

République Algérienne Démocratique  
et Populaire  
Ministère de l'Enseignement  
Supérieur et la Recherche Scientifique  
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



## MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Magister

Option : **Immunologie Animale**

Thème :

### **L'infection par *Babesia canis* chez le chien dans la région d'Alger : Étude parasitologique et sérologique**

Présenté par : **KIOUANI Amel**

Les membres du jury :

<b>Présidente</b>	<b>: Dr. HAFSI F</b>	<b>Maître de Conférences classe A</b>	<b>E.N.S.V- Alger.</b>
<b>Promotrice</b>	<b>: Pr. GHALMI F</b>	<b>Professeur</b>	<b>E.N.S.V- Alger.</b>
<b>Co-Promotrice</b>	<b>: Dr. AZZAG N</b>	<b>Maître de Conférences classe A</b>	<b>E.N.S.V- Alger.</b>
<b>Examineur</b>	<b>: Pr. AIT OUHDIA K</b>	<b>Professeur</b>	<b>E.N.S.V- Alger.</b>
<b>Examineur</b>	<b>: Pr. TRIKI YAMANI R</b>	<b>Professeur</b>	<b>ISV- Blida1.</b>

Année Universitaire : **2016/2017**

## *Remerciements*

Mes vifs remerciements et ma reconnaissance sont adressés à ma directrice de thèse *Pr. GHALMI Farida* pour m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse et d'en avoir suivi l'évolution, pour votre gentillesse, votre disponibilité et votre indulgence vis-à-vis de ma lenteur chronique ; Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et ma profonde estime

Je tiens aussi à exprimer mes sincères et chaleureux remerciements à *Dr. AZZAG Nawel* ma co-directrice de thèse pour ses conseils pertinents. Veuillez recevoir ces remerciements comme le témoignage de ma gratitude et de ma respectueuse reconnaissance

Je remercie cordialement *Dr. HAFSI Fella* pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse. Veuillez recevoir ces remerciements comme le témoignage de ma gratitude et de ma respectueuse reconnaissance.

Mes vifs et chaleureux remerciements à *Pr. AIT OUDHIA Khatima* de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être membre examinateur du jury. Veuillez recevoir ces remerciements les plus sincères et ma profonde reconnaissance.

Je tiens également à adresser mes sincères remerciements à *Pr. TRIKI YAMANI Rachid* de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être membre examinateur du jury. Veuillez recevoir ces remerciements les plus sincères et ma profonde reconnaissance

*Mes sincères et chaleureux remerciements vont à :*

Mr. *Saadi Ahmed*, Technicien du laboratoire de parasitologie, pour son aide et sa disponibilité lors de la réalisation de ce travail.

Mes chers amies *Hadjira* et *Zakia* pour leur aide au cours de la réalisation des prélèvements au sein de leurs cabinets vétérinaire.

L'ensemble du personnel de la bibliothèque de l'ENSV pour leur aide et leur gentillesse

L'ensemble du personnel de laboratoire L'INMV pour leur aide.

L'ensemble du personnel de la fourrière canine d'El Harrach qui m'ont facilité la réalisation des prélèvements

En fin, à toutes les personnes qui, de façon directe ou indirecte, m'ont soutenu tout au long de ce travail.

## *Dédicaces*

**Je dédie ce travail :**

*À mes chers parents que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments pour leur patiente illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices*

*À toi papa, le meilleur papa du monde, tu es mon père et mon ami, l'amour et le respect que j'ai pour vous sont infinis*

*À toi maman, tu m'as couvert de ta tendresse et ton amour, tu étais toujours disponible pour m'aider, aucun mot ne saurait t'exprimer mon amour et ma reconnaissance infinie.*

*Soyez sûrs que je mesure à quel point j'ai de la chance de vous avoir comme parents, Que Dieu vous protège et vous garde*

*À mon très cher mari **Amine**, Merci d'être toujours à mes côtés, par ta présence, par ton amour et ta tendresse. Et merci pour tes conseils et tes encouragements. Je prie dieu le tout puissant pour qu'il te donne le bonheur et la prospérité*

*À ma très chère sœur **Nesrine** pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent et à mon très cher petit frère **Brahim el khalil**, pour toute l'ambiance dont tu m'as entouré, Merci pour votre présence, votre aide et tous vos encouragements.*

*À la mémoire de mes grands parents maternels et paternels, qui sont toujours dans mon esprit et mon cœur que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis*

*À mes tantes et mes cousines, en particulier Fatiha, Baya, Kenza, Nawel, Soumia et Radia*

*À ma belle famille : ma belle mère, mes beaux frère et mes belles sœurs.*

*A toute ma famille KIOUANI, BENKARA et BELAMRI*

*A toutes mes amies : Hadjira, Zakia, Messaouda, Fatma Zohra, Ilham, Nawel, Amel, Ghania , Hanane et Assia.*

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

*Amel*

## Résumé :

La babesiose canine est une maladie vectorielle à intérêt vétérinaire, transmise par des tiques de la famille des *Ixodidés*. Les effets de l'infection chez les chiens peuvent aller de la forme subclinique à la forme grave mortelle.

Dans ce travail l'objectif principal est d'apporter une contribution originale à la connaissance des espèces circulantes de *Babesia spp* chez le chien dans la région d'Alger ainsi que des mécanismes et des facteurs de risque de leur transmission. Pour cela, une étude épidémiologique a été menée sur 189 prélèvements sanguins de chiens du mois d'avril 2015 au mois de janvier 2016. Les échantillons prélevés ont subi des analyses parasitologiques et sérologiques.

Les résultats parasitologiques des frottis sanguins colorés au Giemsa ont révélé la présence de deux groupes de parasite du genre *Babesia* : Large *Babesia* (12%) et Small *Babesia* (88%).

L'analyse sérologique par le test IFAT à une dilution de 1/32 a montré une séroprévalence globale vis-à-vis de *Babesia canis* de 17,98% (IC 95% 11,53-22,46).

La distribution des fréquences des titres en anticorps pour les échantillons positifs a montré que sur les 34 sérums positifs à un titre  $\geq 1/32$ , 28 sérums sont restés positifs à une dilution de 1/64 (soit 14,81%), 22 à une dilution de 1/128 (soit 11,64%) et 15 sérums sont restés positifs à une dilution de 1/256 (soit 7,93%).

Même si la séroprévalence a varié en fonction de la population canine (20% et 19,49% chez les chiens de compagnie et les chiens de fourrière canine respectivement et 6,66% à 0% chez les chiens de ferme et chiens de chasse respectivement), l'analyse statistique n'a toutefois montré aucune différence significative entre les populations.

Les titres en anticorps obtenus après plusieurs dilutions, ont montré que 22 sérums de chiens de fourrière canine sont restés positifs à une dilution de 1/128 comparés aux chiens de compagnie et chiens de ferme qui ont cessé d'être positifs à la dilution de 1/64.

La comparaison entre les deux méthodes de diagnostic a montré une forte concordance entre l'examen parasitologique par FS et la méthode sérologique par IFAT. Toutefois, cette dernière s'est montrée beaucoup plus sensible.

L'analyse des facteurs de risque, susceptibles d'influencer la séroprévalence de *Babesia canis* a montré l'influence de l'âge, de la présence des tiques ou encore de la saison.

Enfin, parmi les 242 tiques récoltées sur un total de 59 chiens, une seule espèce de tique a été identifiée, *Rhipicehalus sanguineus*. Par ailleurs, l'identification d'une nouvelle espèce *Rhipicephalus senegalensis* jamais répertoriée en Afrique du Nord est à confirmer par l'outil moléculaire.

**Mots clés :** *Babesia canis*, *Babesia spp*, prévalence, facteurs de risque, chiens, tiques, Alger, frottis sanguins, sérologie.

## Abstract :

Canine Babesiosis is a vector disease of veterinary interest transmitted by ticks of the Ixodidae family. The effects of infection in dogs can range from the subclinical to the lethal severe form.

In this work the main objective is to make an original contribution to the knowledge of circulating species of *Babesia spp* in dogs in the region of Algiers as well as mechanisms and risk factors for their transmission. For this purpose, an epidemiological study was carried out on 189 blood samples taken from dogs from April 2015 to January 2016. The samples taken underwent parasitological and serological analyzes.

The parasitological results of the Giemsa stained blood smears revealed the presence of two groups of parasites of the genus *Babesia*: Large *Babesia* (1.6%) and Small *Babesia* (11.64%). Serological analysis by the IFAT test at a dilution of 1/32 showed an overall seroprevalence with *Babesia canis* of 17.98% (95% CI 11.53-22.46).

The distribution of the antibody titres for the positive samples showed that of the 34 positive sera with a titre  $\geq 1/32$ , 28 sera remained positive at a dilution of 1/64 (14.81%), 22 at a dilution of 1/128 (11.64%) and 15 sera remained positive at a dilution of 1/256 (7.93%). Although seroprevalence varied according to canine population (20% and 19.49% in companion dogs and canine pound dogs respectively and 6.66% to 0% in Farm dogs and Hunting dogs respectively), Statistical analysis showed no significant differences between populations.

The antibody titers obtained after several dilutions showed that 22 canine pound dog sera remained positive at a dilution of 1/128 compared to pet dogs and farm dogs which ceased to be positive at the dilution of 1 / 64.

The comparison between the two diagnostic methods showed a strong agreement between the parasitological examination by FS and the serological method by IFAT. However, IFAT was much more sensitive.

The analysis of risk factors, which may influence *Babesia canis* seroprevalence, has shown the influence of age, tick presence and season.

Finally, of the 242 ticks collected from a total of 59 dogs, only one tick species was identified, *Rhipicehalus sanguineus*. Furthermore, the identification of a new species *Rhipicephalus senegalensis* never recorded in North Africa is to be confirmed by the molecular tool.

**Key words:** *Babesia canis*, *Babesia spp*, prevalence, risk factors, dogs, ticks, Algiers, blood smears, serology

## ملخص :

البابيزيا عند الكلاب هو عبارة عن داء منتقل ذات اهمية بيطرية ، التي تنتقل عن طريق القراد من عائلة اللبوديات (*Ixodidés*). آثار العدوى في الكلاب يمكن أن تتراوح من شكل غير ظاهر إلى شكل حاد مميت. في هذا العمل الهدف الرئيسي هو تقديم مساهمة أصلية في معرفة أنواع البابيزيا (*Babesia spp*) الموجودة في الكلاب في منطقة الجزائر العاصمة وكذلك آليات وعوامل الخطر لانتقال العدوى. لهذا، تم إجراء دراسة وبائية على 189 عينة دم من الكلاب من أبريل 2015 إلى يناير 2016 خضعت هذه العينات لتحاليل طفيليات ومصلية.

وكشفت النتائج طفيلية (FS) من مسحات الدم بالغيمزا الملون وجود مجموعتين من بابيزيا: بابيزيا كبيرة (1.6%) و بابيزيا الصغيرة (11.64%).

وأظهر تحليل المصلية عن طريق IFAT عند تخفيف 32/1 الانتشار المصلي العام للبابيزيا الكلبية 17.98% (95% CI 22-53، 46).

أظهر توزيع الأجسام المضادة للعينات الإيجابية من 34 مصلى إيجابي  $\leq 32/1$ ، بقي 28 مصلى إيجابي عند التخفيف 64/1 (أي 14.81%)، و بقي 22 عند تخفيف 128/1 (أي 11.64%) و 15 مصلى إيجابي في التخفيف 256/1 (أي 7.93%).

على الرغم من اختلاف الانتشار المصلي لدى أنواع الكلاب (20% و 19.49% في الكلاب الأليفة و كلاب ماوى الحيوانات الضالة على التوالي و 6.66% و 0% في الكلاب المزرعة و كلاب الصيد على التوالي)، ولكن أظهر التحليل الإحصائي انه لا يوجد فرق كبير بين أنواع الكلاب. وأظهر مقدار الأجسام المضادة التي تم الحصول عليها بعد عدة تخفيفات أن 22 مصلى من امصال كلاب ماوى الحيوانات الضالة بقي إيجابي في تخفيف 128/1 بالمقارنة مع الكلاب الاليفة و كلاب المزرعة التي توقفت عن أن تكون إيجابية عند التخفيف من 1 / 64. وأظهرت المقارنة بين طريقتي التشخيص التوافق القوي بين فحص الطفيليات عن طريق FS والفحص المصلي عن طريق IFAT. وهذا الاخير كان أكثر حساسية.

تحليل عوامل الخطر التي قد تؤثر على انتشار بابيزيا الكلبية اظهر تأثير العمر، وجود القراد و الموسم.

وأخيرا، من 242 القراد التي تم جمعها من مجموعه 59 كلب، قد تم تحديد نوع القراد واحد، *Rhipicehalus sanguineus* وعلاوة على ذلك، تم تحديد نوع جديد *Rhipicehalus senegalensis* لم تسجل من قبل في شمال أفريقيا ولا بد من تأكيدها عن طرق التشخيص الجزيئي.

**كلمات البحث:** بابيزيا الكلبية ، بابيزيا ، انتشار وعوامل الخطر، الكلاب، القراد، الجزائر، لطخات الدم، الأمصال.

## Liste des abréviations :

<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>Ag</b>	Antigène
<b>Am</b>	Amblyomma
<b>ARN</b>	Acide ribonucléique
<b>ARNr</b>	Acide ribonucléique ribosomique
<b>BA</b>	Berger allemand
<b>CD4+</b>	Cluster de Differentiation 4+
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de carbone
<b>De</b>	Dermacentor
<b>EDTA</b>	Ethylène diamine tetraacetic acide
<b>ELISA</b>	Enzyme Linked Immuno-sorbent assay
<b>ENSV</b>	Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire
<b>FITC</b>	Isothiocyanate de fluorescéine
<b>FS</b>	Frottis sanguin
<b>Ha</b>	Haemaphysalis
<b>Hy</b>	Hyalomma
<b>ICT</b>	Immunochromatographie test
<b>IFAT</b>	Indirect Fluorescence Antibody test
<b>Ig</b>	Immunoglobuline
<b>IL</b>	Interleukine
<b>IM</b>	Intramusculaire
<b>INF</b>	Interferon
<b>INMV</b>	Institut National de Médecine Vétérinaire
<b>IV</b>	Intraveineuse
<b>Ix</b>	Ixodes
<b>LCV</b>	Laboratoire Central Vétérinaire
<b>Ma</b>	Margaropus
<b>MGG</b>	May-Grünwald Giemsa
<b>MSA</b>	Merozoite Surface Antigen
<b>NK</b>	Natural killer
<b>NO</b>	Nitric Oxyde
<b>OIE</b>	Office International des Epizooties
<b>PBS</b>	Phosphate Buffered Saline
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>PH</b>	Potentiel d'Hydrogène
<b>Rh</b>	Rhipicephalus
<b>SPA</b>	Soluble Parasite Antigen
<b>SSU</b>	Small Sub-Unit
<b>Th</b>	T helper
<b>TNF</b>	Tumor necrosis factor

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 1:</b>	Distribution géographique des espèces de <i>Babesia</i> et leurs vecteurs.....	5
<b>Tableau 2:</b>	Résumé des différents critères morphologiques utilisés dans l'identification de la stase et du genre et l'espèce.....	22
<b>Tableau 3 :</b>	Les espèces de tiques identifiées en Afrique.....	26
<b>Tableau 4:</b>	Nombre de chiens prélevés en fonction de la race .....	29
<b>Tableau 5 :</b>	Barème de lecture des lames IFAT <b>MegaScreen® FLUOBABESIA canis</b> .....	34
<b>Tableau 6 :</b>	Taux de prévalence de <i>Babesia spp</i> identifié chez différentes populations de chien de la région d'Alger.....	37
<b>Tableau 7:</b>	Séroprévalence des anticorps anti- <i>Babesia canis</i> chez différentes populations canines.....	39
<b>Tableau 8:</b>	Résultats de la sérologie en IFAT.....	40
<b>Tableau 9 :</b>	Distribution des titres en anticorps anti- <i>Babesia canis</i> en fonction des populations canines.....	41
<b>Tableau 10 :</b>	Comparaison de la technique du FS avec le test IFAT (titre seuil $\geq$ 1/32) pris comme test de référence pour le diagnostic de <i>B. canis</i> .....	42
<b>Tableau 11:</b>	Analyse de certains facteurs de risque potentiels susceptibles d'influencer la séroprévalence de <i>B. canis</i> .....	43
<b>Tableau 12 :</b>	Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une infestation des chiens par la tique <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	47

## Liste des figures :

<b>Figure 1</b> : Le cycle évolutif de <i>Babesia canis</i> .....	7
<b>Figure 2</b> : Pathogénèse proposée de la Babésiose canine.....	9
<b>Figure 3</b> : Mécanismes effecteurs et régulateurs développés au cours de l'infection par <i>B.bovis</i> .....	11
<b>Figure 4</b> : Classification des tiques d'après Camicas et collaborateurs 1998.....	19
<b>Figure 5</b> : Réalisation d'un frottis sanguin (DRIEU,2009).....	32
<b>Figure 6</b> : Kit MegaScreen® FLUOBABESIA canis .....	32
<b>Figure 7</b> : <i>BABESIA canis</i> sous microscope à fluorescence MegaScreen® FLUOBABESIA canis.....	33
<b>Figure 8</b> : Différentes espèces de <i>Babesia spp.</i> (A,B) small <i>Babesia</i> (C) large <i>Babesia</i> objectifx100 (photos zoomées).....	36
<b>Figure 9</b> : Prévalence de <i>Babesia spp</i> chez différentes populations de chien dans la région d'Alger.....	38
<b>Figure 10</b> : Différentes observations des lames IFAT selon le barème de lecture MegaScreen® FLUOBABESIA canis sous microscope à fluorescence (Photos personnelles, 2016).....	39
<b>Figure 11</b> : Variation de la séroprévalence vis-à-vis de <i>B. canis</i> en fonction des titres en anticorps.....	40
<b>Figure 12</b> : Vue ventrale et dorsale d'une femelle <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Photos Personnelles, 2016).....	44
<b>Figure 13</b> : Vue ventrale et dorsale d'un mâle <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Photos Personnelles, 2016).....	44
<b>Figure 14</b> : Vue ventrale et dorsale d'une nymphe du genre <i>Rhipicephalus</i> (Photos Personnelles, 2016).....	45
<b>Figure 15</b> : Vue ventrale d'une larve du genre <i>Rhipicephalus</i> (Photo Personnelle, 2016).....	45
<b>Figure 16</b> : Vue ventrale et dorsale d'une suspension d'un male <i>Rhipicephalus senegalensis</i> (Photos Personnelle, 2016).....	46
<b>Figure 17</b> : Vue ventrale de la partie postérieure d'un male <i>Rhipicephalus senegalensis</i> (Walker et al.,2014).....	46

# Sommaire

<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE</b> .....	<b>1</b>
------------------------------------	----------

## **PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.**

### **Chapitre1 : LA BABESIOSE CANINE**

1. Définition et historique.....	3
2. Biologie .....	4
3. Pathologie.....	8
4. Immunologie.....	9
5. Diagnostic .....	12
6. Moyen de lutte .....	16

### **Chapitre 2 : ÉTUDE ÉPIDÉMIOLOGIQUE SUR LES TIQUES IXODIDÉS**

1. Systématique et morphologie.....	18
2. Biologie .....	23
3. Importance et distribution géographique.....	24
4. Collecte et identification .....	26
5. Moyens de lutte .....	27

## **DEUXIÈME PARTIE : PARTIE EXPÉRIMENTALE**

I. Objectif et but de l'étude.....	28
II. Matériel et méthodes :	
1. Lieu et période de l'étude .....	29
2. Description de la population animale.....	29
3. Plan d'échantillonnage et enquête épidémiologique.....	30
4. Nature et préparation des prélèvements.....	30
5. Analyses de laboratoire .....	31
5.1. Technique de frottis sanguin.....	31
5.2. Analyses sérologiques.....	32
5.3. Récolte et identification des tiques.....	34
6. Analyses statistiques.....	34
III. Résultats.....	36
IV. Discussion.....	48
V. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	55

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

### **Annexes**

## Introduction générale :

La Babesiose canine est une maladie vectorielle transmise par les tiques de la famille des *Ixodidés*, représentant un important problème d'intérêt vétérinaire. Elle est causée par un protozoaire intra-érythrocytaire du genre *Babesia* et *Theileria* affectant le chien à travers le monde (Irwin, 2009; Vannier et Krause, 2009).

L'infection chez le chien, peut varier d'une forme simple subclinique à une forme sévère et parfois même mortelle. Elle est caractérisée par un important polymorphisme de symptômes qui peut varier d'une anorexie transitoire à un syndrome complexe où plusieurs organes sont affectés (Matijatko et al., 2012). Sa forme classique est caractérisée par une combinaison de syndrome fébrile avec un état hémolytique évoluant parfois vers une insuffisance rénale sévère ou même vers un choc fatal (Bourdoiseau, 2006). Cette diversité est principalement liée à l'espèce de *Babesia* impliquée, à l'âge de l'animal, à son statut immunitaire et physiologique et à l'abondance des tiques infectées (Beugnet et Moreau, 2015).

Habituellement, le diagnostic de l'infection par *Babesia* est basé sur les caractères morphologiques des formes intra-érythrocytaires observées sur un frottis sanguin périphérique. Chez le chien, *Babesia canis* (grande Babesie) et *Babesia gibsoni* (petite Babesie) ont été longtemps considérées comme les seules espèces décrites qui provoquaient une babesiose canine partout dans le monde (Boozer et Macintire, 2003).

Cependant, basé sur des différences dans les propriétés antigéniques ainsi que dans la distribution géographique et spécifique du vecteur, il a été proposé que *B. canis* peut être divisée en trois sous espèces : *Babesia canis canis* transmise par *Dermacentor reticulatus* ; *Babesia canis vogeli* transmise par *Rhipicephalus sanguineus* et *Babesia canis rossi* transmise par *Haemaphysalis laechei* (Uilenberg et al., 1989; Hauschild et al., 1995).

