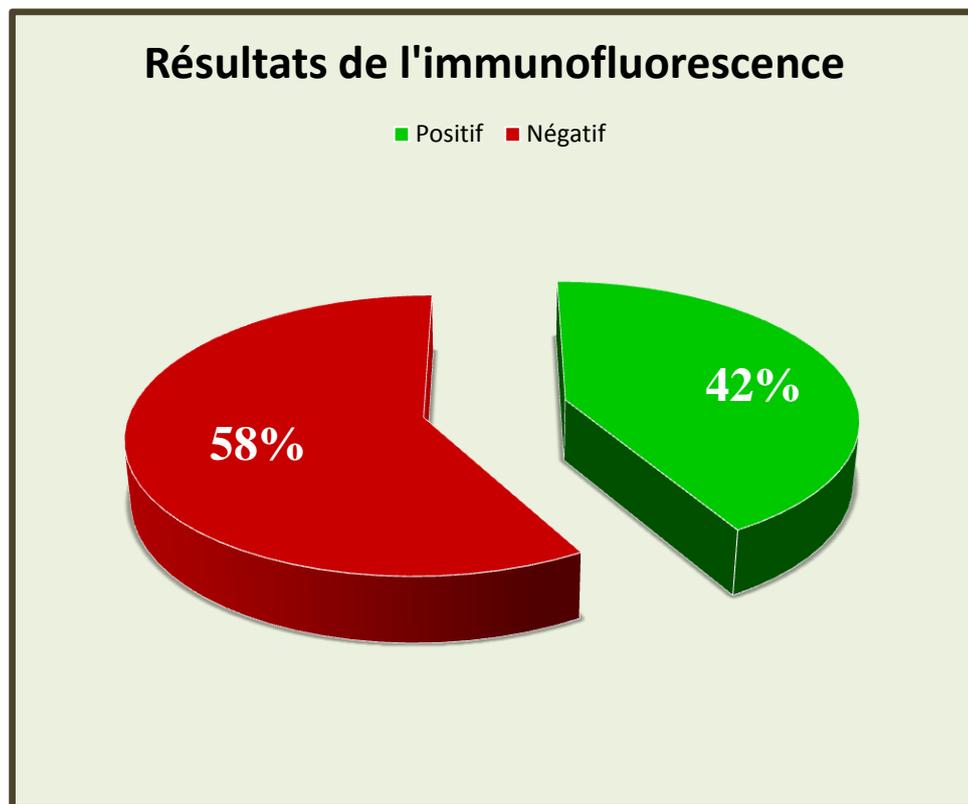
Cette étude inclus 24 chiens.

Tous étaient de races croisées et leur statut médical est inconnu.

L'âge moyen des chiens est de 18 mois, avec une fourchette de 2 mois à 4 ans.

L'échantillon comprend 10 mâles et 14 femelles.

Tous les chiens provenaient de la fourrière canine d'Alger.



(Figure 4: Diagramme circulaire représentant les résultats de l'ifi)

### II RESULTATS SEROLOGIQUES :

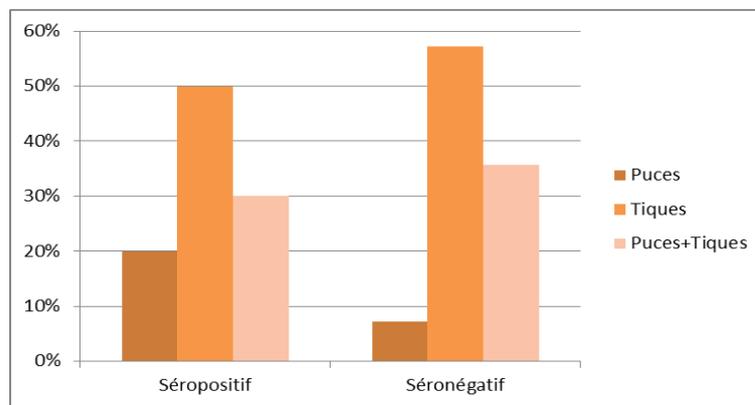
Les résultats de l'Immunofluorescence indirecte obtenus, sont les résultats du criblage à la dilution du 1/50.

Sur les 24 sérums analysés par immunofluorescence indirecte, 10 sont positifs pour *B. vinsonii berkhoffii*. La séroprévalence est donc de 41.6 % (Figure 4 ; tableau 3).