Plus récemment, le génotypage a confirmé l'existence de trois espèces séparées de *Babesia* de grande taille (Zahler et al., 1998 ; Birkenheuer, 2014) nommées *Babesia canis* (fréquemment identifiée dans les régions tempérées en Europe), *Babesia vogeli* (décrite dans toutes les régions tropicales, subtropicales et méditerranéennes) et *Babesia rossi* (strictement limitée au continent africain) (Uilenberg, 2006; Irwin, 2009; Solano-Gallego et Baneth, 2011).

Le spectre des espèces de *Babesia* de petites formes pathogènes qui infectent les chiens a augmenté ces dernières années et leur diversité s'est avérée plus grande que prévu. En effet, en plus de *B. gibsoni*, deux espèces différentes sur le plan génétique et clinique sont actuellement décrites, qui sont à l'origine de maladies chez le chien : *Babesia conradae*, identifiée chez le chien dans l'ouest des USA (Conrad et al., 1991; Kjemtrup et al., 2006 ; Birkenheuer, 2014 ) et *Theileria annae*, décrite comme un piroplasma proche de l'espèce *Babesia microti* (Zahler et al., 2000).

La détection avec précision et la reconnaissance des espèces et sous espèces des Babesies sont très importantes pour la sélection d'une thérapie correcte et prévenir l'évolution de la maladie.

En Algérie, l'infection par *Babesia spp* est le plus fréquemment diagnostiquée chez le chien par identification morphologique du piroplasma intra-érythrocytaire à partir de frottis sanguin périphérique. À ce jour, très peu de connaissances sont disponibles sur sa distribution et sa prévalence réelle, ainsi que sur la nature des facteurs de risque déterminant sa transmission.

C'est dans ce contexte qu'il nous a paru intéressant de mener une étude sur le diagnostic et l'épidémiologie de cette pathologie. L'objectif général étant d'apporter une contribution originale à la connaissance des espèces circulantes de *Babesia spp* chez le chien dans la région d'Alger ainsi que des mécanismes et des facteurs de risque de leur transmission.

Dans la première partie de ce travail, nous allons présenter une synthèse de la littérature sur la babésiose canine et sur les tiques Ixodidés vecteurs de cette maladie.

Dans la deuxième partie, nous présenterons une étude parasitologique et séroépidémiologique menée sur les chiens de la région d'Alger, suivie d'une identification morphologique et enquête épidémiologique réalisée sur les tiques récoltées. Nous décrirons en premier lieu le protocole de l'étude en détail et dans une seconde partie, nous présenterons les résultats obtenus. Enfin, nous concluons ce travail par des recommandations et perspectives.

# **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## Chapitre I : La Babesiose canine

### 1. Définition et historique

#### Définition :

La Babesiose est une hemoprotozoose transmise par les tiques de la famille des *Ixodidae*, elle est due à la multiplication intra érythrocytaire d'un Apicomplexa du genre *Babesia* (Chauvin et al., 2009).

C'est une des infections les plus communes de nombreux vertébrés : amphibiens, reptiles, oiseaux, mammifères dont l'homme (Euzéby, 2008). Chez les chiens, au départ la babesiose était considérée comme une maladie tropicale et subtropicale mais récemment, elle a connu une fréquence croissante dans les régions tempérées du monde (Irwin, 2005).

La présentation clinique de la Babesiose canine est diverse et varie d'une anorexie transitoire à un syndrome complexe où plusieurs organes seront affectés (Matijatko et al., 2012). Elle se caractérise d'une combinaison d'un syndrome fébrile avec un syndrome hémolytique et parfois évolue à une insuffisance rénale sévère ou même à un choc fatal (Bourdoiseau, 2006). Parmi les facteurs qui jouent un rôle dans cette diversité ; l'abondance des tiques, le pourcentage des tiques infectées et les espèces de *Babesia* impliquées (Matijatko et al., 2012).

Les protozoaires de genre *Babesia* responsable de la babesiose canine appartiennent à l'embranchement des *Apicomplexa* et de l'ordre *Piroplasmida*, ils sont classés selon leurs tailles en deux sous-genres : *piroplasma* et *Microbabesia* (Ayoub et al., 2010; Birkenheuer, 2014 ; Euzéby, 2008 ; Matijatko et al., 2012).

#### Historique :

Vector Babes (1888), un scientifique roumain, a été le premier à découvrir des microorganismes à l'intérieur des érythrocytes des bovins qui présentaient un syndrome hémolytique sévère, qu'il a appelé *Haematococcus bovis*. Quatre ans plus tard, il a observé un micro-organisme similaire dans le sang des moutons (Babes, 1892 ; Schnittger et al., 2012).

Un an plus tard aux États-Unis, Smith et Kilbourne ont constaté que la fièvre des bovins du Texas n'est pas causée par une bactérie mais par la présence d'un parasite intra érythrocytaire transmis par les tiques, cette maladie a longtemps frappé les éleveurs de bétail dans le Sud des États-Unis américains (Smith et Kilborne, 1893).

En 1895, Pina et galli-valeno décrivent *Piroplasma canis* responsable de fièvre ictérique chez les chiens de chasse de Lombardie (Schnittger et al., 2012),

11 ans plus tard (1906), la multiplication sexuée des *Babesia* chez la tique a été suspectée par Koch qui a observé des « strahlenkoper » ou corps rayonnés dans l'intestin d'une tique infectée et il les a assimilés à des gamètes de *Babesia* ; Cette suspicion a été démontrée jusqu'aux années quatre vingt par Mehlhorn et ses collaborateurs (1980)

## 2. Biologie :

### - Position taxonomique :

Les protozoaires du genre *Babesia* appartiennent à l'embranchement des *Apicomplexa*, à la classe des *Aconoidasida*, ordre des *Piroplasmida*, sous-ordre des *Piroplasmidora* et à la famille des *Babesiidae*, (Hunfeld et al., 2008 ; CHAO, 2012)

<b>Domaine :</b>	<i>Eukaryota</i>
<b>Règne :</b>	<i>Chromoalveolata</i>
<b>Division :</b>	<i>Alveolata</i>
<b>Embranchement :</b>	<i>Apicomplexa</i>
<b>Classe :</b>	<i>Aconoidasida</i>
<b>Ordre :</b>	<i>Piroplasmida</i>
<b>Sous-ordre :</b>	<i>Piroplasmidora</i>
<b>Famille :</b>	<i>Babesiidae</i>
<b>Genre :</b>	<i>Babesia</i>

Ils constituent un genre important chez les mammifères, décliné en une centaine d'espèces dont seules certaines sont pathogènes, responsables de la babesiose (Euzéby, 2008). C'est une maladie à distribution mondiale, elle est caractérisée par la destruction des érythrocytes qui cause des manifestations cliniques systémiques modérées à sévères (Solano-Gallego et Baneth, 2011).

Historiquement, l'identification de l'infection à *Babesia* chez le chien a été basée sur l'apparence morphologique du parasite dans les érythrocytes

Toutes les formes large de *Babesia* (2.5-5.0µm) ont été désignées par *Babesia canis*, tandis que toutes les formes petites (1.0-2.5µm) ont été considérées comme *Babesia gibsoni* (Matijatko et al., 2012 ; Birkenheuer, 2014 ; Ayoub et al., 2010 ). Leur taxonomie a été basée sur leurs caractéristiques morphologiques, la distribution géographique et leurs cycles évolutifs (Irwin, 2005 ; Cardoso et al., 2008 ; Matijatko et al., 2012). Cependant, ces méthodes traditionnelles ont été progressivement remplacées par le développement des méthodes moléculaires qui sont basées sur les caractéristiques génomiques de la petite sous unité ribosomal RNA gène (18S rDNA) qui ont démontré la présence de plusieurs espèces de Piroplasmide qui infectent le chien (Solano-Gallego et Baneth, 2011),

En plus de ce qui a été décrit initialement, *Babesia canis*, *Babesia rossi*, et *Babesia vogeli* considérées comme des sous espèces de *Babesia canis*, elles sont identiques morphologiquement mais elles montrent une grande diversité de distribution

géographique, de spécificité de vecteur et des signes cliniques qu'elles engendrent chez le chien, et elles sont donc actuellement considérées comme des espèces distinctes (Nalubamba *et al.*, 2011).

Le tableau 1 ci-dessous résume les principales espèces infectant les animaux domestiques, leurs tiques vectrices ainsi que leur répartition géographique :

**Tableau1: Distribution géographique des espèces de *Babesia* et leurs vecteurs** (Ayoob *et al.*, 2010 ; Birkenheuer, 2014 ; Matijatko *et al.*, 2012 ; Taboada *et al.*, 2006).

Groupe	Espèce	Forme intra-erythrocytaire	Distribution géographique	Vecteur	Virulence	Symptômes
Large <i>Babesia</i> 2,5 x 5 µm	<i>Babesia canis</i>	Piriforme seule ou par paire	Europe, Asie	<i>Dermacentor reticulatus</i>	Modérée	Parasitémie transitoire, Organes congestionnés
	<i>Babesia rossi</i>	Piriforme seule ou par paire	Afrique	<i>Haemaphysalis leachii</i>	Sévère	Syndrome hémolytique
	<i>Babesia vogeli</i>	Piriforme seule ou par paire	Afrique, Europe, Asie, Australie, Amérique du Nord et de Sud	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Légère	Maladie légère cliniquement inapparente; Plus sévère chez les jeunes animaux
	<i>Babesia sp. (Coco)</i>	Inconnue	Les Etats Unis Inconnu	<i>Haemaphysalis sp.</i>	Inconnue	Anémie hémolytique Thrombocytopenie, Leucopénie
Small <i>Babesia</i> 1,5 x 2 µm	<i>Babesia gibsoni</i>	Pleomorphe: ovales ; annulaire seule et paire	Partout dans le monde	<i>Rhipicephalus sp.</i>	Modérée	Anémie hémolytique ou infection subclinique ou chronique avec perte de poids et débilite
	<i>Babesia conradae</i>	Habituellement seule ou occasionnellement groupés en « croix de malte »	California	<i>Rhipicephalus sanguineus?</i> Le combat : un mode de transmission probable le parasite détecté dans la rate des coyotes	Modérée à Sévère	Anémie hémolytique
	<i>Babesia microti-like</i> <i>Theileria annae</i>	Habituellement seule	Europe du Sud Découverte en Espagne	Probablement <i>Ixodes hexagonus?</i> Appelée <i>Babesia microti-like</i> ou <i>Babesia annae</i> . renommé <i>Theileria annae</i> basé Sur l'analyse phylogénétique moléculaire	Sévère	Anémie hémolytique sévère ; certains animaux développent une insuffisance rénale

?: Un vecteur de tiques suspectée mais n'a pas été prouvée .

**Morphologie :**

Les *Babesiidae* appartiennent à l'embranchement des protozoaires *Apicomplexa*, elles sont caractérisées par l'absence de cytoplasme, à localisation exclusivement érythrocytaire, sans vacuole parasitiphores, les *Babesiidae* ne comportent qu'un seul genre retenu : *Babesia* (Euzéby, 2008).

Le groupe de *Babesia* et *Theileria* a été nommé « *Piroplasmide* » à cause de leur forme morphologique qui ressemble à des poires au cours du stade de multiplication dans le sang des hôtes vertébrés ; Comme les *Piroplasmides* sont des hemoparasites qui ne forment pas de pigment, ils étaient facilement distingués des autres genres infectant les érythrocytes comme plasmodium et haemoproteus qui forment des pigments « hemozoin » dans les cellules parasités (Uilenberg, 2006).

Les *Babesia* constituent un genre important chez les mammifères décliné en une centaine d'espèce dont seules certaines sont pathogènes, selon la taille de ces espèces, le genre *Babesia* est divisé en deux groupes : en petites formes de 1,0 à 2,5  $\mu\text{m}$  correspondant au sous genre *Microbabesia* où leurs longueurs est inférieur au rayon des hématies ou en grande formes de 2,5 à 5 $\mu\text{m}$  correspondant au sous genre *Piroplasma* (Hunfeld et al., 2008).

Les espèces de *Babesia* peuvent prendre plusieurs aspects selon les stades de cycle biologique, ils ont soit un aspect en poire généralement groupés par deux éléments formant un angle obtus pour les *Microbabesia* ou aigu pour les *Piroplasma* ou un aspect annulaire capable de mouvement amiboïde (Euzéby, 2008).

**- Cycle évolutif :**

Les babesies sont des parasites dixene dont le cycle évolue chez deux hôtes, un hôte définitif qui est la tique et un hôte intermédiaire : les mammifères. La transmission des *Babesia* se fait principalement par les morsures des tiques mais pour quelques espèces comme *Babesia gibsoni* la transmission directe était observée en absence de tique compétente aux États unis et en Europe et cela à travers les combats entre chien ou par la transmission congénitale transplacentaire (Birkenheuer, 2014 ; Schnittger et al., 2012).

Durant l'engorgement de la tique, les sporozoïtes sont injectés dans l'hôte via la salive et infectent directement les érythrocytes (Ayoob et al., 2010; Taboada et al., 2006), ce phénomène sépare les *Babesia spp*, des *Theileria spp* où les sporozoïtes infectent initialement les lymphocytes ou macrophages dans lesquels le développement vers les schizontes prend place (Hunfeld et al., 2008). Tous les stades de développement des sporozoïtes se déroulent dans les érythrocytes, chaque sporozoïte se transforme en trophozoïte « forme arrondi » et produit deux merozoïtes par fission binaire « Mérogonie » (Chauvin et al., 2009 ; Schnittger et al., 2012), possédant chacune un noyau, un cytoplasme et un complexe apical. Il peut y avoir des divisions multiples au sein de l'hématie qui peut alors contenir 4, 8 ou 16 mérozoïtes (Taboada et al., 2006).

Après la lyse des hématies, chaque mérozoïte libéré infecte une nouvelle hématie, cette multiplication est asynchronisée dont différents stades de division de parasites peuvent être observés en même temps sur un frottis sanguin (Chauvin et al., 2009).

La multiplication asexuée peut se produire indéfiniment jusqu'à ce que les réactions immunitaires de l'hôte viennent contrôler le parasite, Il apparaît ensuite d'autres formes comme des formes annulaires, amiboïdes et également des formes plus au moins ovalaires qui vont cesser toutes divisions et qui sont l'équivalent de pro-gamétocytes (Chauvin et al., 2009 ; Taboada et al., 2006).

La tique ingère les hématies infestées au cours de prise d'un repas sanguin sur le chien, toutes les formes de *Babesia* sont détruites dans l'intestin moyen à l'exception des pro-gamétocytes, qui vont pénétrer dans les cellules de l'épithélium intestinal ou se transforme en gamétocytes « corps étoilés » (Chauvin et al., 2009 ; Euzéby, 2008 ; Schnittger et al., 2012)

Les gamètes fusionnent « Gametogonie » et forment des zygotes d'abord sphérique puis allongé et mobile « ookinète », elles reprennent leurs multiplications « Sporogonie » et envahissent différents organes de la tique en particulier les glandes salivaires dans lesquelles se forme des milliers de petits sporozoïtes qui sont infestants pour le chien (Taboada et al., 2006),

À l'exception de *Babesia microti-like*, le développements des espèces de *Babesia* dans les ovaires de la tique permet « la transmission transovarienne » (Hunfeld et al., 2008; Schnittger et al., 2012), ils sont transmis de la larve à la nymphe puis de la nymphe à l'adulte c'est « la transmission transtadiale » (Chauvin et al., 2009; Euzéby, 2008 ; Schnittger et al., 2012).

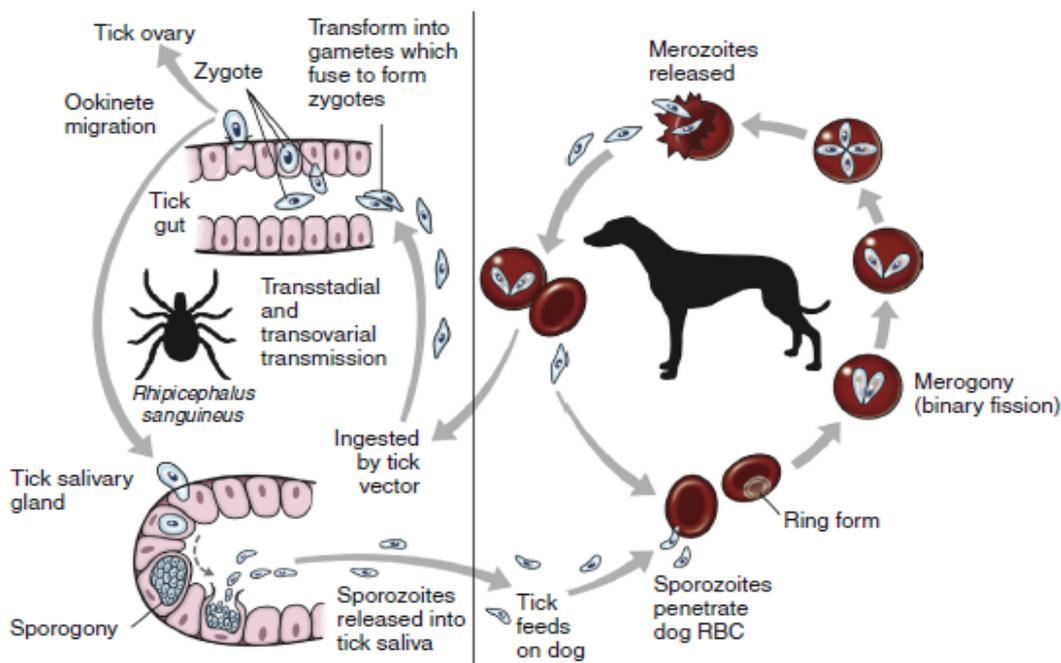


Figure 1 : Le cycle évolutif de *Babesia canis* (Birkenheuer, 2014)

### 3. Pathologie :

#### 3.1. Pathogénie et signes cliniques :

La période d'incubation du parasite varie en fonction de l'espèce de *Babesia* : 7 à 21 jours pour *B. gibsoni*, 10 à 21 jours pour *B. canis* (Boozier et Macintire, 2003).

La babesiose canine est caractérisée par une présentation clinique variable, cette diversité est principalement liée à l'agent pathogène responsable, à l'âge et au statut immunitaire et physiologique de l'animal et des infections intercurrentes avec d'autres agents pathogènes (Beugnet et Moreau, 2015 ; Schnittger et al., 2012 ; Solano-Gallego et Baneth, 2011).

La forme classique « aigüe » est caractérisée par un syndrome fébrile (fugace, une hyperthermie au minimum 40°C ; anorexie, dépression), et un syndrome hémolytique (anémie, bilirubinurie) (Bourdoiseau, 2006 ; Dantas-Torres et Figueredo, 2006). Ces symptômes sont consécutives à une hémolyse intravasculaire et extravasculaire qui est induite par la rupture des hématies suite à la multiplication parasitaire intra érythrocytaire et au complexes immuns qui se déposent sur les hématies parasitées ou non pour l'hémolyse intravasculaire et la phagocytose d'hématies dans la rate, le foie et par les monocytes pour l'hémolyse extravasculaire (Ayoub et al., 2010 ; Solano-Gallego et Baneth, 2011 ; Taboada et al., 2006). En absence de traitement spécifique, ce syndrome ne peut se résoudre spontanément que rarement, suivie d'une période de convalescence très longue, ou peut conduire à un état de choc, l'ictère et à une insuffisance rénale voire mortelle (Bourdoiseau, 2006 ; Taboada et al., 2006).

De nombreuses formes atypiques de la maladie posant problème au cours du diagnostic étiologique sont consécutives à l'activation du système de coagulation par l'hémolyse. Il s'agit notamment des symptômes locomoteurs, cérébraux, oculaires, gastro-intestinaux et vasculaires (nécrose des extrémités) (Ayoub et al., 2010).

La " forme chronique " souvent décrite dans la littérature n'a pas été formellement démontrée, comme le parasite n'est jamais observé dans le sang périphérique. Cette forme pourrait correspondre à une convalescence prolongée caractérisée par une anémie modérée et de la dépression (Ayoub et al., 2010 ; Bourdoiseau, 2006).

La forme subclinique : est observée lors d'infection par plusieurs espèces babesienne, les chiens infectés subcliniquement ne manifestent jamais des signes cliniques, par contre la maladie peut être précipitée par le stress ou par le traitement aux glucocorticoïdes (Ayoub et al., 2010 ; Taboada et al., 2006).



La réponse immunitaire dirigée contre *Babesia spp* a été décrite comme suit :

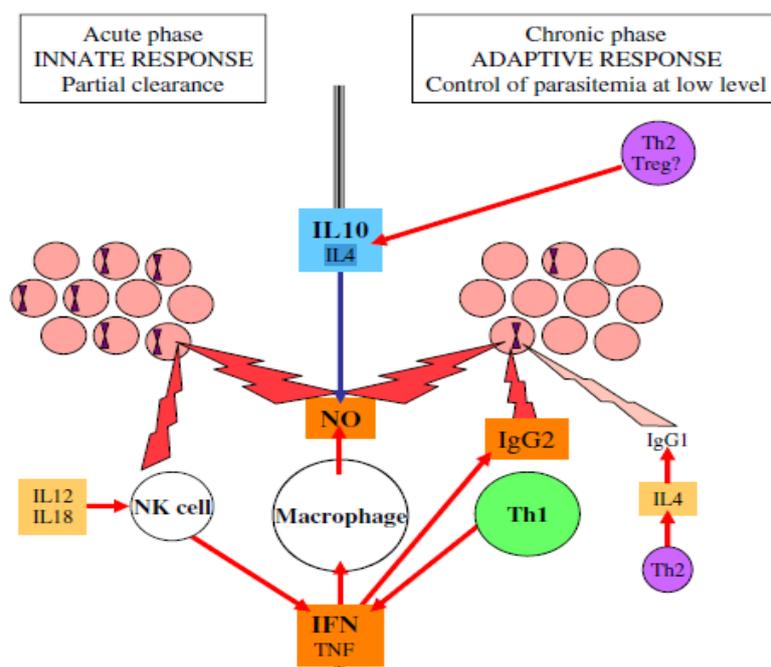
La phase aiguë de l'infection est caractérisée par le développement des mécanismes de la réponse immunitaire innée, les cellules présentatrices d'antigènes s'activent en reconnaissant des babesies et des hématies infestées, et produisent IL12 et IL18 qui vont stimuler les naturels killers NK à produire un taux élevé d'interféron gamma INF- $\gamma$  qui induit la production de NO (Nitric Oxyde) par les macrophages, cette phase permet une clearance partielle du parasite (Chauvin et *al.*, 2009).

Aguilar-Delfin et ses collaborateurs ont remarqué que l'immunité innée peut jouer un rôle important dans la résistance des souches de souris à l'infection à *Babesia microti* et que les facteurs génétiques et les facteurs liés au sexe peuvent influencer l'efficacité de la réponse protectrice (Aguilar-Delfin et *al.*, 2001).

Durant l'infection chronique, la lyse des globules rouges infestés est principalement induite par le NO qui est produit par les macrophages de la rate activée par l'INF- $\gamma$  et TNF- $\alpha$ . Ce mécanisme est régulé par les cytokines produites par les cellules TH 1 et inhibé par IL4 et IL10 (Chauvin et *al.*, 2009). De plus, Igarashi et ses collaborateurs ont pu démontrer le rôle de l'immunité à médiation cellulaire T dans la protection immunitaire contre la réinfection sur des souches de souris réinfectées à *Babesia microti*, par l'intervention des lymphocytes TCD4 et d'INF- $\gamma$  dans le développement de l'immunité protectrice (Igarashi et *al.*, 1999).

La réponse immunitaire humorale ne permet l'élimination totale du parasite (clearance), les isotypes IgM et IgG1,2 spécifiques de *Babesia* sont produits simultanément, par contre l'IgG persiste plus longtemps où ils sont dirigés contre les protéines de surface des érythrocytes infestés (Masake et Musoke, 1998). Plusieurs mécanismes interviennent à contrôler la parasitémie : une action cellulaire cytotoxique anticorps-dépendante induite par l'IgG1, l'opsonisation par l'IgG2, une neutralisation de l'adhésion des merozoïtes libres aux cellules érythrocytaires et l'activation du complément induite par l'IgG1 et l'IgG2 et donc le parasite peut persister pendant plusieurs mois, voire plusieurs années, à un niveau très bas de parasitémie (Chauvin et *al.*, 2009 ; Masake et Musoke, 1998). La production d'anticorps chez le chien commence 7 jours post infection et persiste durant plusieurs mois (Vercammen et *al.*, 1997 ; Brandão et *al.*, 2003). La durée de l'immunité protectrice contre l'infection à *B. canis* est située entre 5 et 8 mois (Vercammen et *al.*, 1997).

Le contrôle de la parasitémie est connu sous le nom de l'immunité de « prémunition », elle permet de protéger l'animal contre les réinfections par le maintien des cellules mémoire suite au contact continu de parasite avec les mécanismes de l'immunité (Brandão et *al.*, 2003 ; Chauvin et *al.*, 2009 ; Lewis et *al.*, 1995). Cependant, l'immunité stérilisante a été démontrée chez les chiens infectés par *B. canis*, mais ne se produit que chez certains porteurs asymptomatiques (Chauvin et *al.*, 2009).



**Figure 3:** Mécanismes effecteurs et régulateurs développés au cours de l'infection par *B.bovis* (Chauvin et al., 2009).

#### 4.2. Mécanismes d'échappement immunitaire :

Les espèces de *Babesia* ont développé des stratégies pour éviter ou limiter les effets de la réponse immunitaire qui leur permettent de persister à l'intérieur de l'hôte.

- *La variation et le Polymorphisme antigénique:*

La diversité des souches *B. canis* pourrait expliquer le tableau clinique variable observé chez les chiens. Certains souches de *Babesia* ont pu exprimer leurs molécules antigéniques à la surface des érythrocytes infectés et peuvent donc adhérer aux cellules endothéliales vasculaires, conduisant à leur séquestration dans les capillaires. Cela permet aux *Babésies* à persister dans l'hôte en empêchant leur passage dans la rate et donc leur phagocytose, ce phénomène pourrait également améliorer la transmission du *Babesia* lorsque la séquestration est proche des sites de piqûres de tiques (Chauvin et al., 2009 ; Matijatko et al., 2012)

Les *Babesia* intra érythrocytaires sont partiellement protégés de la réponse immunitaire de l'hôte, alors que les mérozoïtes libres sont exposés aux mécanismes de l'immunité que pour une courte période. La surface des mérozoïtes libres est recouverte des protéines appelées « Glycosyl Phosphatidyl Anchored Proteins », elles sont impliquées dans l'attachement à la surface des érythrocytes hôtes et sont des cibles immunodominantes pour les Anticorps. Ces protéines de surface sont caractérisées par un polymorphisme antigénique qui permet aux mérozoïtes libres de s'échapper au système immunitaire (Chauvin et al., 2009).

En se basant sur les différences d'une partie du gène de l'ARN ribosomal 18S, des isolats de *B. canis* pourraient être séparés en deux groupes génétiquement différents : A et B où leurs virulences est bien différentes.

La diversité antigénique peut être liée à la diversité allélique, dont différents clones de parasites expriment des protéines particulières, tels que les antigènes de surface, des mérozoïtes MSA-1 et MSA-2. Une telle diversité est probablement induite par des mécanismes moléculaires telle la recombinaison produite au cours de stades sexués chez la tique (Matijatko et al., 2012).

## 5. Diagnostic :

### 5.1. Diagnostic clinique

La suspicion d'une Babesiose canine est parfois basée sur l'examen clinique de l'animal et son historique, principalement dans la phase aigüe de la maladie ; Cependant, les infections asymptomatiques sont beaucoup plus difficiles à détecter (Dantas-Torres et Figueredo., 2006).

Au cours de la phase aigüe, le diagnostic peut être confirmé avec une grande sensibilité par l'examen microscopique d'un frottis sanguin après coloration (Ayoob et al., 2010).

### 5.2. Diagnostic de laboratoire :

La confirmation du diagnostic de la babesiose canine se fait par la mise en évidence du parasite soit par la recherche du parasite « frottis sanguin », soit par la recherche de ces anticorps « sérologie ».

#### A. Le frottis sanguin :

Cette méthode repose sur la réalisation d'un frottis que l'on colore grâce à une coloration de type MGG (May Grunwald Giemsa). Pendant la parasitémie, les inclusions intra-érythrocytaires de *Babesia* sont facilement trouvées dans des frottis de sang périphérique colorés. Cette méthode est très répandue dans le domaine de la Médecine Vétérinaire en raison de ses nombreux avantages, tels la simplicité, la haute spécificité et le faible coût (Ayoob et al., 2010 ; Dantas-Torres et Figueredo, 2006). En revanche, dans les cas chroniques ou subcliniques où la parasitémie est très faible (0,001% de parasitémie) ou intermittente, la confirmation parasitologique de l'infection n'est pas facilement réalisée et donc il a une sensibilité relativement faible (Dantas-Torres et Figueredo, 2006 ; Solano-Gallego et Baneth, 2011).

Un prélèvement est réalisé à partir de sang périphérique « le sang capillaire », de préférence sur la face interne du pavillon de l'oreille ou de la pointe de la queue. Les protozoaires *B. canis*, *B vogeli*, *B rossi* apparaissent comme des éléments de grande taille (> 2,5 µm), observés seuls ou par paire à l'intérieur des érythrocytes (Dantas-Torres et Figueredo, 2006 ; Ayoob et al., 2010).

Les protozoaires *B. gibsoni* et *B. annae* apparaissent comme des organismes de petite taille (<2,5µm), de forme ronde à l'intérieur des érythrocytes, seuls ou occasionnellement par groupe de 4 en «croix de Malte» avec une parasitémie souvent faible (Taboada et *al.*, 2006).

Le diagnostic microscopique chez les chiens porteurs chroniques peut être difficile du fait d'une parasitémie basse et souvent intermittente (Dantas-Torres et Figueredo, 2006)

Cette méthode est rapide et peu coûteuse, elle est simple et spécifique mais elle manque de sensibilité « **faux négatif** » donc l'observation d'un piroplasma quelle que soit la forme a une valeur de diagnostique mais la non observation de piroplasma sur le frottis ne permet pas d'exclure de façon formelle une piroplasmose (Bourdoiseau, 2006)

### **B. Diagnostic sérologique :**

En raison des difficultés dans la détection des parasites *Babesia*, en particulier chez les porteurs chroniques, les immunodiagnostic peuvent être utilisés pour cribler des hôtes infectés. Les sérodiagnostics ont été révélés fiables comme des méthodes indirectes de dépistage des parasites (Ayoob et *al.*, 2010).

Les tests sérologiques sont utiles pour identifier les chiens porteurs asymptomatiques et pour diagnostiquer des infections chroniques, dans lesquelles le niveau de la parasitémie peut être faible et non détectable dans les frottis sanguins périphériques colorés. Il est important de noter, que même après chimiostérilisation, les chiens peuvent rester séropositifs pendant de longues périodes (Dantas-Torres et Figueredo, 2006).

#### ***Indirect Fluorescence Antibody Test (IFAT) :***

Le test d'immunofluorescence indirecte (IFAT) est le plus utilisé pour le diagnostic de la babesiose canine (Solano-Gallego et Baneth, 2011), il permet la détection des anticorps anti-Babesia dans le sang des animaux infectés, il est considéré comme la méthode la plus spécifique pour la documentation de l'infection et le diagnostic des babesioses occultes (Ayoob et *al.*, 2010 ; Taboada et *al.*, 2006).

Le test IFAT est basé sur la reconnaissance d'antigènes parasitaires par des anticorps sériques dans le sang de l'animal testé. Les anticorps liés sont détectés par un anticorps marqué par un fluorochrome anti-Ig (anticorps secondaire) (Mosqueda et *al.*, 2012).

La préparation d'antigènes consiste en des mérozoïtes intra-érythrocytaires cultivés en culture ou obtenus à partir de sang infecté éliminé du plasma et des globules blancs, de sorte que les érythrocytes ont un haut niveau de parasitémie (> 7%), ces mérozoïtes sont mélangés avec une autre protéine soluble étalée sur une lame de verre. Une fois les frottis sont séchés, ils sont emballés individuellement et stockés à -70 ° C et de cette façon ils peuvent durer plusieurs années. Lorsque l'antigène va être utilisé, les lames sont décongelées, desséchées et fixées à l'acétone, ce qui élimine l'hémoglobine et rend les cellules perméables.

L'IFAT consiste en une série d'étapes d'incubation et de lavage, le premier cycle d'étape d'incubation permet l'interaction entre l'anticorps sérique et l'antigène. Les anticorps non liés sont éliminés par lavage. Un anticorps secondaire anti-IgG conjugué à un fluorochrome est utilisé pour identifier les anticorps liés. Après un deuxième cycle d'étapes de lavage, les frottis sont séchés et analysés avec un microscope à fluorescence. Les résultats positifs dépendent de l'observation des parasites fluorescents indiquant la présence d'anticorps anti-*Babesia* dans le sérum testé (Mosqueda et al., 2012).

Le test IFAT est facile à faire mais nécessite un antigène de bonne qualité, ce qui est difficile à obtenir. Il prend beaucoup de temps et n'est pas très efficace dans le cas d'un grand nombre d'échantillons de sérum à traiter. Il nécessite également un personnel de laboratoire bien formé et un microscope à fluorescence dont la lecture est subjective. Il peut différencier entre les espèces de *Babesia*, bien que certains problèmes de réaction croisée aient été signalés (Birkenheuer, 2014).

Le taux de faux négatifs peut être augmenté dans le cas des très jeunes chiens et des chiens immunodéprimés, ou dans le cas des infections aiguës avant l'installation de la réponse immunitaire (Ayoob et al., 2010).

Historiquement, l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) a été utilisé comme fluorochrome standard pour IFAT, Cependant, des nouveaux colorants fluorescents ont été développés dont ils offrent de meilleures observations en raison de leurs photostabilité et luminosité qui sont améliorées et de leur gamme de pH qui est plus large (Mosqueda et al., 2012).

#### ***Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay test (ELISA):***

Cette méthode est basée sur l'automatisation et donc elle a l'avantage de la non-subjectivité et la capacité de lire un grand nombre d'échantillons facilement et donc elle est plus utilisée pour les études séro-épidémiologiques que pour le diagnostic clinique. Son principe est le suivant : elle repose sur une réaction immuno-enzymatique où l'antigène ou l'anticorps est marqué avec une enzyme qui permet de transformer un substrat incolore en un produit coloré (Taboada et al., 2006). Cette méthode ELISA a été initialement réalisée en utilisant l'antigène brut purifié provenant du sang infecté, mais la réaction croisée avec les protéines sériques était très élevée (Birkenheuer, 2014 ; Dantas-Torres et Figueredo, 2006). Les méthodes ELISA récentes incluent l'utilisation d'antigènes recombinants et d'anticorps monoclonaux, augmentant ainsi la spécificité (Taboada et al., 2006). La biotechnologie moderne permet l'expression de protéines pathogènes antigéniques, qui peuvent être liées sur des puits ELISA et utilisées pour évaluer la présence d'anticorps anti-*Babesia* en utilisant un anti-IgG conjugué à une enzyme, habituellement la peroxydase (Mosqueda et al., 2012). Cependant, il existe peu de tests ELISA pour la détection d'anticorps anti- *Babesia* disponibles sur le marché (Birkenheuer, 2014).

#### ***Immunochromatographie test (ICT)***

Le test immunochromatographique est un dispositif de diagnostic rapide qui détecte les anticorps contre un antigène spécifique dans une petite quantité de sérum. Les ICT sont très pratiques par leur simplicité d'exécution et de lecture.

Ce test a une spécificité et une sensibilité très satisfaisante (Aubry et *al.*, 2015), il ne nécessite pas de technicien qualifié et il n'utilise pas d'équipement spécial, donc il peut être mis en œuvre sur le terrain et il a un faible coût comparable à d'autres techniques; Il s'agit d'un test rapide prenant seulement dix à quinze minutes à compléter et il est très stable sous différentes températures (Aubry et *al.*, 2015 ; Mosqueda et *al.*, 2012). Le principe de ce test consiste à déposer l'échantillon à tester (sang) à l'une des extrémités d'une membrane de nitrocellulose fixée sur un support en plastique ou carton. Si l'antigène recherché est présent, il se lie avec un anticorps marqué le plus souvent à l'or colloïdal. Les complexes antigènes anticorps migrent par capillarité et sont arrêtés par des anticorps de capture fixés sur la membrane. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une ligne colorée (Aubry et *al.*, 2015). L'ICT a été développée pour *B. gibsoni*, il utilise des anticorps polyclonaux de lapin comme base et des antigènes recombinants *B. gibsoni* tels l'antigène P50 ainsi que l'antigène sécrété 1 (BgSA1). La mise en œuvre de tests utilisant des anticorps monoclonaux hautement spécifiques, et ceux destinés à identifier les parasites directement à partir d'un échantillon de sang, qui sont très nécessaires pour diagnostiquer la babésiose aiguë, n'ont pas encore été développés. Les ICT ne sont pas encore disponibles sur le marché dans aucun pays (Mosqueda et *al.*, 2012).

#### ***La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) :***

Les procédés à base moléculaire, en particulier la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), sont des outils prometteurs pour le diagnostic de nombreuses maladies parasitaires,

Il a été démontré que la PCR est un outil très utile dans la détection de l'ADN de *Babesia* dans des échantillons de sang canins avec une spécificité et une sensibilité de 100% (Birkenheuer, 2014).

Le désavantage de la PCR est l'indispensabilité de la présence d'équipement de laboratoire spécialisé et un personnel de laboratoire bien formé, ce qui a conduit plusieurs pays à limiter l'utilisation de cette méthode à la recherche seulement (Dantas-Torres et Figueredo, 2006).

La PCR a été utilisée pour l'identification des espèces en utilisant des amorces spécifiques, du gène codant pour le gène de l'ARNr 18S (Schnittger et *al.*, 2012), ce gène permet la détection et la différenciation de *B. gibsoni* et *B. canis* dans le sang. De nombreux tests de PCR différents ont été publiés pour l'identification et la différenciation des infections à *Babesia*. L'identification des espèces peut alors être réalisée par séquençage d'ADN ou par l'utilisation des essais de PCR spécifiques à l'espèce (Birkenheuer, 2014).

La PCR a été utilisée également pour identifier une troisième espèce de *Babesia* endémique à la partie Ouest des États-Unis, une nouvelle souche d'un chien en Caroline du Nord « *Babesia spp.* » et une autre espèce du Nord-Ouest d'Espagne « *B.*

*microti-like* ». La PCR a aussi détectée un organisme semblable à *Babesia odocoilei* et *Babesia divergens* chez des tiques de chiens au Japon (Taboada et al., 2006).

## 6. Moyens de lutte

### 6.1. Traitement

La thérapeutique de la babesiose comprend deux volets ; un traitement étiologique par l'utilisation des molécules spécifiques destinées à éliminer le parasite et un traitement symptomatique afin de soutenir l'état général de l'animal. Le pronostic est généralement bon lorsque le traitement implique des médicaments anti-Babésie spécifiques appliqués après un diagnostic précoce de la maladie. Les chiens présentent généralement une amélioration clinique dans les 24 à 72 heures de traitement, mais certains animaux peuvent prendre jusqu'à 7 jours pour répondre au traitement (Beugnet et Moreau, 2015). Peu de médicaments sont efficaces pour éliminer les parasites et la plupart des chiens survivent au syndrome hémolytique aigu en développant une prémunition dans laquelle un équilibre délicat existe entre leur réponse immunitaire et la persistance du parasite (Taboada et al., 2006).

L'imidocarb dipropionate est considéré comme le traitement de référence. Au cours de la babesiose aiguë, la réponse est rapide, avec une augmentation de la production de cellules sanguines dans les 12-24 h. Il est efficace contre *B. canis* et *B. vogeli* mais pas contre *B. gibsoni* (Beugnet et Moreau, 2015). Ce médicament peut également éliminer l'infection par *B. canis* chez les tiques qui s'engorgent sur des chiens traités pendant 4 semaines post-traitement et empêche la réinfection du chien jusqu'à six semaines après une seule injection. Cependant, L'imidocarbe ne supprime pas les infections à *B. gibsoni* mais il réduit la morbidité et la mortalité (Birkenheuer, 2014). Les chiens traités par ce médicament sont plus susceptibles à une réinfection après une courte durée que les chiens non traités, la résistance de ces derniers est liée au développement d'un état de prémunition où le titre d'anticorps anti-*Babesia* est maintenue pour une longue période (Brandão et al., 2003).

L'acéturate de diminazène est le médicament le plus couramment utilisé dans le monde entier. Il est efficace lorsqu'il est administré par voie intramusculaire (IM), bien que la clairance de l'infection soit incohérente même à des doses plus élevées (Taboada et al., 2006). Les infections à *B. gibsoni* sont moins sensibles au diminazène que les infections à *B. canis* et *B. vogeli*. Les chiens sont plus sensibles aux effets toxiques de ce médicament que les autres espèces. Les effets secondaires comprennent la douleur et l'enflure au site d'injection, l'irritation gastro-intestinale et les manifestations neurologiques (Ayoob et al., 2010 ; Beugnet et Moreau, 2015 ; Dantas-Torres et Figueredo, 2006).

Le bleu de trypan peut également être utilisé en intraveineuse (IV) car il est irritant pour les tissus. Il est efficace dans le traitement des chiens avec des signes cliniques légers à modérés (Beugnet et Moreau, 2015).

La combinaison de l'atovaquone et azithromycine est le traitement le plus efficace contre les infections à *B. gibsoni* et *B. conradae*, il permet la clearance de l'infection

ou la diminution de la parasitémie ; dans le cas où cette combinaison n'est pas efficace contre *B.gibsoni* une autre combinaison de clindamycine, metronidazole doxycycline peut être utilisée mais pour une longue durée de traitement au minimum 3 mois (Birkenheuer, 2014).

## 7. Prophylaxie :

La difficulté pour obtenir un traitement spécifique contre *Babesia* rend la prévention très importante,

L'étape primordiale de la prophylaxie de la babesiose est la lutte contre les tiques par l'inspection visuelle de l'animal dont l'identification et le retrait précoce des tiques est important car elles peuvent transmettre les babesies au minimum 2 à 3 jours après leur fixation sur l'animal, l'utilisation des acaricides topiques est également efficace » (Birkenheuer, 2014).

Bien que le traitement par l'imidocarbe puisse avoir un effet prophylactique post-thérapeutique pendant une période allant jusqu'à 6 semaines, cependant, les résultats sont variables et donc ce médicament n'est actuellement pas recommandé pour la prophylaxie. De plus, la stérilisation complète peut ne pas être conseillée dans certaines zones endémiques, puisque la prémunition confère une certaine immunité (Ayoob et al., 2010).

La vaccination est également un moyen important pour contrôler la babesiose, les chiens doivent être vaccinés pendant les périodes à faible activité des tiques afin d'éviter des infections par immunisation primaire. Elle permet d'atténuer de manière considérable la gravité des symptômes cliniques et la sévérité de l'anémie et la splénomégalie. Les vaccins peuvent limiter la parasitémie. Cependant, elles ne peuvent empêcher qu'une tique infestante d'injecter les *Babesia* dans le sang du chien vacciné (Birkenheuer, 2014).

Des vaccins vivants atténués ont été produits en premier mais le risque d'induire la babesiose vaccinale a conduit au développement de vaccins inactivés. Chez le chien seuls deux vaccins contre l'infection à *B. canis* sont disponibles sur le marché, ils contiennent des antigènes de parasites solubles (SPA) des parasites *Babesia* homologues (Beugnet et Moreau, 2015).

## Chapitre II : Étude épidémiologique sur les tiques Ixodidés

### 1. Systématique et morphologie

Les tiques ou *Ixodoidea* sont des arthropodes hématophages à toutes les stases de leur développement. Ce sont des ectoparasites qui ont une alternance de phases parasitaires sur l'hôte et de phases libres au sol, dont la plus grande partie de leur existence se passe à l'état libre. Elles peuvent parasiter les mammifères, les oiseaux, les reptiles et l'homme; et être ainsi à l'origine de nuisance liée à la pique et à la transmission des agents pathogènes.