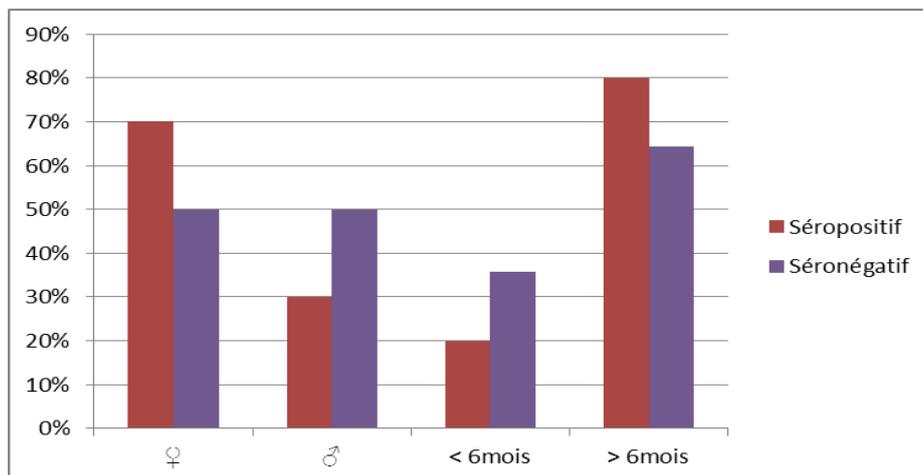
L'analyse de l'association sexe, âge, présence de vecteurs et séropositivité à *B. vinsonii berkhoffii* est représentée dans les (figures 5 et 6).

RESULTATS	SEXE		AGE		VECTEURS		
	♀	♂	< 6mois	> 6mois	Puces	Tiques	Puces+Tiques
Séropositif	7(70%)	3(30%)	2(20%)	8(80%)	2(20%)	5(50%)	3(30%)
Séronégatif	7(50%)	7(50%)	5(36%)	9(64%)	1(7%)	8(57%)	5(36%)

(Tableau 2 : Résultats de l'immunofluorescence indirecte en fonction du sexe, de l'âge et des vecteurs)



(Figure 5: Diagramme Résultats IFI - VECTEURS-)



(Figure 6: Diagramme Résultats immunofluorescence indirecte- sexe-âge-)

## **CHAPITRE 4: DISCUSSION**

L'immunofluorescence permet d'obtenir des résultats rapides, facilement comparables et de faible coût, ce qui constitue des avantages majeurs dans le cadre d'un screening sérologique.

L'Immunofluorescence indirecte est la méthode de référence pour mettre en évidence des anticorps dirigés contre des bartonelles. La lecture des lames peut être à l'origine d'erreurs d'interprétation liées à l'hétérogénéité des lames, à la qualité des sérums, aux titrages, à la dilution des sérums ainsi qu'à la subjectivité des lecteurs.

Les lames sont fabriquées au service d'immunologie-microbiologie de l'ENVA.

Certains puits ne contiennent pas suffisamment de cellules et/ou de bactéries pour interpréter correctement la fluorescence.

La qualité des sérums constitue un autre facteur limitant de l'IFI. En effet, certains puits présentaient des traces d'impureté se traduisant au microscope par des points fluorescents sur toute la lame aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur des cellules, rendant sa lecture très difficile.

Le facteur le plus limitant de cette technique reste la subjectivité des lecteurs. Bien que la lecture se fasse en double aveugle, les résultats peuvent être discordants. En effet, le temps écoulé entre les 2 lectures est responsable d'une diminution de la fluorescence et de l'apparition de bulles d'air sur la lame. De plus, chaque lecteur interprète personnellement la fluorescence.

Le niveau de prévalence obtenu pour *B. vinsonii berkhoffii* était de (41.66%). 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 (16.8%, 11.5%) (Solano-Gallego *et al*, 2006). Ce travail apporte une seconde fois la preuve que l'espèce *B. vinsonii berkhoffii* est présente en Algérie.

## **CHAPITRE 5: CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS**

Ce travail nous a permis d'établir de façon indirecte (immunofluorescence) la présence d'*B. vinsonii berkhoffii*, vectorisée par des arthropodes hématophages dans la population canine de la région d'Alger.

Par ailleurs, notre étude ne nous a pas permis de mettre en évidence une relation entre le statut sérologique des chiens et leur âge, leur race ou leur état de santé.