#### a. Systématique :

Les tiques sont des invertébrés, appartiennent à l'embranchement des Arthropodes, sous embranchement des Chélicérates, classe des Arachnides, sous classe des Acariens et ordre des *Ixodida* (Camicas et Morel, 1977).

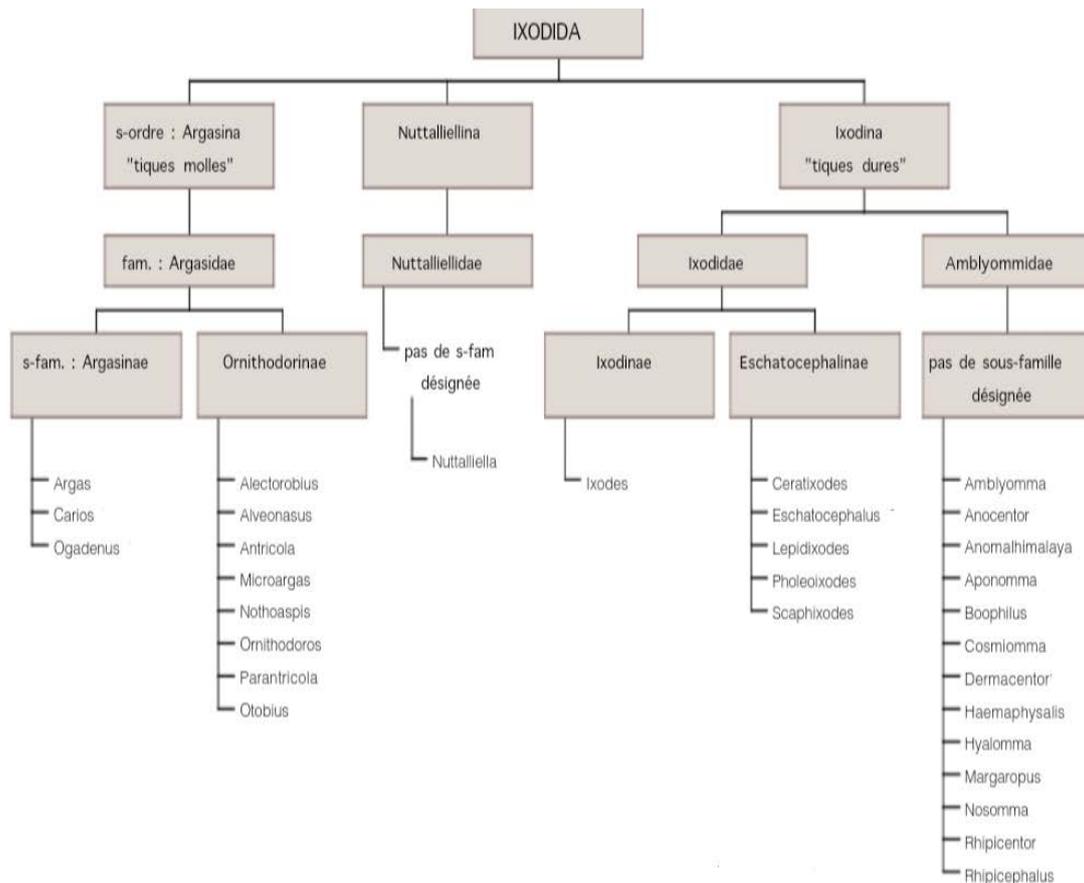
<b>Embranchement :</b>	<i>Arthropoda</i>
<b>Sous Embranchement :</b>	<i>Chelicerata</i>
<b>Classe :</b>	<i>Arachnida</i>
<b>Sous classe :</b>	<i>Acarida</i>
<b>Ordre :</b>	<i>Ixodida</i>

L'ordre des *Ixodida* est subdivisé en trois sous ordres (Pérez-Eid, 2007)

- Sous ordre : *Ixodina* « tiques dures » qui comporte deux familles des *Ixodidae* ou *Prostriata* et les *Amblyommidae* appelé aussi *Metastriata* (Guiguen et Degeilh, 2001, Pérez-Eid, 2007).
- Sous ordre : *Argasina* « tiques molles » qui comporte la famille des *Argasidae* (Pérez-Eid, 2007).
- Sous ordre : *Nuttalliellina* qui comporte la famille des *Nuttalliellidae* (Pérez-Eid, 2007).

Les trois familles *Ixodidae*, *Amblyommidae*, *Argasidae* sont bien différenciées morphologiquement et biologiquement. Par contre, la famille des *Nuttalliellidae* semble morphologiquement intermédiaire entre les autres trois familles (Pérez-Eid, 2007).

Nous nous intéressons dans notre étude au Sous Ordre des *Ixodina* qui comportent au minimum 866 espèces dans le monde (Walker et al., 2014).



**Figure 4 :** Classification des tiques d'après Camicas et collaborateurs 1998 (cité par Pérez-Eid, 2007).

## b. Morphologie :

Les tiques présentent un corps globuleux non segmenté, formé par la soudure du céphalothorax et de l'abdomen, sa morphologie et sa taille (de 1 mm à 30 mm) varient selon la stase considérée et le degré de réplétion après le repas (Guiguen et Degeilh, 2001).

Le corps de la tique est composé de trois parties : le capitulum (Le gnathosoma), l'idiosome et les pattes (Sonenshine et *al.*, 2014)

- **Le capitulum :** appelé aussi rostre chez les tiques, il est impliqué dans la fonction de la fixation et de la nutrition de la tique, sur sa base, le basi capituli, s'insèrent les différentes pièces buccales :

\*Un hypostome, en position ventrale qui constitue un système d'ancrage (Sonenshine et *al.*, 2014).

\* Deux chélicères en harpon enveloppant l'hypostome, ils interviennent dans la fixation en coupants et dilacérant latéralement les tissus pour permettre le passage de l'hypostome (Sonenshine et *al.*, 2014 ; Guiguen et Degeilh, 2001) ;

\* Une paire de palpe : située latéralement, constituée de 4 articles à terminaison sensorielle tactiles et pouvant également engainer l'hypostome mais elles n'interviennent pas dans le processus d'attachement (Sonenshine et *al.*, 2014 ; Guiguen et Degeilh, 2001).

➤ **L'idiosoma :**

L'idiosoma correspond au corps de la tique, il ne joue aucun rôle dans la fixation, cependant, elle comporte de nombreux critères de reconnaissance de genre, d'espèce, de sexe et la stase de développement de la tique ;

La face dorsale des *Ixodidae* porte, à toutes les stases, un écusson sclérifié, d'où le nom de tiques dures, cet écusson recouvre la partie antérieure du corps ( $\frac{1}{4}$  ou  $\frac{1}{3}$  du corps) de la larve, de la nymphe et de la femelle appelé **scutum**, et entièrement le dos de mâle : **conscutum** (Guiguen et Degeilh, 2001, Walker et *al.*, 2014 ; Sonenshine et *al.*, 2014) ; Sur les bord latéraux du scutum de plusieurs genre de tique *Ixodidae*, on peut observer des yeux appelés aussi des ocelles, ce sont des simples organes arrondis, ils peuvent être chez certains genre absents comme *Ixodes* et *Haemaphysalis* ou indistinct comme *Boophilus* (Pérez-Eid, 2007, Walker et *al.*, 2014).

Le reste du corps de la femelle et des autres formes immatures non recouvert de scutum constitue l'alloscutum, comportant des sillons longitudinaux, qui postérieurement dessinent des festons (Walker et *al.*, 2014).

La face ventrale est parcourue par des sillons transversaux longitudinaux et latéraux, elle porte les quatre paires de coxae sclérifiées, situées latéralement et antérieurement. En position ventro-latérale, en arrière des coxae 4 sont déposés une paire de stigmates respiratoires, leur forme est utile dans l'identification de certaines espèces.

Entre les coxae et en position médiane et antérieure, nous observons l'orifice génital ou gonopore qui est l'ouverture de l'organe de reproduction, seules les tiques adultes en sont pourvues (Walker et *al.*, 2014), l'orifice anal ou uropore est situé postérieurement, il est contourné par un sillon anal semi-circulaire qui est utilisé en systématique, il permet de séparer les *Prostriata* (genre *Ixodes*) des autres genres *Metastriata*. Dans le genre *Ixodes*, le sillon anal est antérieur à l'uropore, il est en forme de fer à cheval ou de U renversé ; Pour tous les autres genres, ce sillon, lorsqu'il existe, est postérieur à uropore (Guiguen et Degeilh, 2001 ; Pérez-Eid, 2007 ; Walker et *al.*, 2014).

Chez le mâle, la face ventrale de l'idiosome porte des écussons chitineuses appelés les plaques adanales, leurs nombres et leurs formes constituent des critères de diagnose (Pérez-Eid, 2007 ; Walker et *al.*, 2014).

➤ **Les pattes :**

Les pattes sont divisées en 6 segments articulés qui sont de la base vers l'extrémité, le coxa, le trochanter, le fémur, le genou, le tibia et le tarse et sont articulées avec l'idiosome via les coxae, ces derniers peuvent porter 1 ou 2 épines ou aucune selon les genres, leur forme ainsi que celles de leurs épines sont des caractères utiles en systématique (Pérez-Eid, 2007).

Le tarse de la première paire porte l'organe olfactif de Hailer, un important organe sensoriel qui permet de détecter l'odeur ; la source de chaleur et probablement d'autres facteurs externes (Sonenshine et *al.*, 2014 ; Guiguen et Degeilh, 2001). Outre des rôles locomoteurs et sensoriels, le dernier article (le tarse) est adapté à la fonction de fixation, il possède un ambulacre ou pulville (sorte de ventouse) leur permettant de grimper sur toutes les surfaces même le verre (Guiguen et Degeilh, 2001).

Le nombre de paire de pattes permet d'identifier les larves, ces dernières sont hexapodes, par contre les nymphes et les adultes sont octopodes (Guiguen et Degeilh, 2001).



## 2. Biologie :

### a. Cycle de vie des tiques :

Les *Ixodidae* sont des parasites temporaires ; leur cycle de développement comporte 3 stades séparés par des mues. A chaque stade correspond à une stase : larve, nymphe adulte mâle et femelle.

Les *Ixodidae* ne se nourrissent qu'en vie parasitaire. A l'état libre après les mues, ils demeurent à jeun en attendant de trouver un hôte, la femelle prend un repas sanguin de plusieurs jours jusqu'à ce qu'elle devienne bombée et volumineuse (Guiguen et Degeilh, 2001), une fois le repas terminé, la femelle se détache et tombe sur le sol où elle se cache dans l'environnement pour digérer et pondre les œufs (Rene, 2015). Les 2 000 à 20 000 œufs sont déposés directement sur le sol ou dans une anfruosité de terrain lorsque la température est optimale (entre 20° et 30°C) ; la ponte peut durer de 10 à 30 jours puis la femelle meurt (Guiguen et Degeilh, 2001, Dantos Torros, 2008 ; Walker et al., 2014). Après une embryogenèse où la larve se développe pendant plusieurs semaines (2 à 4 semaine) à l'intérieur des œufs, ces derniers éclosent (Walker et al., 2014), les larves cherchent un hôte et après un repas de sang de 3 à 5 jours, elles se détachent et tombent au sol pour y effectuer une métamorphose en nymphes qui peut durer 2 à 8 semaines selon les espèces et les conditions climatiques (Socolovschi et al., 2008). Le même comportement est répété par la nymphe, son repas sanguin dure de 4 à 8 jours (Walker et al., 2014). La métamorphose en adulte est en général plus longue, jusqu'à 20 à 25 semaines dans les conditions les plus défavorables (Socolovschi et al., 2008). Au stade adulte, le repas sanguin des femelles dure de 5 à 20 jours, alors que les mâles de la majorité des *Ixodidae* prennent un repas très réduit juste pour assurer la spermatogenèse ou ils ne s'alimentent pas comme le cas des mâles du genre *Ixodes* dont l'organe reproductif est développé au cours du stade nymphal (Walker et al., 2014). L'accouplement des adultes se déroule sur l'hôte rarement au sol sauf pour le genre *Ixodes* où il peut se produire lorsque les tiques sont encore en végétation. Certaines femelles commencent leur repas avant l'accouplement et le terminent après la fécondation (Pérez-Eid et Gilot, 1998 ; Walker et al., 2014).

La durée du cycle est très variable, elle dépend de la disponibilité des hôtes et des conditions climatiques dont les tiques dures sont très sensibles à la dessiccation où dans ce cas elles entrent en diapause qui est un état caractérisé par une chute de métabolisme et un retard de développement et de la ponte. La durée du cycle est en moyenne de 1 à 4 ans (Socolovschi et al., 2008).

En considérant le nombre des phases parasitaires, on distingue trois types de cycle :

- Un cycle triphasique ou trixène : les trois stases se développent sur trois hôtes de la même espèce (cycle monotrope) ou d'espèce différente (cycle polytrope); plus de 80% des *Ixodina* dans le monde ont ce type de cycle (Pérez-Eid, 2007).

- Un cycle diphasique ou dixène : ce sont des cycles comportant deux phases parasitaire sur deux hôtes : larves et nymphes évoluent sur le premier et la forme adulte chez le second (Guiguen et Degeilh, 2001 ; Pérez-Eid, 2007).
- Un cycle monophasique ou monoxène : le cycle s'effectue entièrement sur le même animal (Pérez-Eid, 2007).

En ce qui concerne la nature des hôtes, les tiques sont classées en trois catégories (Guiguen et Degeilh, 2001 ; Pérez-Eid, 2007) :

- Les tiques télotropes : le tropisme d'hôte est différent pour chacune des trois stases, dont les stases immatures sont ubiquistes (aucune spécificité d'hôte) et les adultes sont sélectifs ;
- Les tiques ditropes : le tropisme ne s'exerce que sur deux groupes d'hôtes distincts, au stade immature ; ces tiques se portent sur les petits mammifères, principalement les reptiles et les oiseaux, alors que les adultes ne se trouvent que sur les grands mammifères ;
- Les tiques monotropes : le tropisme ne s'exerce qu'envers un seul groupe d'hôtes c'est le cas des *Boophilus*.

#### **b. Repas sanguin et transmission des agents pathogènes :**

Les tiques trouvent leurs hôtes par plusieurs méthodes, certaines tiques vivent dans l'environnement et elles quêtent leurs hôtes sur la végétation, elles sont attirées vers l'hôte par la chaleur corporelle, par le gaz carbonique (CO<sub>2</sub>) ainsi que l'odeur. Les tiques sautent sur l'hôte en utilisant leurs pattes frontales (Sonenshine et *al.*, 2014 ; Guiguen et Degeilh, 2001).

Une fois sur son hôte, la tique explore le corps de sa victime, à la recherche d'une zone propice, à peau fine donc facile à percer et richement vascularisée. Elle s'attache à la peau par ses parties buccales, Les chelicerae et l'hypostome forment un tube qui pénètre la peau, puis elle secrète une substance gluante « le ciment » dans la salive qui permet de coller les palpes à l'épiderme et l'hypostome au derme, les griffes pointues à l'extrémité des chelicerae coupent un trou dans le derme et brisent les capillaires sanguin très près de la surface de la peau. Les tiques se nourrissent du sang et de la lymphe libérée dans cette lésion. La prise de repas des tiques *Ixodidae* est lente, les larves prennent typiquement 3 à 5 jours, les nymphes de 4 à 8 jours et les femelles de 5 à 20 jours (Walker et *al.*, 2014).

### **3. Importance et distribution géographique :**

Les tiques ont un double rôle, un rôle pathogène direct lié à la pénétration des pièces buccales et la présence des toxines et des anticoagulants dans la salive qui se traduit par une perte de sang et des lésions locales plus ou moins importantes, possibles portes d'entrée à l'origine d'infections bactériennes secondaires (Guiguen et Degeilh, 2001), et un rôle pathogène indirect par la transmission de nombreux agents bactériens, viraux, et parasitaires (Walker et *al.*, 2014). La première démonstration de leur capacité à transmettre des maladies a été faite à la fin du 19<sup>e</sup> siècle par Smith et Kilbourne qui ont montré que *Boophilus annulatus* pouvait transmettre un

protozoaire, *Babesia bigimina*, l'agent de la maladie «Texas cattle fever» (Goodman et *al.*, 2005 ; Smith et Kilborne, 1893).

Les tiques dures vivent dans un écosystème particulier où leur vie est influencée par la végétation, les conditions climatiques et les interactions qu'elles entretiennent avec leurs hôtes. Elles se rencontrent dans toutes les régions du monde, du climat chaud et humide des pays tropicaux au climat froid et sec des régions polaires, cette distribution mondiale est influencé par le changement climatique, les modifications de l'habitat et à la mondialisation des activités humaines principalement le commerce des bétails et leurs transports dans les camions et les navires (Léger et *al.*, 2013 ; Walker et *al.*, 2014). Cependant, chaque espèce de tique vectrice présente une distribution géographique particulière (Socolovschi et *al.*, 2008)

En Afrique, sept genres de tiques *Ixodidae* infestent généralement les animaux domestiques, les espèces de tiques qui ont été rencontrées en Afrique sont décrites dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 3:** Les espèces de tiques identifiées en Afrique (Walker et *al.*, 2014 ).

Nord	Sahara, Sahel	Ouest	Centrale	Nord Est	Est	Sud
	<i>Am. Lepidum</i> <i>Am. variegatum</i>	<i>Am. Variiegatum</i>	<i>Am. variegatum</i> <i>Am. pomposum</i>	<i>Am. gemma</i> <i>Am. Lepidum</i> <i>Am. variegatum</i>	<i>Am. gemma</i> <i>Am. Lepidum</i> <i>Am. variegatum</i>	<i>Am. hebraeum</i> <i>Am. variegatum</i>
<i>De. marginatus</i>						
<i>Ha. leachi</i> <i>Ha. punctata</i> <i>Ha. sulcata</i>	<i>Ha. leachi</i>	<i>Ha. leachi</i>	<i>Ha. leachi</i>	<i>Ha. leachi</i>	<i>Ha. leachi</i>	<i>Ha. leachi</i>
<i>Hy. anatolicum</i> <i>Hy. excavatum</i> <i>Hy. scupense</i> <i>Hy. dromedarii</i> <i>Hy. impeltatum</i> <i>Hy. lusitanicum</i> <i>Hy. marginatum</i> <i>Hy. rufipes*</i> <i>Hy. turanicum</i>	<i>Hy. anatolicum</i> <i>Hy. excavatum</i> <i>Hy. scupense</i> <i>Hy. dromedarii</i> <i>Hy. impeltatum</i> <i>Hy. impressum</i> <i>Hy. rufipes</i> <i>Hy. truncatum</i>	<i>Hy. rufipes</i> <i>Hy. truncatum</i>	<i>Hy. rufipes</i> <i>Hy. truncatum</i>	<i>Hy. anatolicum</i> <i>Hy. excavatum</i> <i>Hy. dromedarii</i> <i>Hy. impeltatum</i> <i>Hy. impressum</i> <i>Hy. marginatum</i> <i>Hy. rufipes</i> <i>Hy. truncatum</i>	<i>Hy. dromedarii</i> <i>Hy. impeltatum</i> <i>Hy. rufipes</i> <i>Hy. truncatum</i>	<i>Hy. rufipes</i> <i>Hy. truncatum</i> <i>Hy. turanicum</i>
<i>Ix. ricinus</i>						<i>Ix. pilosus</i> <i>Ix. rubicundus</i>
						<i>Ma. winthemi</i>
<i>Rh. annulatus</i> <i>Rh.</i> (Sub-genus <i>Boophilus</i> )	<i>Rh. annulatus</i> <i>Rh. Decoloratus</i> <i>Rh. geigy</i> <i>Rh. camicasi</i> <i>Rh. everts</i>	<i>Rh. annulatus</i> <i>Rh. decoloratus</i> <i>Rh. geigy</i>	<i>Rh. annulatus</i> <i>Rh. decoloratus</i> <i>Rh. geigy</i> <i>Rh. appendiculatus</i> <i>Rh. evertsi</i>	<i>Rh. annulatus</i> <i>Rh. decoloratus</i>  <i>Rh. camicasi</i> <i>Rh. everts</i>	<i>Rh. decoloratus</i> <i>Rh. geigy</i> <i>Rh. microplus</i> <i>Rhappendiculatus</i>	<i>Rh. decoloratus</i>  <i>Rh. microplus</i>  <i>Rh. appendiculatus</i>
<i>Rh. bursa</i> <i>Rh. camicasi</i>  <i>Rh. praetextatus</i>	<i>Rh. guilhoni</i> <i>Rh. Lunulatus</i> <i>Rh. Muhsamae</i> <i>Rh. Praetextatus</i>	<i>Rh. everts</i> <i>Rh. guilhoni</i> <i>Rh. lunulatus</i> <i>Rh. muhsamae</i>	<i>Rh. lunulatus</i> <i>Rh. muhsamae</i> <i>Rh. praetextatus</i>	<i>Rh. guilhoni</i> <i>Rh. lunulatus</i> <i>Rh. muhsamae</i> <i>Rh. praetextatus</i> <i>Rh. pravus</i> <i>Rh. pulchellus</i> <i>Rh. sanguineus</i> <i>Rh. turanicus</i>	<i>Rh. evertsi</i> <i>Rh. lunulatus</i> <i>Rh. muhsamae</i> <i>Rh. praetextatus</i> <i>Rh. pravus</i> <i>Rh. pulchellus</i> <i>Rh. sanguineus</i> <i>Rh. senegalensis</i> <i>Rh. simus</i> <i>Rh. turanicus</i> <i>Rh. zambeziensis</i>	<i>Rh. Lunulatus</i>  <i>Rh. sanguineus</i>  <i>Rh. simus</i> <i>Rh. turanicus</i> <i>Rh. zambeziensis</i>
<i>Rh. sanguineus</i>	<i>Rh. sanguineus</i> <i>Rh. senegalensis</i>		<i>Rh. sanguineus</i> <i>Rh. senegalensis</i> <i>Rh. simus</i> <i>Rh. turanicus</i> <i>Rh. zambeziensis</i>			
<i>Rh. turanicus</i>	<i>Rh. turanicus</i>	<i>Rh. sanguineus</i> <i>Rh. senegalensis</i>  <i>Rh. turanicus</i>				

*Am* :Amblyomma, *Ma* :Margaropus, *De* :Dermacentor, *Ha* : Haemaphysalis, *Hy* : Hyalomma  
*Ix* :Ixodes, *Rh*:Rhipicephalus

#### 4. Collecte et identification :

Les tiques sont habituellement collectées à partir de leurs hôtes, la recherche des tiques au niveau des zones où les tiques préfèrent se nourrir (des sites de prédilection) est le plus souvent pratiquée d'où l'intérêt de la connaissance de ces sites (Pérez-Eid, 2007 ; Walker et *al.*, 2014). Différents systèmes de crochets ou de pinces sont utilisés pour retirer l'ensemble du corps de la tiques (y compris le rostre) de la peau de l'hôte afin de les conserver en bon état pour faciliter l'identification (Walker et *al.*, 2014).

Les tiques peuvent être également collectées de l'environnement par l'utilisation d'un morceau de tissu blanc de 1m<sup>2</sup> trainé sur la végétation (« flagging » ou « dragging ») pour 5m à 10m où les larves, les nymphes et les adultes qui s'y trouvent s'accrochent, cette technique est adaptée aux tiques exophiles (Socolovschi, 2008 ; Walker et *al.*, 2014), par contre les tiques endophiles peuvent être collectées directement à partir des nids ou des abris de leurs hôtes en utilisant une pince dans les fissures, sous des morceaux de fumier sec et des tissus d'araignées (Walker et *al.*, 2014).

Les tiques doivent être collectées dans des tubes, les tubes avec les murs en verre sont les tubes idéaux pour le stockage des tiques, les tiques sont conservées dans de l'alcool (éthanol 70° à 90°), ou mieux l'alcool glycérolé (alcool 80% + eau 15 % + glycérol 5%) qui empêche la dessèchement des tiques, 1% de chloroforme ajouté à l'alcool est utile pour l'observation d'email coloré (Pérez-Eid, 2007 ; Walker et *al.*, 2014).

L'identification des tiques est reposée sur les caractéristiques morphoanatomique. Les tiques peuvent être identifiées au genre à l'œil nu ou à un simple grossissement en utilisant des clés d'identification qui décrivent les différentes stases.

La répartition géographique des tiques peut être également très utile pour identifier les tiques (Walker et *al.*, 2014). Plusieurs clés taxonomiques de détermination ont été publiées. Cependant, l'identification morphologique est parfois difficile ce qui a conduit au développement des outils moléculaires pour faciliter l'identification des espèces *Ixodidae* (Socolovschi, 2008).

### **Moyens de lutte :**

Il est extrêmement difficile de contrôler les tiques, le contrôle de l'infestation des animaux domestique repose essentiellement sur l'utilisation des acaricides qui sont soit d'origine naturelle (pyréthrine...) ou de synthèse (organochlorés, organophosphorés, carbamates). Cependant, l'usage inconsidéré de ces substances pose des problèmes importants (la pollution, l'apparition des souches de tiques résistantes, coût, etc...) ce qui a conduit au développement des méthodes de luttés alternatives tels que les vaccins anti-tiques (Guiguen et Degeilh, 2001 ; Merino et *al.*, 2013 ; Péter et Brossard, 1998). Le développement des vaccins est basé sur la réaction immunitaire des hôtes contre toute protéine des tiques pouvant jouer le rôle d'un antigène (Pérez-Eid, 2007; Péter et Brossard, 1998). Cette méthode peut aussi prévenir ou réduire la transmission des pathogènes par une diminution des populations des tiques et de leur capacité vectorielle (Merino et *al.*, 2013). Deux vaccins ont été développés contre la tique *Rh. (Boophilus) microplus*, le TickGARD en Australie et le Gavac en Amérique latine en utilisant un antigène constitué de glycoprotéine de surface des cellules intestinales, par conséquent le tube digestif de la tique sera fortement endommagé par les anticorps anti tique au cours de la prise de sang d'un animal vacciné (de la Fuente et *al.*, 2007 ; Merino et *al.*, 2013 ; Willadsen et *al.*, 1995).

# **PARTIE EXPERIMENTALE**

## I. Objectifs et but de l'étude

La babesiose canine est très peu étudiée en Algérie, son épidémiologie est régie par des interactions complexes impliquant l'agent pathogène, les vecteurs (tiques), l'hôte vertébré et l'environnement.

Très peu de connaissances sont disponibles sur la distribution et la prévalence réelle de cette maladie, ainsi que sur la nature des facteurs de risque déterminant sa transmission.

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

Les objectifs spécifiques assignés à ce mémoire sont :

- i) Réaliser une étude parasitologique pour l'identification morphologique des espèces circulantes de *Babesia* chez le chien.
- ii) Réaliser une étude de la prévalence de l'infection par *Babesia spp* chez le chien dans la région d'Alger en utilisant la méthode du frottis sanguin coloré au MGG
- iii) Estimer le taux de séroprévalence de l'infection par *Babesia canis* en utilisant le test IFI.
- iv) Évaluer la séroprévalence en fonction de la distribution des titres en anticorps anti-*Babesia canis*.
- v) Procéder à une comparaison des deux méthodes de diagnostic utilisées en évaluant les performances de la méthode du frottis sanguin en prenant le test IFI comme test de référence.
- vi) Déterminer les indicateurs ou facteurs de risque susceptibles de favoriser la transmission de ce parasite.
- vii) Identifier et recenser les différentes espèces de tiques (Acari : Ixodidae) récoltées.
- viii) Étudier les facteurs de risque en faveur d'une infestation des chiens par les tiques

## II. Matériel et méthodes

### 1. Description de la région d'étude :

Notre étude a été menée dans la wilaya d'Alger qui est située au bord de la méditerranée sur une longueur de 90 Km et une largeur pouvant varier de 7 à 25 Km, elle occupe une position centrale au Nord de l'Algérie. Elle est limitée géographiquement par la mer méditerranée au Nord, par la wilaya de Blida au Sud, par la wilaya de Tipaza à l'Ouest et par la wilaya de Boumerdés à l'Est. Elle est composée de treize Daïras et cinquante-sept communes.

La région d'Alger bénéficie d'un climat de type méditerranéen, il est caractérisé par des hivers doux et humides; et des étés longs chauds et secs; Les températures hivernales varient entre 08° et 15°C elles grimpent à 25°C au mois de mai pour atteindre une moyenne de 28° à 30°C en juillet et août.

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

### 2. Description de la population animale :

Au cours de cette étude, 189 chiens de la région du grand Alger ont été étudiés durant la période s'étendant du mois d'avril 2015 au mois de janvier 2016, soit sur une période de 10 mois.

Les chiens sont répartis en 4 populations différentes : 159 chiens de la fourrière canine d'Alger récupérés lors de l'opération quotidienne de la capture des chiens errants, 15 chiens de ferme, 05 chiens de chasse et 10 chiens de compagnie.

Les chiens étaient de différentes races. Les différentes races rencontrées en fonction de leur nombre sont repris dans le tableau n°4

**Tableau 4 : Nombre de chiens prélevés en fonction de la race**

Race	Nombre d'échantillon
<b>Rottweiler</b>	<b>4</b>
<b>Chien loup</b>	<b>1</b>
<b>pitbull</b>	<b>8</b>
<b>Berger Belge</b>	<b>3</b>
<b>Berger Allemand</b>	<b>27</b>
<b>Dog Allemand</b>	<b>1</b>
<b>Caniche</b>	<b>1</b>
<b>Husky</b>	<b>1</b>
<b>Staff</b>	<b>3</b>
<b>Pointer</b>	<b>1</b>
<b>Braque</b>	<b>3</b>
<b>Pointer espagnol</b>	<b>1</b>
<b>Berger australien</b>	<b>4</b>
<b>Commune</b>	<b>129</b>
<b>Croisé blanc des peryné et berger allemand</b>	<b>2</b>
<b>Total</b>	<b>189</b>

### 3. Plan d'échantillonnage et enquête épidémiologique

Une enquête épidémiologique descriptive a été réalisée au moyen d'un questionnaire épidémiologique afin de récolter un maximum d'informations pour l'analyse des facteurs de risque liés à la babésiose canine.

Une enquête a été remplie pour chaque chien étudié (voir annexe) mentionnant les caractéristiques des animaux (âge, sexe, race, origine, signe clinique...).

On considère que le nombre de chiens capturés par le personnel de la fourrière canine avoisine les 40 par semaine ce qui représente environ 159 chiens sur les 40 semaines qu'a duré l'étude. En conséquence, le taux de prélèvement dans ce groupe de chiens était d'environ 84 %.

On considère que le nombre de chiens de la ferme prélevé représente 15 chiens sur les 40 semaines qu'a duré l'étude. En conséquence, le taux de prélèvement dans ce groupe de chiens était d'environ 8 %.

Le nombre des chiens de compagnie et de chasse prélevés représente respectivement 10 et 5 sur les 40 semaines qu'a duré l'étude. En conséquence le taux des prélèvements dans ces deux groupes respectivement était de 5.4% et 2.6%.

Seuls les chiens qui se sont présentés en consultation ont subi un examen clinique.

### 4. Nature et préparation des prélèvements

#### 4.1. Prélèvement de sang

Nous avons prélevé des échantillons de sang à partir de la veine céphalique au niveau du membre thoracique et parfois au niveau de la veine saphène ou fémorale du membre pelvien, le sang a été recueilli dans un tube sec (système vacutainer sous vide) pour la collecte de sérum (destinée pour les analyses sérologiques) et un tube EDTA (système vacutainer avec présence d'acide tétra-acétique éthylène diamine) pour la collecte de sang totale (destinée aux analyses moléculaires), la quantité de sang récupéré est de 2 à 5 ml dans chaque tube.

#### 4.2. Goutte de sang pour le frottis sanguin

Sur chaque animal, un frottis sanguin mince a été confectionné sur place à partir des capillaires de la face interne du pavillon de l'oreille.

Les tubes de prélèvements et les lames ont été numérotés et transportés dans une glacière vers le laboratoire de parasitologie de l'ENSV.

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

Le sang des tubes EDTA : transférés immédiatement dans des tubes eppendorf® et stockés rapidement dans un congélateur à -20°C.

Le sang dans les tubes sec : centrifugé à 3 000 tours/minutes pendant 10 min ; les sérums obtenus ont été transférés dans des tubes eppendorf®, stockés à -20°C jusqu'à analyses.

#### 4.3. Collecte des tiques :

Les tiques ont été recherchées sur tous les chiens prélevés, elles ont été récoltées de façon mécanique sans qu'aucune substance (éther, acaricide, etc...) ne soit préalablement appliquée sur le parasite. Les tiques collectées sont conservées individuellement pour chaque animal dans des tubes numérotés remplis d'éthanol à 70°.

### 5. Analyses de laboratoire :

#### 5.1 Technique du frottis sanguin :

Pour chaque chien, un frottis sanguin mince a été réalisé à partir du sang capillaire pour la détection de *Babesia sp*,

La goutte de sang récoltée (approximativement 50 µl) se trouve à l'extrémité de la lame. Une autre lame rodée placée devant la goutte avec un angle de 45°, la goutte s'étale alors le long du bord de la lame par capillarité puis déplacée d'un mouvement régulier vers l'avant en glissant sur la première lame. La lame est ensuite séchée à l'air ambiant puis fixée dans du méthanol absolu pendant 5 min, et colorée par une solution de **Giemsa** diluée au dixième dans de l'eau distillée et laisser agir pendant 20 à 30 minutes, on jette enfin le colorant puis on rince la lame à l'eau du robinet pendant quelques secondes et on la laisse sécher par égouttage en position verticale (OIE, 2008),.

Les frottis colorés ont été directement observés au microscope photonique à l'objectif 100 avec immersion dans l'huile, la lecture se fait sur l'ensemble de la lame et principalement au niveau de la partie terminale de l'étalement encore appelée « queue de l'étalement » où les globules rouges sont bien visibles et bien éparpillés.

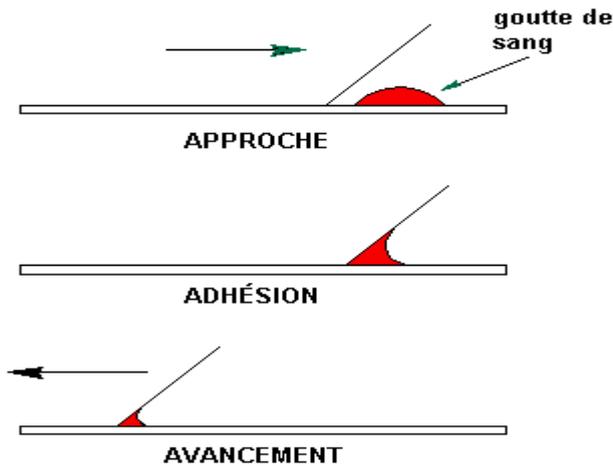


Figure 5 : Réalisation d'un frottis sanguin (DRIEU, 2009)

## 5.2 Analyses sérologiques :

Les tests sérologiques ont été réalisés au sein du Laboratoire de microbiologie de l'ENSV et la lecture au microscope à fluorescence s'est faite au sein du Laboratoire Central Vétérinaire (LCV) de l'Institut National de Médecine Vétérinaire d'Alger (INMV).

Pour la mise en évidence des anticorps dirigés contre *Babesia canis* nous avons utilisé un test IFAT : des lames commercialisées **MegaScreen® FLUOBABESIA canis** (MegaCorDiagnostik, Autriche) sur 189 sérums décongelés à l'air ambiant.



Figure 6 : kit MegaScreen® FLUOBABESIA canis

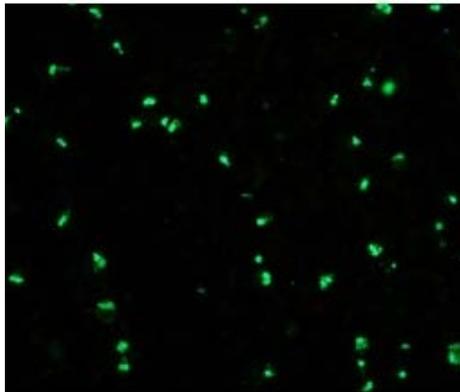
Source: [http://euroveterinaria.com/img/p/1/1/0/110-large\\_default.jpg](http://euroveterinaria.com/img/p/1/1/0/110-large_default.jpg)

**Principe** : est la détection des anticorps de classe IgG dirigés contre *Babesia canis* dans le sérum de chien.

Le kit de MegaScreen® FLUOBABESIA canis est composé de 10 lames sur chaque lame on trouve 10 puits ou « spots » contenant des érythrocytes canins fixés infectés expérimentalement par *Babesia canis* et contiennent les caractéristiques cytoplasmiques des merozoïtes.

Les sérums canins à tester ont été dilués dans une solution saline tamponnée, le PBS (phosphate buffered saline à 7,4 pH) à plusieurs titres (1/32, 1/64, 1/128 et 1/256) et distribués sur les puits (20µl de sérum) et sur chaque lame, deux puits ont été réservés aux contrôles positif et négatif. Après 30 min d'incubation à 37°C en chambre humide, les lames ont été lavées avec du tampon PBS et séchées puis le conjugué (FITC anti-Dog IgG conjugate) a été distribué sur tous les puits afin de se lier aux complexes antigènes-anticorps, après 30 min d'incubation à 37°C dans l'obscurité, les lames ont été à nouveau lavées au BPS afin d'éliminer le conjugué n'ayant pas réagi. Finalement, les puits ont été recouverts d'un Mounting Medium et observés au microscope à fluorescence au grossissement x400.

Une réaction positive apparaît sous forme de corps d'inclusion colorés, brillants, réguliers observée dans le cytoplasme ou exceptionnellement à l'extérieur (dans le cas d'érythrocytes éclatés) d'érythrocytes infectés. La taille, l'aspect et la densité des inclusions (merozoïtes) doivent être comparés aux réactions de contrôle positif et négatif. Les schémas de réactivité différents de ceux observés dans le contrôle positif doivent être considérés comme non spécifiques. Une réaction négative : aucune fluorescence claire des corps d'inclusion n'est observée.



**Figure 7 :** *BABESIA canis* sous microscope à fluorescence

**MegaScreen® FLUOBABESIA canis**

Source: [http://euroveterinaria.com/img/p/1/3/1/131-large\\_default.jpg](http://euroveterinaria.com/img/p/1/3/1/131-large_default.jpg)

**Tableau 6** : Barème de lecture des lames IFAT MegaScreen® FLUOBABESIA canis

Résultats	Signification
--	Contrôle négatif
1+	Fluorescence présente mais modérée
2+	Fluorescence intense
3+	Fluorescence très intense

### 5.3. Récolte et identification des tiques :

Les tiques ont été recherchées sur tous les chiens prélevés, elles ont été récoltées de façon mécanique sans qu'aucune substance (éther, acaricide, etc...) ne soit préalablement appliquée sur le parasite. Les tiques collectées sont conservées individuellement pour chaque animal dans des tubes numérotés remplis d'éthanol à 70°.

Une fois au laboratoire de parasitologie de l'ENSV, chaque tique a été identifiée (genre et espèce) et le sexe a été déterminé à la loupe binoculaire (OPTIKA) grâce à la clé d'identification taxonomique standard des tiques adultes (Guiguen et Degeilh, 2001 ; Pérez-Eid, 2007 ; Walker et al., 2014).

## 6. Analyses statistiques

### 6.1. Codage et saisie des données

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

### 6.2. Analyses statistiques

Les prévalences calculées ont été estimées à 95% d'intervalle de confiance. Les différences statistiques dans les proportions ont été comparées en utilisant le test du Chi<sup>2</sup> (Yates corrected). Les différences observées ont été considérées comme significatives quand la valeur de *P* était inférieure à 0,05. Les analyses statistiques ont été menées grâce aux logiciels consultés en ligne: [http://www.OutildecaculdeKhicarré\(Chicarré%3bChideuxouX2\).html](http://www.OutildecaculdeKhicarré(Chicarré%3bChideuxouX2).html) et <http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/?module=tests/fisher>, pour le calcul de Chi<sup>2</sup>.

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

Le kappa de Cohen ( $k$ ) est un coefficient destiné à mesurer l'accord entre deux variables qualitatives ayant les mêmes modalités. Classiquement, il est utilisé afin de mesurer le degré de concordance entre les stades attribués par deux juges. Il peut également être appliqué afin de mesurer un accord intra-observateur. Il a été calculé et évalué comme décrit auparavant (Kirkwood et Sterne, 2003).

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

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

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

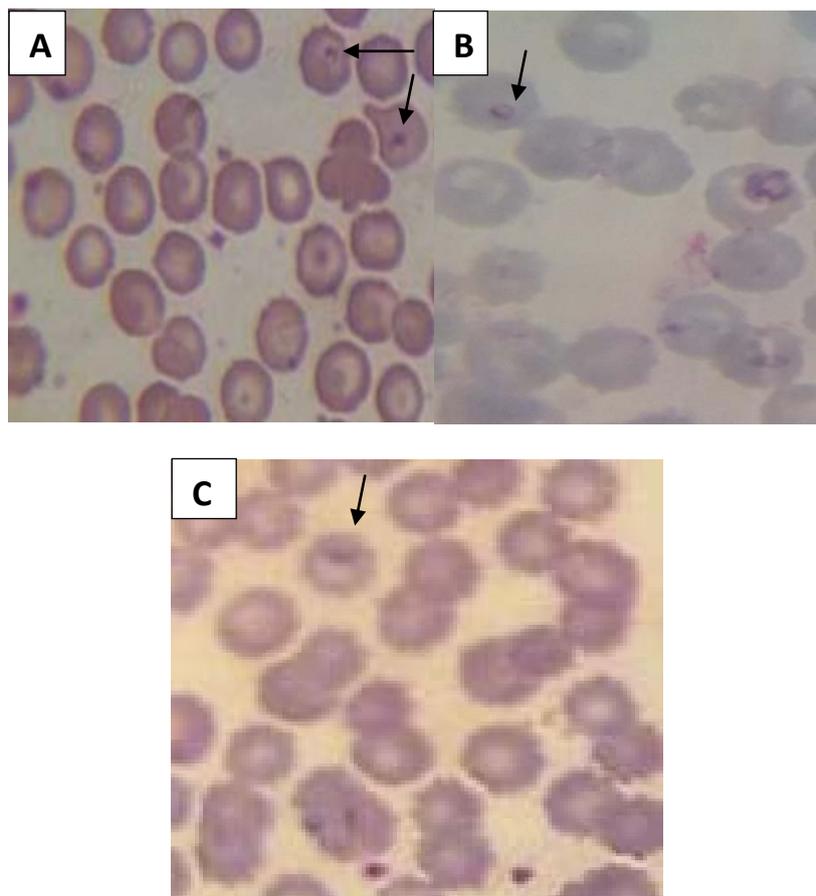
### III. Résultats :

#### III.1. Étude de *Babesia spp* par frottis sanguin (morphologie et prévalence)

##### 1. Identification morphologique des espèces de *Babesia spp* identifiées sur frottis sanguins colorés au Giemsa :

La recherche en microscopie optique, sous huile à immersion en utilisant un objectif x100, sur des lames préparées, nous a permis de mettre en évidence deux groupes de parasite du genre *Babesia* identifiés par leur aspect morphologique :

- ✓ Large *Babesia* ou *Piroplasma* : ce sont des parasites de grandes formes de 2,5 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre, ils ont un aspect *piriforme* seule ou par paire (figure n°8 ; C).
- ✓ Small *Babesia* ou *Microbabesia* : ce sont des parasites de petites formes de 1,0 à 2,5  $\mu\text{m}$  de diamètre, en forme annulaire ou ovale seule ou par paire (figure n°8 ; A et B).



**Figure 8: Différentes espèces de *Babesia spp*. (A,B) small *Babesia*, (C) large *Babesia* objectif x100 (photos zoomées) (Photos Personnelles, 2015).**

## 2. Étude de la prévalence des infections par *Babesia sp* par examen du frottis sanguin.

### ➤ Prévalence globale :

Au total, 189 échantillons de sang de chiens ont été analysés, les résultats ont révélé que 25 chiens étaient positifs pour *Babesia sp.*, correspondant à une prévalence globale de 13,22%.