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

Les conseils en matière de prévention contribuent également à diminuer les facteurs de risques pour les personnes les plus exposées. Chez le chien, les connaissances en sont à leur début, le tableau clinique étant peu caractéristique, et les infections sub-cliniques très fréquentes. D'autres études à venir pourraient s'intéresser par exemple au statut clinique des animaux, ce qui permettrait d'établir un seuil sérologique pour les atteintes cliniques de la bartonellose canine. Les outils de diagnostic utilisés sont souvent adaptés de produits humains, ce qui nécessite un étalonnage préalable des tests.

## Références :

- (1) Henri-Jean BOULOUIS, Geneviève MARIGNAC, Nadia HADDAD, Renaud MAILLARD et Bruno CHOMEL... « ANIMAL RESERVOIRS AND PRIMARY HOSTS OF BARTONELLA » 2008
- (2) REGNERY et Al. 1992 ; KOEHLER et Al. 1994 «Molecular Medical Microbiology, Three-Volume Set»
- (3) Sophie Isabelle COMPAGNON (Thèse pour le doctorat vétérinaire 2001)
- (4) CHANG WL, PAN MJ. « Specific amplification of Ehrlichia platys DNA from blood specimens by two-step PCR ». J. Clin. Microbiol. 1996, 34:12, 3142-3146.
- (5) HARRUS S, AROCHI I, LAVY E, BARK H. « Infectious canine cyclic thrombocytopenia, clinical manifestation ». Israel J. Vet.Med.1997, 52:1, 23.
- (6) KUEHN NF, GAUNT SD. « Hypocellular marrow and extramedullary hematopoiesis in a dog : hematologic recovery after splenectomy ». J. Am. Vet. Med. Assoc. 1986, 188:11, 1313-1315
- (7) Estelle, Camille, BITAN (Thèse pour le doctorat vétérinaire 2002) « *LES BACTERIES HEMOTROPES : ASPECTS BACTERIOLOGIQUE, EPIDEMIOLOGIQUE, CLINIQUE CHEZ LE CHIEN ET PATHOLOGIE COMPAREE CHEZ L'HOMME* ».
- (8) GROUPE AZAY. Collège de bactériologie, de virologie et d'hygiène hospitalière. [en ligne]. [<http://www.uvp5.univ.paris5.fr/Microbes/>] (consulté le 15 Octobre 2001).123
- (9) DAVOUST B. « L'ehrlichiose canine ». Point Vét. 1993, 25 :151, 43-51.
- (10) BUSSIERAS J, CHERMETTE R. Parasitologie vétérinaire, IV- Entomologie. Service de Parasitologie, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. 1991, 37-54.
- (11) BRINSON JJ, MESSICK JB. « Use of a polymerase chain reaction assay for detection of Haemobartonellacanis in a dog ». J. Am. Vet. Med. Assoc. 2001, 218:12, 1943-1945.
- (12) <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/PCR/>
- (13) « Uveitis and Immunological Disorders, Volume 1 » publié par Uwe Pleyer, BartlyMondino  
« Optical Biosensors: Present & Future: Present &Future » Par Frances S. Ligler, Chris Rowe Taitt
- (14) BREITSCHWERDT, E.B. *et al.* 1995. « Endocarditis in a dog due to infection with a novel *Bartonella* subspecies ». J. Clin. Microbiol. 33:154-160.  
CHOMEL BB, et al. (2001) « Aortic valve endocarditis in a dog due to *Bartonella clarridgeiae* ». J.Clin.Microbiol. 39:3548-3554.

CHOMEL BB, et al. (2003) « Isolation of Bartonella washoensis from a dog with mitral valve endocarditis ». J.Clin.Microbiol. 41(11): 5327-5332.

(15) PAPPALARDO, B.L. et al. 2000. « Granulomatous disease associated with Bartonella infection in two dogs ». J. Vet. Int. Med. 14:37-42.

Gillespie, T.N. et al. 2003. « Detection of Bartonella henselae and Bartonella clarridgeiae DNA in hepatic specimens from two dogs with hepatic disease ». J.A.V.M.A. 222:47-51.

(16) « Principes des méthodes d'analyse biochimique, Volume 2 » Par Claude AUDIGIE, Gérard DUPONT, François ZONZAIN

(17) « Microbiologie » par Lansing M. Prescott, John P. Harley, Donald A. Klein

(18) « Bartonella and Afipia Species Emphasizing Bartonella Henselae » publié par Axel Schmidt

(19) MAGGI et Al. 2005 J clin Microbiol 43::4807-4810

(20) (PAPPALARDO et Al. 1997) « Comparative Epidemiology of Bartonella Infection in Dogs and Humans » par Ashlee Walker Duncan.