### ➤ Prévalence en fonction de la population canine

Si on étudie la prévalence par population, on constate ce qui suit (figure 9 ou tableau 6) :

Parmi les 159 chiens de la fourrière canine analysés, 21 se sont révélés positifs à *Babesia sp* soit un taux de prévalence de 13,20%.

Chez les chiens de compagnie 2 sur 10 étaient positifs soit une prévalence de 20%

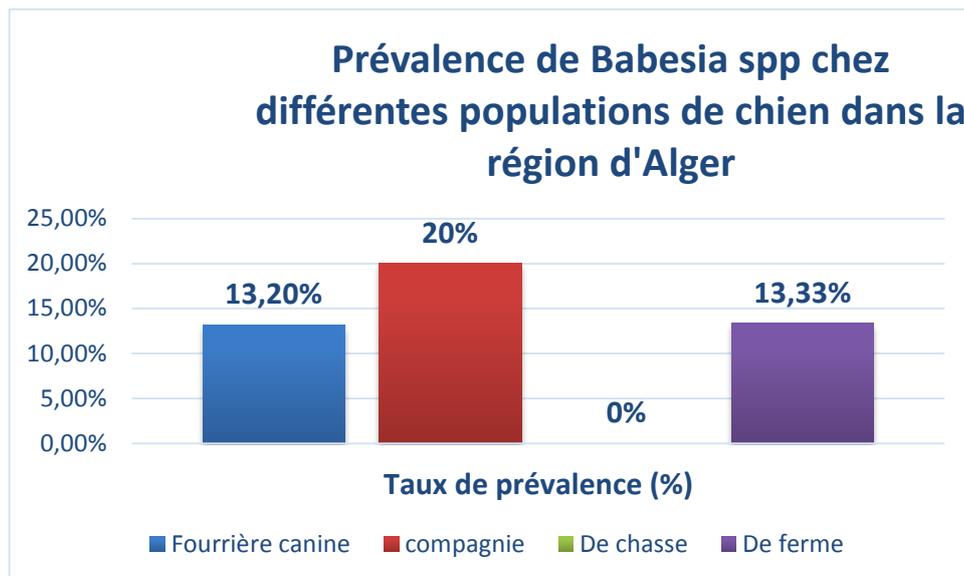
Chez les chiens de chasse, aucun animal ne s'est montré positif vis-à-vis de *Babesia spp.*

Chez les chiens de ferme, 2 sur les 15 prélevés ont montré des frottis positifs à *Babesia spp.*, soit une prévalence de 13,33%

Aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) n'a été observée en fonction des différentes populations canines même si les chiens de fourrière se sont montrés plus infectés que les autres populations de chiens.

**Tableau 6 : taux de prévalence de *Babesia spp* identifié chez différentes populations de chien de la région d'Alger**

Population de chien	Nombre de positif /le total (prévalence en (%))
<i>Fourrière canine</i>	21/159 (13,20%)
<i>compagnie</i>	2/10 (20%)
<i>De chasse</i>	0/5 (0%)
<i>De ferme</i>	2/15 (13,33%)
Total	25/189 (13,22%)



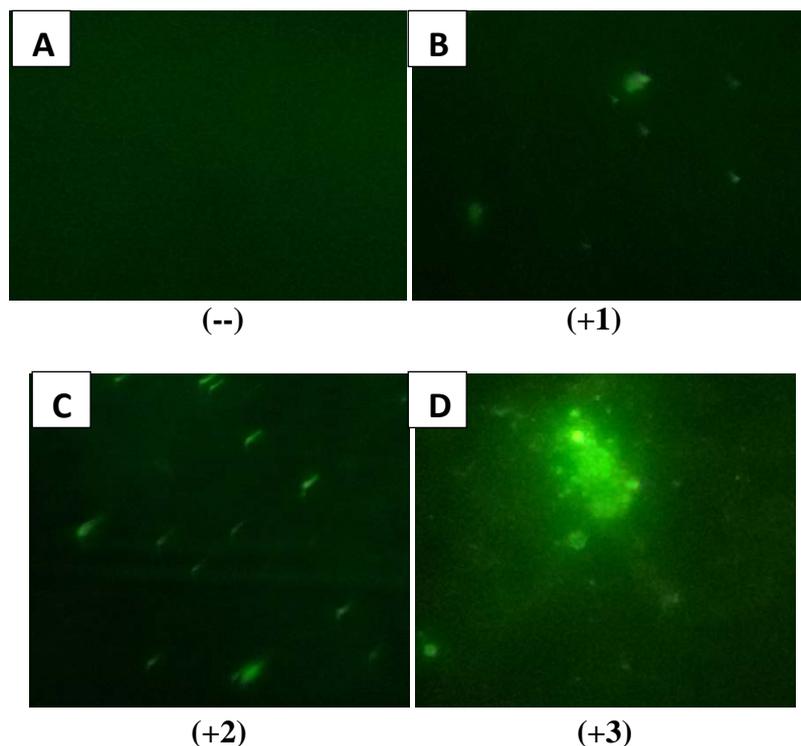
**Figure 9 : prévalence de *Babesia spp* chez différentes populations de chien dans la région d'Alger**

### III.2. Étude de la séroprévalence vis-à-vis des infections par *Babesia canis*

#### - Séroprévalence globale

Sur un total de 189 sérums de chiens analysés, 34 (17,98%) (IC 95% 11,53-22,46), se sont révélés positifs aux anticorps spécifiques de *Babesia canis* en utilisant le test d'Immunofluorescence Indirecte du kit MegaScreen® FLUOBABESIA canis qui détecte les anticorps spécifiques de *Babesia canis*.

La figure n°10 illustre les résultats de quelques sérums testés sur des lames IFAT en fonction du barème de lecture sous microscope à fluorescence.



**Figure 10 : Différentes observations des lames IFAT selon le barème de lecture MegaScreen® FLUOBABESIA canis sous microscope à fluorescence (Photos personnelles, 2016).**

**- Séroprévalence de *Babesiacanis* en fonction de la population canine :**

La séroprévalence a varié en fonction de la population canine. Elle s'est montrée assez similaire chez les chiens de compagnie et les chiens de FC (20% IC95% et 19,49% respectivement) et a varié de 6,66% à 0% chez les chiens de ferme et chiens de chasse respectivement.

La comparaison des populations montre que la séroprévalence chez les chiens n'est pas significativement différente ( $p > 0,05$ ).

**Tableau 7 : Séroprévalence des anticorps anti-*Babesia canis* chez différentes populations canines**

Population canine	Négatif	Positif	Total	Séroprévalence % (IC 95%)
1. Fourrière canine	128	31	159	19,49% (12,77-25,22)
2. Compagnie	08	2	10	20% (0-45,25)
3. Ferme	14	1	15	6,66% (0-18)
4. Chasse	5	0	5	0%
Total	155	34	189	17,98% (11,53-22,46)

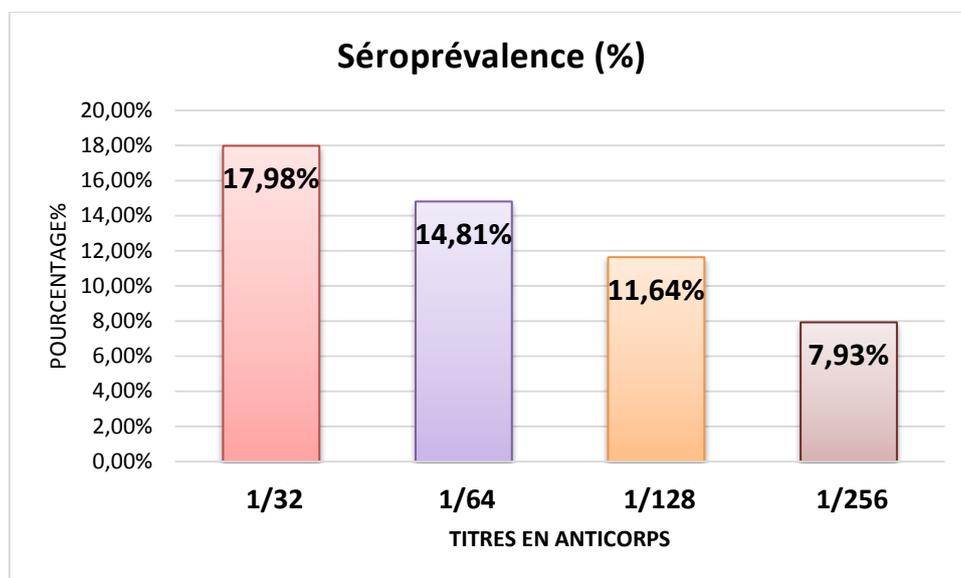
- **Séroprévalence en fonction de la distribution des titres en anticorps anti-*Babesia canis***

La distribution des fréquences des titres en anticorps pour les échantillons positifs a été analysée (tableau n°8). Les sérums ont été testés à des dilutions allant de 1/32 à 1/256.

**Tableau 8 : Résultats de la sérologie en IFAT**

<i>Dilution</i>	<i>32</i>	<i>64</i>	<i>128</i>	<i>256</i>
<i>Nombre de +</i>	34	28	22	15

Ainsi, la séroprévalence de *Babesia canis* a varié en fonction des titres en Anticorps. En effet, les résultats ont montré que sur les 34 sérums positifs à un titre  $\geq 1/32$ , 28 sérums sont restés positifs à une dilution de 1/64 (soit 14,81%), 22 à une dilution de 1/128 (soit 11,64%) et 15 sérums sont restés positifs à une dilution de 1/256 (soit 7,93%) (Figure n°11).



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

- **Distribution des titres en anticorps anti-*Babesia canis* en fonction des populations canines**

Les titres en anticorps enregistrés pour chaque population canine sont repris dans le tableau n°9.

**Tableau 9 : distribution des titres en anticorps anti-*Babesia canis* en fonction des populations canines.**

<i>Chiens</i> <i>Titre</i>	Fourrière canine	Compagnie	Chasse	Ferme	Total positifs (%)
<b>32</b>	31	2	0	1	34
<b>64</b>	25	2	0	1	28
<b>128</b>	22	0	0	0	22
<b>256</b>	15	0	0	0	15

**III.3. Étude de la comparaison des deux méthodes de diagnostic (IFAT et FS) pour la détection de *Babesia canis***

Les performances de la méthode du frottis sanguin ont été évaluées en prenant comme test de référence l'IFAT à une dilution  $\geq 1/32$  (tableau 10).

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

Pour les résultats du frottis nous n'avons pris en considération que les frottis positifs à la forme large de *Babesia* correspondant à *Babesia canis*.

Les résultats obtenus ont montré une spécificité relative de 99%, une sensibilité relative de 3% et une exactitude de 81% pour la méthode du FS par rapport au test IFAT à une dilution  $\geq 1/32$ .

Le calcul de la concordance entre les deux méthodes (FS avec IFAT  $\geq 1/32$ ) par l'utilisation du test Kappa de Cohen a montré un coefficient k de 0,80 ce qui correspond à une concordance forte entre les deux méthodes.

**Tableau n°10:** Comparaison de la technique du FS avec le test IFAT (titre seuil  $\geq 1/32$ ) pris comme test de référence pour le diagnostic de *B. canis*

Tests pour le diagnostic de <i>B. canis</i>	IFAT			
		+	-	Total
FROTTIS SANGUIN	+	1	2	3
	-	33	153	186
	<b>Total</b>	34	155	189
	<b>Valeurs intrinsèques</b>	<b>Se=3%</b>	<b>Sp=99%</b>	<b>ER=81%</b>
Kappa = 0,80				

#### III.4. Étude des facteurs de risque susceptibles à l'augmentation de la séroprévalence vis-à-vis de *B. canis*

Cette étude, basée sur les résultats de l'étude de la séroprévalence, nous a permis d'identifier les facteurs de risque qui semblent augmenter le risque de la séropositivité vis-à-vis de *B. canis*. Le tableau (11) résume tous les résultats obtenus de l'analyse des facteurs de risque présumés liés à l'infection par *B. canis*.

L'analyse détaillée des résultats montre ce qui suit :

- La séroprévalence vis-à-vis de *B. canis* n'a pas varié de façon statistiquement significative en fonction du sexe ni en fonction de la race ( $p > 0,05$ ).
- En revanche, une variation significative a été observée selon la catégorie d'âge des animaux ( $p < 0,05$ ). Les jeunes âgés de moins de 6 mois semblent moins infectés 10,44% (2,66 – 17,33) que les chiens adultes de plus de 6 mois 22,13% (14,49 – 29,50). Ainsi, on constate que la proportion des chiens infectés augmente avec l'âge (tableau n°11). Les animaux ont été classés comme jeunes (<6mois d'âge) et adulte (6mois et plus) selon la classification de Papazahariadou et collaborateurs (2007).
- La séroprévalence a également varié selon la présence ou l'absence des tiques sur l'animal, d'une très significative ( $p < 0,001$ ). Les chiens présentant des tiques sont plus infectés 32,20 (19,85 – 44,14) que les chiens dépourvus de tiques 11,53 (5,5 – 16,48).

- Si on considère la saison, on remarque qu'il y a une influence très significative sur la séroprévalence de *B. canis* ( $p < 0.001$ ). Le taux de l'infection est nettement plus élevé au printemps 40,74 (26,66 – 53,33), suivi de l'été 19,14 (7,55 – 30,44). En automne, la séroprévalence devient plus faible 5 (0 – 10,62) pour devenir nulle en hiver (tableau n11).

**Tableau n°11:** Analyse de certains facteurs de risque potentiels susceptibles d'influencer la séroprévalence de *B. canis*

Variabes	n	Nombre de positifs	Séroprévalence(%) (IC 95%)	Valeur de <i>p</i>	Signification
<b>Sexe</b>					
Femelle	77	10	12,98 (4,59 – 19,40)	>0,1	NS
Mâle	112	24	21,42 (13,30– 28,69)		
<b>Age (mois)</b>					
<6 mois	67	7	10,44 (2,66 – 17,33)	<0,05	S
> 6 mois	122	27	22,13 (14,49 – 29,50)		
<b>Race</b>					
Commune	128	24	18,75 (11,20 – 24,79)	>0.9	NS
Pure	61	10	16,39 (6,61 – 25,38)		
<b>Tiques</b>					
Présence	59	19	32,20 (19,85 – 44,14)	<0,0001	TS
Absence	130	15	11,53 (5,5 – 16,48)		
<b>Saison</b>					
Automne	60	3	5 (0 – 10,62)	<0,0001	TS
Été	47	9	19,14 (7,55 – 30,44)		
Hiver	28	0	0		
Printemps	54	22	40,74 (26,66 – 53,33)		

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

### III.5. Étude épidémiologique des populations de tiques identifiées chez le chien

#### 1. Identification morphologique des différentes espèces de tiques récoltées

L'étude morphologique des 242 tiques récoltées a permis d'identifier la présence d'une seule espèce *Rhipicephalus sanguineus* et des larves et des nymphes du genre *Rhipicephalus*

*Rhipicephalus sanguineus* est également connue sous le nom de la tique du chien. Cette espèce est devenue la tique la plus répandue dans les régions tropicales et subtropicales. C'est une espèce à comportement domestique et monotrope.



Figure 12 : vue ventrale et dorsale d'une femelle *Rhipicephalus sanguineus* (Photos Personnelles, 2016)



Figure 13 : vue ventrale et dorsale d'un mâle *Rhipicephalus sanguineus* (Photos Personnelles, 2016)

**Nymphe du genre *Rhipicephalus* :**

La morphologie du corps des nymphes récoltées est similaire à celle des femelles de *Rhipicephalus*, cependant, leur taille est plus petite 1 à 1.5 mm avec absence du gonopore.



**Figure 14 : vue ventrale et dorsale d'une nymphe du genre *Rhipicephalus* (Photos Personnelles, 2016)**

**Larve du genre *Rhipicephalus***

Sa morphologie est analogue à celle de la nymphe mais avec une taille très petite 0,5 à 1 mm et elle est hexapode.



**Figure 15 : vue ventrale d'une larve du genre *Rhipicephalus* (Photo Personnelle, 2016)**

La différenciation entre les espèces des tiques de genre *Rhipicephalus* est difficile à cause de la ressemblance des critères d'identification, En effet, au cours de notre études nous avons récolté une espèce de tique qui rassemble des caractères de reconnaissance de *Rhipicephalus sanguineus* et *Rhipicephalus senegalensis* sachant que cette dernière n'a jamais été identifié en Algérie (figure 16) .

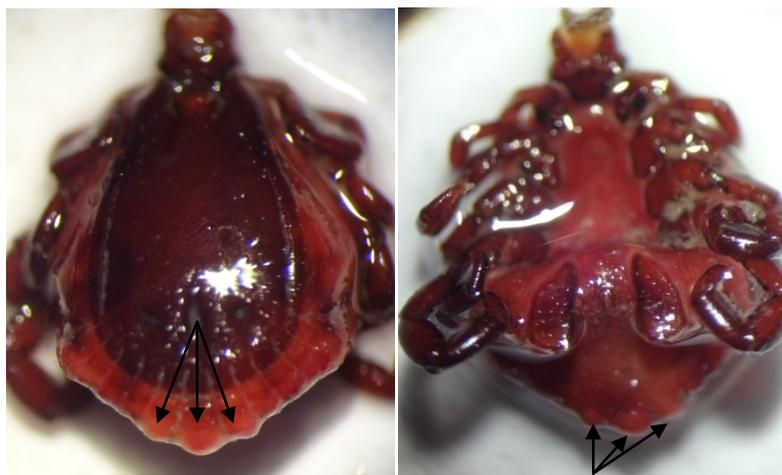


Figure 16 : vue ventrale et dorsale d'une suspicion d'un male *Rhipicephalus senegalensis*  
(Photos Personnelle, 2016)

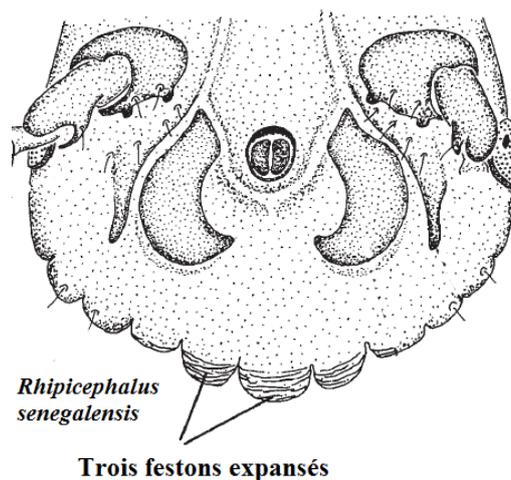


Figure 17 : vue ventrale de la partie postérieure d'un male *Rhipicephalus senegalensis* (Walker et al., 2014)

## 2. Prévalence des tiques Ixodidés chez le chien et identification des facteurs de risque associés

### - Prévalence globale

Sur les 189 chiens examinés, 59 ont été infestés avec la tique *Rhipicephalus sanguineus*, soit une prévalence globale de 32,20 (19,85 – 44,14).

L'effectif total des tiques récoltées a été de 242 tiques, réparties en 56 mâles et 146 femelles, 36 nymphes et 4 larves.

- **Identification des facteurs de risque potentiels associés à une infestation par les tiques**

Nous avons étudié certains facteurs de risque susceptibles d'influencer positivement ou négativement l'infestation des chiens par les tiques. Les facteurs considérés sont : le sexe, l'âge, la race et la saison et la population canine.

Les résultats consignés dans le tableau (12) révèlent que seuls les facteurs tels la race et la saison qui se sont montrés significativement associés à la présence de tiques ( $p < 0,05$ ).

Nous constatons que les races communes sont significativement plus exposées aux tiques 35,93% (26,56 – 43,43) que les races pures 21,31% (10,56 – 31,43) (tableau n°12).

Pour la saison, la prévalence de l'infestation des chiens par les tiques est nettement plus élevée au printemps 72,22% (59,77– 84,22) et en été 40,42% (25,70 – 54,29) comparée aux autres saisons

**Tableau 12 : Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une infestation des chiens**

Variables	n	Nombre de positifs	Taux d'infestation par les tiques (%) (IC 95%)	Valeur <i>p</i>	Signification
<b>Sexe</b>					
Femelles	77	23	29,87 (18,65 – 39,34)	0,9	NS
Mâles	112	36	32,14 (23,18 – 40,81)		
<b>Age (mois)</b>					
< 6 mois	67	20	29,85 (17,91 – 40,08)	0,9	NS
> 6 mois	122	39	31,96 (22,62 – 39,37)		
<b>Race</b>					
Commune	128	46	35,93 (26,56 – 43,43)		
Pure	61	13	21,31 (10,56 – 31,43)	<0,05	S
<b>Saison</b>					
Printemps	54	39	72,22 (59,77– 84,22)		
Été	47	19	40,42 (25,70 – 54,29)	<0,0001	TS
Automne	60	1	1,66 (0,00 – 3)		
Hiver	28	0	0		
<b>Population canine</b>					
Fourrière	159	48	30,18 (22,73 – 37,26)		
Compagnie	10	5	50 (18,37 – 81,62)	0,2	NS
Chasse	5	0	0		
Ferme	15	6	40 (14,70 – 65, 29)		

TS : très significatif ( $p < 0.001$ ) ; S : significatif ( $p < 0,05$ ) ; NS : non significatif ( $p > 0,05$ )

## IV. Discussion

La babesiose est une hemoprotozoose vectorielle causée par différentes espèces du genre *Babesia* transmises par les tiques de la famille des *Ixodidae* (chauvin et al., 2009). Elle était considérée comme une maladie tropicale et subtropicale mais récemment, elle a reconnu une fréquence croissante des régions tempérées du monde (Irwin, 2005).

En Algérie, cette maladie est très peu étudiée et les données de sa prévalence ainsi que la nature des facteurs de risque déterminant sa transmission sont particulièrement rares. Si ce n'est quelques travaux ponctuels, utilisant la technique du frottis sanguin, dans le cadre de mémoires de fin d'études. Par conséquent, nous n'avons aucune idée sur les espèces qui affectent le chien dans nos régions.

Notre travail a consisté à fournir des informations sur quelques aspects de l'infection par *Babesia spp* chez le chien à travers une approche parasitologique et séroépidémiologique. Cette étude s'est appuyée aussi sur l'identification morphologique suivie d'une enquête épidémiologique sur les tiques récoltées.

Les données sur l'effectif total des chiens de la région d'Alger sont méconnues, ce qui nous a conduit à réaliser un échantillonnage aléatoire simple.

Tous les prélèvements ont été accompagnés par un questionnaire sur certains paramètres relatifs au chien prélevé.

Pour analyser nos échantillons, nous avons utilisé d'une part, la technique du frottis sanguin mince permettant de mettre en évidence différentes formes de *Babesia spp*. intraerythrocytaire, identifiées sur la base de leurs caractéristiques morphologiques. Il s'agit d'une méthode simple, de réalisation rapide et peu coûteuse, cependant, elle manque de sensibilité et elle ne peut être adaptée qu'à la détection des infections aiguës (Bourdoiseau, 2006 ; Dantas-Torres et Figueredo, 2006).

D'autre part, le test IFAT a été choisi pour le diagnostic sérologique de l'infection par *Babesia canis*, ce test est utile pour identifier même les porteurs asymptomatiques et les infections chroniques et il est très fréquemment utilisé pour le diagnostic de la babesiose canine (Solano-Gallego et Baneth, 2011).

### **Description morphologique des espèces de *Babesia* identifiées sur frottis sanguins colorés au Giemsa**

L'analyse des frottis sanguins de chiens colorés au Giemsa nous a permis de mettre en évidence deux groupes d'hémoprotozoaire appartenant au genre *Babesia* identifiés sur la base de leur aspect morphologique : Large *Babesia* et Small *Babesia*.

L'identification de ces deux groupes de *Babesia* a été facile, en raison de leur morphologie classique et de leurs mensurations. Cependant, l'identification des espèces de *Babesia* ne peut se faire que sur la base des données biologiques et moléculaires (Chauvin et al., 2009).

En Afrique, trois espèces de *Babesia* ont été identifiées *Babesia vogeli* et *Babesia rossi* pour Large *Babesia* transmises respectivement par *Haemaphysalis leachii* et *Rhipicephalus sanguineus* et *Babesia gibsoni* pour Small *Babesia* transmise par *Rhipicephalus sp.* (Birkenheuer, 2014).

### **Étude de la prévalence aux infections par *Babesia spp.* en utilisant la méthode du frottis sanguin**

Sur un total de 189 échantillons de sang analysés par la méthode du frottis sanguin coloré au Giemsa, 25 chiens se sont révélés positifs à deux groupes d'hémoprotazoaire appartenant aux genres *Babesia* correspondant à une prévalence globale de 13.22%. Le taux obtenu s'est montré légèrement supérieur à celui rapporté par Singh et collaborateurs (2014) en Inde (7.47 %) et celui obtenu par Hamel et collaborateurs (2016) en Albanie avec une prévalence de 9%.

Parmi les chiens positifs à *Babesia spp.*, 3/25 se sont révélés positifs à Large *Babesia* correspondant à une prévalence de 12%, taux plus élevé que celui obtenu en Inde par Singh et collaborateurs (2014) (0.93%) et par Laha et collaborateurs (2014) (4.5%) et au Pakistan par Gadahi et collaborateurs (2008) (5%). En revanche, notre taux de prévalence s'est montré assez proche de celui rapporté par Shakespeare (1995) en Afrique du sud (11.69%).

D'autres travaux ont obtenu des taux de prévalences assez importantes pour large *Babesia* comparés à notre prévalence, tels les travaux de Mattalah et collaborateurs (2012) réalisés dans la région d'El Taref (30%), d'Oduye et Dipeolu (1976) réalisés au Nigeria (53%) et ceux de Mathwman et collaborateurs (1993) réalisés à Zimbabwe (26%).

Aucune différence significative n'a été observée en fonction des différentes populations canines même si les chiens de fourrière se sont montrés plus infectés que les autres populations de chiens. Des travaux menés par Stef (2010) et Nsouari (2012) au Sénégal (Dakar) ont montré par frottis sanguins que les chiens errants et les chiens de ferme sont nettement plus infectés par large *Babesia* que les chiens de compagnie.

22/25 chiens se sont révélés positifs à small *Babesia* parmi les chiens positifs à *Babesia spp.* correspondant à une prévalence 88%, taux plus élevé que celui obtenu en Serbie (1.7%) (Davitkov et al., 2015), aux Etas Unis (30.3%) (Macintire et al., 2002) et en Inde par Singh et collaborateurs (2016)(7.9%) et Laha et collaborateurs (2014) (35.13%) . En revanche, notre taux de prévalence s'est montré assez proche de celui rapporté par Senthil Kumar et collaborateurs en sud d'Inde (2009) (84.9%).

### Étude de la séroprévalence aux infections par *Babesia canis* en utilisant le test IFAT :

De nombreuses études sur les séroprévalences vis-à-vis de *Babesia spp* ont été réalisées chez les chiens dans différents pays du monde. Plusieurs études sur la séroprévalence de *Babesia canis* ont décrit la présence des anticorps spécifiques de cette espèce dans presque partout en Europe avec une prévalence particulièrement élevée en France. Cependant, ce travail constitue la première étude d'envergure sur la séroprévalence vis-à-vis de *Babesia canis* chez le chien en Algérie. L'étude a porté essentiellement sur la Wilaya d'Alger.

Sur un total de 189 sérums testés par IFAT à une dilution de 1/32, 34 se sont révélés positifs aux anticorps spécifiques de *Babesia canis* ce qui correspondait à une séroprévalence de 17.98%. Ce résultat se situe entre les résultats obtenus en Roumanie par Imre et collaborateurs en 2013 (19.8%) par la même technique et même dilution et ceux obtenus en France par Cabannes et collaborateurs en 2002 (14.1%) par la même technique mais à un seuil de positivité égal à 1/100

Le taux de séroprévalence obtenu dans notre étude est nettement plus faible à celui obtenu par Pennisi et collaborateurs en 2012 (70%) en Italie mais nettement supérieure aux séroprévalences rapportées en Italie (8.8%) (Oliveris et al., 2016), en Hongrie (5.7%) (Hornok et al., 2006) et en Slovaquie (8.4%) (Kubelova et al., 2013).

Cette diversité des résultats entre les différentes régions du monde peut-être attribuée aux conditions climatiques qui influencent la distribution géographique des tiques vectrices dans la transmission de *Babesia canis*.

Dans cette étude, plusieurs populations canines pouvant présenter des degrés divers d'exposition ont été analysées. Les séroprévalences observées n'ont pas différencié significativement entre les différentes populations. Même si les séroprévalences les plus basses ont été observées chez les chiens de chasse (0%) et de ferme (6,66%) alors que les plus élevées ont été constatées chez les chiens errants (19,49%) et les chiens de compagnie (20%). Ce constat est similaire à celui montré par la méthode parasitologique (frottis sanguin). Cependant, des travaux rapportés en Roumanie par Imre et collaborateurs (2012) ont montré des différences significatives dans la séroprévalence entre les chiens ruraux et les chiens urbains. En effet, les chiens ruraux présentaient les taux les plus élevés.

L'absence de différence significative dans la séroprévalence entre les différentes populations canines peut être mise en relation avec l'échantillonnage effectué. En effet, notre échantillonnage est caractérisé par une hétérogénéité et une disparité dans l'effectif, avec un taux d'échantillonnage nettement plus élevé (84 %) chez les chiens de fourrière canine comparé aux autres populations (chiens de chasse, chiens de ferme et chiens de compagnie avec 8%, 5.3%, 2.6% respectivement)

Un autre point qui mériterait d'être soulevé est celui de la distribution des fréquences des titres en anticorps. En effet, les titres en anticorps obtenus après plusieurs dilutions, ont montré que le test sérologique a détecté des titres élevés en anticorps pour les chiens de la fourrière canine (22 sérums sont restés positifs à une dilution de 1/128 comparé aux chiens de compagnie et chiens de ferme qui ont cessé d'être positifs à la dilution de 1/64 .

Ce résultat suggère que les chiens de fourrière canine sont en contact permanent avec la source d'infection. Par conséquent, ils peuvent transmettre l'infection aux tiques augmentant ainsi le risque d'infection.

### Étude de la comparaison des deux méthodes de diagnostic :

Dans ce travail, les performances de la méthode du frottis sanguin ont été évaluées par le calcul de la sensibilité, la spécificité, l'exactitude relative et le coefficient kappa de Cohen par rapport au test sérologique IFAT pris comme test de référence, et ce pour le diagnostic de *Babesia canis*

La méthode du frottis sanguin a montré une bonne spécificité 99%, une très faible sensibilité 3% et une exactitude de 81% comparée au test IFAT à un titre seuil ( $\geq 1/32$ ). Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré un coefficient k de 0.80 ce qui correspond à une concordance forte entre les deux méthodes.

Ce manque de sensibilité constaté pour le FS expliquerait donc l'énorme différence obtenue entre les résultats parasitologiques et sérologiques.

En Italie, Cassini et collaborateurs (2009) ont mené une étude comparable à la nôtre en évaluant la méthode parasitologique FS en utilisant le test IFAT comme référence dans le diagnostic de *Babesia canis*. Ils ont aussi montré que l'IFAT générait plus de positifs (34%) comparé au FS (2,4%). Cependant, le coefficient kappa de Cohen a donné une valeur de 0,019 témoignant d'une très faible concordance entre les deux tests.

La faible sensibilité de FS par rapport aux tests sérologiques peut s'expliquer, d'une part, par la faible parasitémie qui caractérise le portage chronique de ces affections (Krause, 2003 ; Abutarbush et al., 2012 ; Galuppi et al., 2012) et d'autre part, la méthode sérologique peut détecter les animaux qui ont été en contact avec le parasite dont les IgG qui sont décelables jusqu'à 420 jours post infection (Fukomoto et al., 2004), Cependant, les réactions croisées sont communément signalé en IFAT (Papadopoulos et al., 1996; Galuppi et al., 2012). De ce fait, la détection de la babésiose chronique et subclinique chez les chiens porteurs nécessite des outils moléculaires (Irwin, 2010)

## Étude des facteurs de risque associés

Plusieurs auteurs à travers le monde ont étudié les facteurs de risques associés à la babesiose canine. Cette étude basée sur les résultats de l'étude de la séroprévalence, nous a permis d'identifier les facteurs de risque qui semblent augmenter le risque de la séropositivité vis-à-vis de *B. canis*.

### **Sexe :**

Aucune différence significative n'a pu être démontrée entre la séropositivité des mâles et celle des femelles pour *Babesia canis*, ceci semble compatible avec les résultats obtenus en France (Cabannes et al., 2002), au Brésil (Trapp et al., 2006), en Italie (Cassini et al., 2009), en Zambie (Nalubamba et al., 2011) et en Roumanie (Imre et al., 2013). Cependant, d'autres études montrent que l'état physiologique des femelles peut avoir une influence sur le degré de sensibilité des animaux. En effet selon une étude menée en France, les femelles en état de gestation et de lactation ont une sensibilité plus élevée, car la maternité engendre un état d'immunodépression, favorable au développement de la maladie (Stef, 2010). Une autre étude menée à Minas Gerais au Brésil, Bastos et collaborateurs (2004) ont estimé que les mâles représentent une grande proportion dans la sensibilité de cette pathologie du fait de la fonction dont ils occupent (chien de garde par excellence, chien de chasse etc).

### **Âge :**

Nous avons classé les animaux en deux catégories d'âge, une variation significative a été observée selon la catégorie d'âge des animaux. Les jeunes âgés de moins de 6 mois semblent moins infectés que les chiens adultes de plus de 6 mois. Ainsi, nous avons constaté que la proportion des chiens infectés augmente avec l'âge, ceci rejoint les résultats de Cabannes et collaborateurs (2002), contrairement aux résultats obtenus par Hornok et collaborateurs (2006), Nsouari (2012), Lobetti (1998) et Pages et collaborateurs (1990) qui montrent que les jeunes sont plus sensibles que les adultes.

Certaines études n'ont montré aucune différence significative associée à l'âge (Imre et al., 2013)

Le faible taux d'infestation enregistré chez les jeunes chiens peut être expliqué par leur faible chance d'être infecté ou de développer une réponse immunitaire détectable (Cassini et al. 2009).

### **Race :**

La séroprévalence vis-à-vis de *B. canis* n'a pas varié de façon statistiquement significative en fonction de la race et ceci rejoint les résultats d'autres études (Bastos et al., 2004 ; Trapp et al., 2006; Imre et al., 2013). En revanche, d'autres études ont

montré une prédisposition de la race berger allemand à l'infestation par *B. canis* (Hornok et al., 2006 ; Nsouari , 2012 ; M'sik, 2008).

#### **Présence des tiques :**

La séroprévalence a également varié selon la présence ou l'absence des tiques sur l'animal. Les chiens présentant des tiques sont plus infectés que les chiens dépourvus de tique.

Le climat méditerranéen est favorable pour quelques espèces de tiques telles que *Rhipicephalus sanguineus*. Les données de la littérature ont montré le rôle de cette espèce dans la transmission de *Babesia canis* (M'ghirbi et Bouattour, 2008 ; Uilenberg et al., 1989 ; Cassini et al., 2009), elle est plus abondante au cours de la saison sèche durant laquelle la prévalence de Babesiose canine est très élevée (Dantas-Torres et Figueredo, 2006).

#### **Saison :**

La région d'Alger bénéficie d'un climat de type méditerranéen, il est caractérisé par des hivers doux et humides et des étés longs chauds et secs, le climat a influencé de façon très significative la séroprévalence de *B. canis*. En effet, le taux d'infection est nettement plus élevé au printemps suivi de l'été. Notre résultat appuie ceux obtenus par Nalubamba et collaborateurs (2011) en Zambie qui montrent une prévalence élevée de *Babesia canis* durant les mois de mai, juin et juillet ; ceux de Nsouari (2012) au Sénégal qui remarquent une chute décroissante du taux d'infestation par *Babesia canis* aux mois de Décembre, Janvier et Février, très probablement dû aux températures froides qui prédominent en cette période de l'année (saison sèche froide), qui est défavorable pour *Rhipicephalus sanguineus*

Selon la littérature la babesiose peut se produire durant l'automne et le printemps grâce aux conditions favorables pour la pullulation des tiques responsables de la transmission de *Babesia canis* (Bourdoiseau, 2006).

#### **Étude épidémiologique des populations de tiques rencontrées chez le chien dans la région d'étude :**

Sur les 189 chiens examinés, 59 ont été infestés avec la tique *Rhipicephalus sanguineus*, soit une prévalence globale de 32,20 %.

Nous avons étudié certains facteurs de risque susceptibles d'influencer positivement ou négativement l'infestation des chiens par les tiques. Les résultats ont montré que seuls les facteurs tels la race et la saison qui se sont montrés significativement associés à la présence de tiques

L'infestation par les tiques est liée au mode de vie des chiens, ce sont généralement les chiens errants (le cas des chiens de la fourrière canine) qui sont les plus exposés

au risque de contact avec les tiques. En revanche, nos résultats montrent que les chiens de compagnie sont les plus infestés par les tiques, Cela peut être expliqué par l'échantillonnage. En effet, notre échantillonnage est caractérisé par une hétérogénéité et une disparité dans l'effectif, le taux de prélèvement dans le groupe des chiens de compagnie et de ferme est très faible par rapport aux chiens de la fourrière canine.

La prévalence des chiens infestés par les tiques est très élevée durant le printemps. Ceci va dans le même sens que les résultats de l'étude de la séroprévalence qui indiquaient que le facteur saison est fortement corrélé avec les taux de séropositivité vis-à-vis *B. canis*

## V. Conclusion et perspectives

Ce travail nous a permis de mettre en évidence par examen parasitologique *Babesia canis* et d'estimer par analyse sérologique la séroprévalence des anticorps anti-*Babesia canis* chez différentes populations canines de la région d'Alger. L'examen parasitologique a montré une prévalence de 12% alors que l'analyse sérologique a révélé un taux de séroprévalence de 17,98% vis-à-vis de ce parasite, ce qui témoigne d'une circulation fréquente de cette espèce de Babesie chez le chien dans la région d'Alger.

Cette étude nous a également renseigné sur les différents facteurs de risque qui peuvent favoriser la transmission de *Babesia canis* aux chiens tels que l'âge, la race, la présence des tiques ou encore la saison.

Notre étude s'est basée aussi sur l'évaluation du test parasitologique FS comparé au test sérologique IFAT. Les résultats ont confirmé la faible sensibilité du FS qui a montré par ailleurs une forte concordance avec le test IFAT.

Nous avons d'autre part, identifié et recensé les tiques récoltées à partir de certains chiens prélevés. L'espèce *Rhipicephalus sanguineus* (adultes, nymphe et larve) a été prédominante. Par ailleurs, l'identification d'une nouvelle espèce *Rhipicephalus senegalensis* jamais répertoriée en Afrique du Nord est à confirmer par l'outil moléculaire.

Les résultats de nos travaux permettent d'entrevoir aussi une série d'études en perspectives visant à améliorer davantage les connaissances et les moyens de contrôle concernant cette maladie transmise par les tiques en Algérie.

Dans une première étape, il serait intéressant d'étudier la séroprévalence des autres espèces de *Babesia* responsable de la babesiose canine dans la région d'Alger ensuite poursuivre ce type d'études épidémiologiques et immunologiques dans d'autres régions du pays caractérisées par des situations écologiques très diverses. Ceci permettra d'acquérir des connaissances approfondies sur ces maladies.

L'utilisation des outils moléculaires semble indispensable afin de déterminer les espèces de *Babesia* responsable de la babesiose canine ainsi que les espèces de tiques qui interviennent dans leur transmission en Algérie.

Dans une étape ultérieure, orienter les recherches visant le développement de vaccins efficaces, notamment les vaccins recombinants qui subissent actuellement une phase de test en plein champ et l'insérer dans une approche globale de lutte.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références bibliographiques :

ABUTARBUSH S.M., ALQAWASMEH D.M., MUKBEL R.M., AL-MAJALI A.M., 2012. Equine babesiosis: seroprevalence, risk factors and comparison of different diagnostic methods in Jordan. *Transbound. Emerg. Dis.* 59,72–78.

AGUILAR-DELFIN I., HOMER M.J., WETTSTEIN P.J., PERSING D.H., 2001. Innate Resistance to *Babesia Infection Is Influenced by Genetic Background and Gender*. *Infect. Immun.* Vol. 69 No. 12, p. 7955–7958 .

AUBRY P., GAÜZERE B.A., 2015. Tests de diagnostic rapide par immunochromatographie en zones tropicales. *Médecine Tropicale*. p.7.

AYOUB A. L., HACKNER S.G., PRITTIE J., 2010. Clinical management of canine babesiosis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 20(1) p. 77–89.

BABES V., 1892. The etiology of an enzootic disease of sheep, called Carceag, in Romania. *C. R. Hebd. Acad. Sci.* 115, 359–361.

BASTOS Cde. V., MOREIRA S.M., PASSOS L.M., 2004. Retrospective study (1998-2001) on canine babesiosis in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Ann N Y Acad Sci.* 1026:158-60.

BEUGNET F., MOREAU Y., 2015. Babesiosis. *Rev. Sci. Tech.*, 34(2):627-639.

BIRKENHEUER A. J., 2014. Babesiosis Canine and Feline Infectious Diseases, 2014, Chapter 75, P. 727-738.

BOOZER AL., MACINTIRE DK., 2003. Canine babesiosis. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.*, 33(4):885-904.

BOURDOISEAU G. 2006. Canine babesiosis in France. *Vet.Parasitol*, 138,118–125.

BRANDÃO L.P., HAGIWARA M.K. MYIASHIRO S.I., 2003. Humoral immunity and reinfection resistance in dogs experimentally inoculated with *Babesia canis* and either treated or untreated withimidocarb dipropionate. *Vet. Parasitol*, 114, 253–265.

CABANNES A., PELSE H., LUCCHESI F. et APPRIOU M., 2002: Séroprévalence de la Babesiose canine dans le sud –Ouest de la France. *Revue Méd.vét.* 1 (153) : 27-28.

CAMICAS J.L., MOREL P.C., 1977 Position systématique et classification des tiques (Acarida: Ixodida). *Acarologia*,18:410-420.

CARDOSO L., COSTA A., TUNA J., VIEIRA L., EYAL O., YISASCHAR-MEKUZAS Y., BANETH G., 2008. Babesia canis canis and Babesia canis vogeli infections in dogs from northern Portugal. *Veterinary Parasitology*, 156, 199–204

CASSINI R., ZANUTTO S., FRANGIPANE di REGALBONO A., GABRIELLI S., CALDERINI P., MORETTI A., TAMPIERI M.P., PIETROBELLI M., 2009. Canine piroplasmosis in Italy: epidemiological aspects in vertebrate and invertebrate hosts. *Veterinary Parasitology* 165 30–35.

CHAO I., 2012. La prévalence de la Babesiose canine en France, Résultats d'une enquête auprès des vétérinaires. Thèse de Doctorat Vétérinaire, ENVA. p.75.

CHAUVIN A., MOREAU E., BONNET S., PLANTARD O., MALANDRIN L., 2009. Babesia and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. *Vet. Res.* 40:37.

CONRAD P., THOMFORD J., YAMANE I., WHITING J., BOSMA L, UNO T., HOLSHUH H.J., SHELLY S., 1991. Hemolytic anemia caused by Babesia gibsoni infection in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 199(5):601-5.

DANTAS-TORRES F., FIGUEREDO L.A., 2006. Canine babesiosis: A Brazilian perspective. *Vet. Parasitol.* 141, 197–203.

DANTAS-TORRES F., 2008. Canine vector-borne diseases in Brazil. *Parasit Vectors*, 1: 25.

DAVITKOV D., VUCICEVIC M., STEVANOVIC J., KRDTIC V., TOMANOVIC S., GLAVINIC U., STANIMIROVIC Z., 2015. Clinical babesiosis and molecular identification of Babesia canis and Babesia gibsoni infections in dogs from Serbia. *Acta Vet Hung.* 63 (2): 199-208.

DE LA FUENTE J., BLOUIN E.F., MANZANO-ROMAN R., NARANJO V., ALMAZÁN C., DE LA LASTRA J.M.P., ZIVKOVIC Z., JONGEJAN F., KOCAN K.M., 2007. Functional genomic studies of tick cells in response to infection with the cattle pathogen, Anaplasma marginale. *Genomics*, 90, 712–722.

EUZÉBY J., 2008. Grand dictionnaire illustré de parasitologie médicale et vétérinaire. LAVOISIER..p. 832 .

FUKUMOTO S., SEKINE Y., XUAN X., IGARASHI I., SUGIMOTO C., NAGASAWA H., FUJISAKI K., MIKAMI T., SUZUKI H., 2004. Serodiagnosis of canine Babesia gibsoni infection by enzyme-linked immunosorbent assay with recombinant P50 expressed in Escherichia coli. *J. Parasitol.* 90, 387–391.

GADAHY J.A., ARIJO A.G., ABUBAKAR M., JAVAID S.B., ARSHED M.J., 2008. Prevalence of blood parasites in stray and pet dogs in Hyderabad area : Comparative

sensitivity of different diagnostic techniques for the detection of microfilaria. *Veterinary World*. vol.1 (8): 229-232.

GALUPPI R., BONOLI C., AURELI S., CASSINI R., MARCER F., FOLEY J.E., TAMPIERI M.P., 2012. Comparison of diagnostic methods to detect piroplasms in asymptomatic cattle. *Vet. Parasitol.* 183, 364–368.

GOODMAN J. L., DENNIS D. T., SONENSHINE D. E., 2005. *Tick-Borne Diseases of Humans*. Washington, DC: ASM Press . p. 401.

GUIGUEN C., DEGEILH B., 2001 Les tiques d'intérêt médical : rôle vecteur et diagnose de laboratoire. *Revue Française des Laboratoires*, 338, 49-57.

HAMEL D., SHUKULLARI E., RAPTI D., SILAGHI C., PFISTER K., REHBEIN S., 2016. Parasites and vector-borne pathogens in client-owned dogs in Albania. Blood pathogens and seroprevalences of parasitic and other infectious agents. *Parasitol Res.*115(2):489-99.

HAUSCHILD S., SHAYAN P., SCHEIN E., 1995. Characterization and comparison of merozoite antigens of different *Babesia canis* isolates by serological and immunological investigations. *Parasitol Res.* 81(8):638-42.

HORNOK S, EDELHOFER R, FARKAS R., Seroprevalence of canine babesiosis in Hungary suggesting breed predisposition. *Parasitol Res.* 99(6):638-42.

HUNFELD K.P., HILDEBRANDT A.,GRAY J.S., 2008.Babesiosis: Recent insights into an ancient disease. *International Journal for Parasitology* 38 ,1219–1237.

IGARASHI I., SUZUKI R., WAKI S., TAGAWA Y.I., SENG S., TUM S., OMATA Y., SAITO A., I NAGASAWA H., IWAKURA Y., SUZUKI N., MIKAMI T., TOYODA Y., 1999. Roles of CD41 T Cells and Gamma Interferon in Protective Immunity against *Babesia microti* Infection in Mice. *Infect. Immun.* Vol. 67, No. 8, p. 4143–4148.

IMRE M, FARKAS R, ILIE M, IMRE K, HOTEA I, MORARIU S, MORAR D, DARABUS G., 2013. Seroprevalence of *Babesia canis* infection in clinically healthy dogs from western Romania. *J Parasitol.*;99(1):161-3.

IRWIN P.J., 2005. Babesiosis and cytauxzoonosis. In: SHAW S.E., DAY M.J., *Arthropod-borne infectious disease of the dog and cat*. Manson Publishing Ltd, London, p. 63-77.

IRWIN P.J., 2009. Canine babesiosis: from molecular taxonomy to control. *Parasit Vectors*. 2009 2 Suppl 1:S4.

IRWIN P.J., 2010. Canine babesiosis. *Vet. Clin. North Am Small Anim Pract.* 40(6), 1141–1156.

KJEMTRUP A.M., WAINWRIGHT K., MILLER M., PENZHORN B.L., CARRENO R.A., *Babesia conradae*, sp. Nov., a small canine *Babesia* identified in California. *Vet Parasitol.* 138(1-2):103-11.

KRAUSE P.J., 2003. Babesiosis diagnosis and treatment. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 3, 45–51.

KUBELOVA M., SEDLAK K., PANEV A., SIROKY P., 2013. Conflicting results of serological, PCR and microscopic methods clarify the various risk levels of canine babesiosis in Slovakia: A complex approach to *Babesia canis* diagnostics. *Veterinary Parasitology* 191, 353– 357.

LAHA R., BHATTACHARJEE K., SARMAH P.C., DAS M., GOSWAMI A., SARMA D., SEN A., 2014. *Babesia* infection in naturally exposed pet dogs from a north-eastern state (Assam) of India : detection by microscopy and polymerase chain reaction. *J Parasit Dis.* 38(4) 389-393.

LEGER E., VOURECH G., VIAL L., CHEVILLON C., McCOY K.D., 2013. Changing distributions of ticks: causes and consequences. *Exp Appl Acarol.* 59(1-2):219-44.

LEWIS B.D., PENZHORN B.L., LOPEZ REBOLLAR L.M., 1995. Immune responses to South African *Babesiacanis* and the development of a preliminary vaccine. *S.Afr.vet.Ass.* 66(2):61-65.

LOBETTI R.G., 1998: Canine babesiosis. *Compendium continuing education for the practicing veterinarian.* 20: 418-431.

M'GHIRBI Y., BOUATTOUR A., 2009. Séroprévalences de *Babesia bovis* et de *Babesia bigemina* chez les bovins en Tunisie. *Revue Méd. Vét.* 160 (4), 209-214.

M'SIK D., 2008. Contribution a l'étude de la Babesiose canine au Senegal : cas des chiens presentes en consultation dans une clinique de Dakar (clinique vétérinaire BOMBO DE FANN HOCK) . Thèse de Doctorat E.I.S.M.V. p.95.

MACINTIRE D.K., BOUDEREAUX M.K., WEST G.D., BOURNE C., WRIGHT J.C., CONRAD P.A., 2002. *Babesia gibsoni* infection amongs dogs in the southeastern United States. *J Am Vet Med Assoc.* 220 (3) : 325-9.

MASAKE R., MUSOKE A., 1998. Maladies hémoparasitaires et réponses immunitaires spécifiques. *International Livestock Research Institute.* Oie. 27-41.

MATALLAH F., BENAKHLA A., MEDJOUEL L., MATALLAH S., 2012. Tick infestation of dogs and Prevalence of canine babesiosis in the north-east of Algeria; area of El-Tarf. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 6(3): 126-134  
MATIJATKO V., TORTI M., SCHETTERS T.P., 2012. Canine babesiosis in Europe: how many diseases?. *Trends in Parasitology* , Vol. 28, No. 3. p. 99-105.

- MATTHEWMAN L.A., KELLY P.J., BOBADE P.A., TAGWIRA M., MASON P.R., MAJOK k. A., BROUQUI P., RAOULT D., 1993. Infections with *Babesia canis* and *Ehrlichia canis* in dogs in Zimbabwe. *Vet Rec.* 133(14):344-6.
- MEHLHORN H., SCHEIN E., VOIGT W.P., 1980. Light and electron microscopic study on developmental stages of *Babesia canis* within the gut of the tick *Dermacentor reticulatus*. *J Parasitol.* 66(2):220-8.
- MERINO O., ALBERDI P., DE LA LASTRA J.M.P., DE LA FUENTE J., 2013. Tick vaccines and the control of tick-borne pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, , 3 (30), 1-10.
- MOSQUEDA J., OLVERA-RAMÍREZ A., AGUILAR-TIPACAMÚ G., CANTÓ G.J., 2012. Current Advances in Detection and Treatment of Babesiosis. *Current Medicinal Chemistry.* 19, 1504-1518.
- NALUBAMBA K.S., HANKANGA C., MUDENDA N. B., MASUKU M., 2011. The epidemiology of canine *Babesia* infections in Zambia. *Preventive Veterinary Medicine Vol. N°99.* p. 240–244.
- NSOUARI S.H.S , 2012. Contribution à l'étude de la prevalence de la babesiose canine au Senegal : cas des chiens consultés dans la zone cotiere de Mbour (petite cote). These de doctorat vétérinaire. E.I.S.M.V. p.104
- ODUYE O.O., DIPEOLU O.O., 1976. Blood parasites of dogs in Ibadan. *Journal of Small Animal Practice* 17, 331–337
- OiE. Bovine Babesiosis, In: *Manual terrestrial*, Chapter 2.4.2.
- OLIVIERI E, ZANZANI S.A., LATROFA M.S., LIA R.P., DANTAS-TORRES F., OTRANTO D., MANFREDI M.T., 2016. The southernmost foci of *Dermacentor reticulatus* in Italy and associated *Babesia canis* infection in dogs. *Parasit Vectors.* 18;9:213.
- PAGES J.P., VIDOR E., TROUILLET J.L., BISSUEL G., LECOINTRE O. et MOREAU Y., 1990 : Description clinique, hématologique et sérologique de 133 cas de Babesiose canine. *Pratique médicale et chirurgical de l'animal de compagnie*, 25 (1): 89- 97.
- PAPADOUPOULOS B., PERIE N.M., UILENBERG G., 1996. Piroplasms of domestic animals in the Macedonia region of Greece. 1. Serological cross reactions *Vet. Parasitol.* 63, 41–56.
- PAPAZAHARIDOU M., FOUNTA A., PAPADOUPOULOS E., CHLIOUNAKIS S., ANTONIADOU-SOTIRIADOU K., THEODORIDES Y., 2007. Gastrointestinal parasites of shepherd and hunting dogs in the serres prefecture, Northen Greece. *Vet Parasitol.* 1;148(2): 170-3.

PENNISI M.G., CAPRI A., SOLANO-GALLEGO L., LOMBARDO G., TORINA A., MASUCCI M., 2012. Prevalence of antibodies against *Rickettsia conorii*, *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma phagocytophilum* antigens in dogs from the Stretto di Messina area (Italy). *Ticks Tick Borne Dis.*3(5-6):315-8.

PEREZ-EID C., 2007. Les tiques : Identification, biologie, importance médicale et vétérinaire. 1ère ed. Lavoisier: Paris, 314 p.

PEREZ-EID C., GILOT B., 1998. Les tiques : cycles, habitats, hôtes, rôle pathogène, lutte. *Méd Mal Infect*, 28, 335-43.

PETER O., BROSSARD M., 1998. Lutes contre les tiques. *Méd. Mal. Infect.* 28 : 383-6.

RENE M., 2015. Étude du rôle vecteur de *Rhipicephalus sanguineus* s.l. dans la transmission des babésioses canines en France : prévalence parasitaire, diversité génétique des vecteurs et épidémiologie. Thèse de Doctorat. Médecine Veterinaire et Santé Animal. Université Claude Bernard - Lyon I.

SENTHIL KUMAR K., VAIRAMUTHU S., KATHIRESANL D., 2009. Prevalence of Haemoprotozoans in canines in Chennai City, Tamil Nadu. *J Vet Anim Sci.* 5: 104-108.

SCHNITTGER L., RODRIGUEZ, A. E., FLORIN-CHRISTENSEN M., MORRISON A.D., 2012. *Babesia* : A world emerging infection, *Genetics and Evolution*, Vol n° 12, 2012, p. 1788-1809.

SHAKESPEARE AS., 1995. The incidence of canine babesiosis amongst sick dogs presented to the Onderstepoort Veterinary Academic Hospital. *J S Afr Vet Assoc.* 66(4):247-50.

SINGH A., SINGH H., SINGH N.K., SINGH N.D., RATH S.S., 2014. Canine babesiosis in northwestern India: molecular detection and assessment of risk factors. *Biomed Res Int.* 2014:741785.

SINGH M.N., RAINA O.K., SANKAR M., RIALACH A., TIGGA M.N., KUMAR G.R., BANERJEE P.S., 2016. Molecular detection and genetic diversity of *Babesia gibsoni* in dogs in India. *Infect Genet Evol.* 41: 100-6.

SMITH B P., 2008. Large animal internal medicine, 4th ed, Elsevier eBook. Mosby, 2112p

SMITH T., KILBOURNE F.L., Investigations into the Nature, Causation, and Prevention of Texas or Southern Cattle Fever, Book, 1893; (<http://texashistory.unt.edu/ark:/67531/metaph143538/> : accessed January 23, 2015), p. 51-114.

SOCOLOVSCHI C., DOUDIER B., PAGES F., PAROLA P., 2008. Tiques et maladies transmises à l'homme en Afrique. *Médecine Tropicale* , 68, 119-133.

SOLANO-GALLEGO L., BANETH G., 2011. Babesiosis in dogs and cats-expanding parasitological and clinical spectra. *Vet. Parasitol.* 181(1), 48-60.

SONENSHINE D. E., ROE R. M., 2014. *Biologie of Ticks*. Vol 1, 2nd ed, p. 519

STEF B., 2010: La piroplasmose canine : ce que doit savoir le pharmacien d'officine. Thèse: Faculté de Pharmacie: Nancy 1; 54.

TABOADA J. LOBETTI R. 2006. Babesiosis, chapitre 77 In: Greene, C.E. *Infectious Diseases OF THE DOG AND CAT*. Georgia : ELSEVIER 3<sup>rd</sup> edition . p. 1-29 ISBN-10: 1-4160-3600-8.

TRAPP S.M., DAGNONE A.S., VIDOTTO O., FREIRE R.L., AMUDE A.M., De MORAIS, H.S.A., 2006. Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population. *Veterinary Parasitology* 140 (3–4), 223–230.

UILENBERG G., 2006. Babesia: A historical overview. *Veterinary Parasitology*, 138, 3-10.

UILENBERG G, FRANSSSEN F.F., PERIE N.M., SPANJER A.A., 1989. Three groups of *Babesia canis* distinguished and a proposal for nomenclature. *Vet Q.*11(1):33-40.

VANNIER E., KRAUSE P.J., 2009. Update on babesiosis. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2009:984568

VERCAMMEN F., DE DEKEN R., MAES L., 1997. Duration of protective immunity in experimental canine babesiosis after homologous and heterologous challenge. *Vet. Parasitol.* 68, 51-55.

WALKER A.R., BOUATTOUR A., CAMICAS J.-L., ESTRADA-PEÑA A., HORAK I.G., LATIF A.A., PEGRAM R.G. PRESTON P.M., 2014. *Ticks of Domestic Animals in Africa: a Guide to Identification of Species*. Ed. Bioscience Reports, Scotland, p. 221.

WILLADSEN P., BIRD P., COBON G. S., HUNGERFORD J., 1995. Commercialization of a recombinant vaccine against *Boophilus microplus*. *Parasitology* 110, S43–S50.

ZAHLER M., RINDER H., SCHEIN E., GOTHE R., 2000. Detection of a new pathogenic *Babesia microti-like* species in dogs. *Vet Parasitol.* 89(3):241-8.

ZAHLER M., SCHEIN E., RINDER H., GOTHE R., 1998. Characteristic genotypes discriminate between *Babesia canis* isolates of differing vector specificity and pathogenicity to dogs, Parasitol. Res. 84:544–548.

## Annexe 1: Fiche de renseignement sur l'animal prélevé

<b>Fiche de renseignement</b>
-------------------------------

Date : ..... / ..... / .....

N° de fiche : .....

Race : .....

Age : .....

Sexe :            Mâle                            Femelle            Type :    Chien de police                                Chien errant                                      Chien de consultation                                Chien de ferme                    Vacciné :            Oui                            Non                    

Si oui contre quelle maladie ?

**Alimentation****Origine : né en Algérie ou importé**Antécédents :    Anémie                                Ictère                    **Recherche des tiques**                  Présence                            Absence                    Chien malade :    Oui                                Non                    

Symptômes observés :

                  Hyperthermie                            Difficulté locomotrice                                      Anorexie                                Anémie                                      Urine colorée                            Ictère                                      Autres                

Lesquels : .....

.....

Chien traité :            oui                            non                    **Traitement appliqué**

T. Spécifique : .....

T. Symptomatique .....

## Annexe 2 : Examens microscopique des frottis sanguins

### 1. Réactifs

Méthanol absolue,

Giemsa,

Eau distillée,

Huile à immersion.

### 2. Procédure (OiE, 2008) :

- 1) Réaliser un frottis sanguin mince selon la technique décrite dans la figure et laisser sécher à l'air ;
- 2) Fixer au méthanol absolu pendant 5 min ;
- 3) Préparer une solution de **Giemsa** diluée au dixième dans de l'eau distillée (1 ml de **Giemsa** dans 10 ml de l'eau distillé)
- 4) Recouvrir entièrement la lame avec la solution de **Giemsa**, laisser agir de 20 à 30 min
- 5) Laver à l'aide d'un jet d'eau, de façon à chasser le colorant et laisser sécher lentement par égouttage en position verticale.

L'examen s'effectue au microscope à fond clair voire bleu, à l'objectif à immersion x100. Le frottis doit être lu méthodiquement, par bandes parallèles, sur toute sa surface.

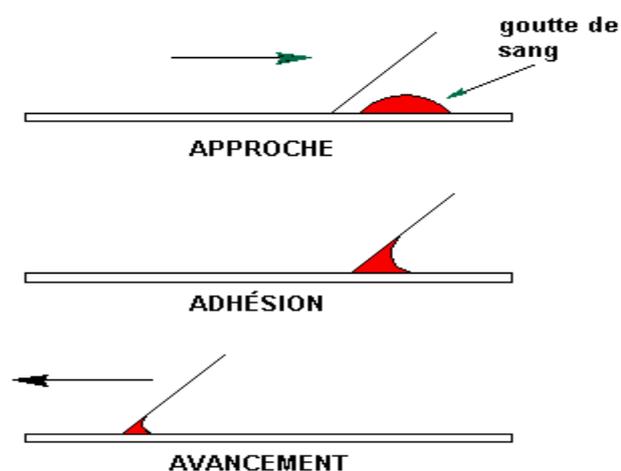


Figure : Démonstration de la technique de Réalisation d'un frottis sanguin mince (DRIEU, 2009)

### **Annexe 3 : Protocole détaillé de test sérologique utilisé pour *Babesia canis***

Test IFAT lames commerciales **Megascreen® FLUOBABESIA canis**  
(MegaCorDiagnostik, Autriche)

#### **Réactifs du kit de diagnostic :**

10 lames de 10 puits ou « spots » contenant des érythrocytes canins fixés infectés expérimentalement par *Babesia canis* ;

Le conjugué (FITC anti-Dog IgG conjugate);

Témoins positif et négatif ;

Liquide de montage ;

#### **Protocole :**

- 1) Constitution du tampon PBS (BioMerieux) ;
- 2) Diluer chaque sérum à tester à 1/32 dans du PBS ;
- 3) Répartir les sérums dilués dans les puits, identifiés au préalable sur chaque lame, à raison de 20 µl par puits, sur chaque lame, deux puits sont réservés aux sérums de contrôle positif et négatif
- 4) Incuber à 37°C en chambre humide pendant 30 min ;
- 5) Réaliser deux lavages de 10 minutes dans du PBS sous agitation, puis sécher les lames soigneusement
- 6) Ajouter dans chaque puits 1 goutte de conjugué (FITC anti-Dog IgG conjugate).
- 7) Incuber à 37°C en chambre humide pendant 30 min ;
- 8) Réaliser deux lavages de 10 minutes dans du PBS sous agitation, puis sécher les lames soigneusement
- 9) Montage des lamelles sur les lames avec du Fluoprep (BioMerieux) ;
- 10) Les lames sont ensuite lues au microscope à fluorescence au grossissement x400 en immersion dans l'huile.

La lecture des lames doit de préférence avoir lieu le jour même de leur réalisation. Si pour une raison quelconque cela n'est pas possible, les lames peuvent être conservées entre 2 et 8°C au réfrigérateur à l'obscurité pendant 7 jours.

## Interprétation des résultats

Une réaction positive apparaît sous forme de corps d'inclusion colorés, brillants, réguliers. La taille, l'aspect et la densité des inclusions (merozoïtes) doivent être comparés aux réactions de contrôle positif et négatif. Toute fluorescence différente de celle observée dans le contrôle positif doit être considérée comme non spécifique.



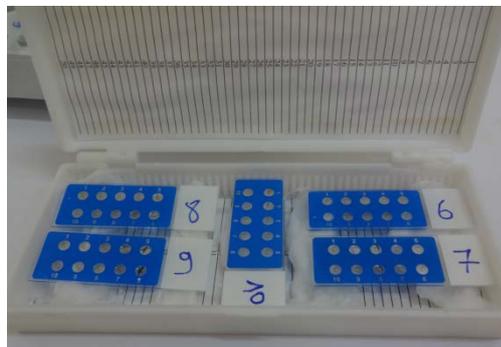
**Kit IFAT MegaScreen *Babesia canis***



**Microscope à fluorescence utilisé pour la lecture des lames IFAT (Axioskop)**



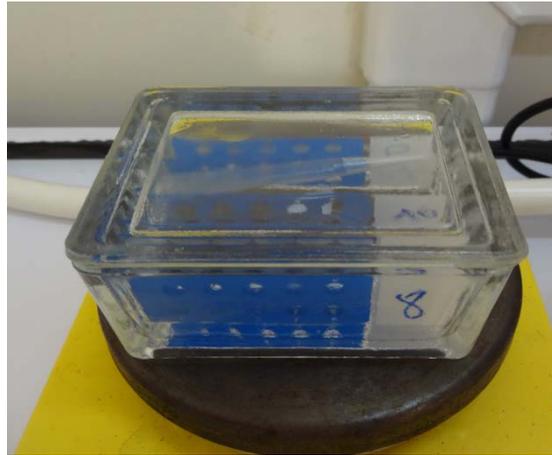
**Flacons de PBS (BioMerieux)**



**Dépôt des lames dans la chambre humide**



**Incubateur**



**Lavages des lames dans du PBS sous agitation**