

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 للطب



## MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Magistère

En sciences vétérinaires.

Option : Immunologie animale.

Thème :

Etude de la prévalence d'*Anaplasma ovis* et d'*Anaplasma marginale*  
dans les élevages caprins des wilayas d'El-Tarf et Guelma.

Réalisé par : REGHAISSIA Nassiba

Les membres du jury :

	Nom & Prénom	Grade	Institution
Président	AIT OUDIA. KH.	Professeur	ENSV
Promoteur	AZZAG N.	MCA.	ENSV
Copromoteur	GHALMI F.	Professeur	ENSV
Examineur 1	BOUKHORS K.	Professeur	ENSV
Examineur 2	BOUZID R.	MCA.	ENSV

Année Universitaire : 2016/2017

## ***Dédicaces***

***A mes parents qui n'ont jamais cessé de me soutenir et m'encourager durant tout mon cursus.***

*Que Dieu vous bénisse et vous protège.*

***A toi papa, tu m'as toujours soutenu, encouragé et rassuré dans les moments difficiles.***

*Tu as toujours été mon modèle de volonté, de courage et de réussite.*

*Aucun mot ne saurait t'exprimer ma vive gratitude et ma reconnaissance infinie.*

***A toi maman, tu m'as tellement donné aussi que je n'ai pas assez de mots pour***

*T'exprimer, tout d'abord ma reconnaissance et ma plus profonde tendresse.*

***A mon frère et mes sœurs, Pour l'amour qui nous unit. Ce travail est également  
Le fruit de vos nombreux soutiens. Merci pour votre présence, votre aide et tous vos  
encouragements.***

*Que notre fraternité nous unisse toujours dans les joies mais aussi dans les peines*

*Que Dieu vous accorde sa grâce.*

***A tous mes ami(e)s, Pour les bons et les difficiles moments passés ensemble et pour  
votre soutien.***

*A tous ceux que je ne saurais citer, mais que je porte dans mon cœur.*

***Merci***



## **Remerciements**

*Mes vifs remerciements et ma reconnaissance sont adressés à madame AZZAG Naouelle,*

*Docteur à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, pour la confiance qu'elle m'a accordé en acceptant d'encadrer ce travail et pour ses conseils avisés et sa disponibilité tout au long de ce parcours.*

*Mes sincères et chaleureux remerciements vont à Professeur GHALMI Farida, ma co-directrice de thèse, votre compréhension et votre gentillesse m'ont beaucoup marqué,*

*J'ai pris un grand plaisir à travailler avec vous. J'espère que ce modeste travail témoigne de ma profonde reconnaissance et de ma haute considération.*

*A Madame le Professeur AIT-LOUDHIA K. de l'école Nationale Supérieure Vétérinaire pour avoir bien voulu accepter la Présidence du jury.*

*A Madame le Pr BOUKHORS K. pour avoir bien voulu accepter d'être membre examinateur du jury.*

*A Monsieur le docteur BOUZID R. pour avoir bien voulu accepter d'être membre examinateur du jury.*

*Mes remerciements les plus chaleureux vont aussi à Mademoiselle BOULARIAS Ghania doctorante à l'ENSV pour ses grandes qualités humaines, qui a bien voulu de m'avoir consacré beaucoup de son temps pour m'aider à réaliser mon travail.*

*Mes sincères remerciements vont à Melle LAHASSASNA Affef, Mr CHELIA Houcine, Mr GHIT Ilyes et Mr MSABHIA Amor, docteurs vétérinaires praticiens.*

*pour l'aide et le temps qu'ils m'ont consacré pour la réalisation des prélèvements et la lecture des frottis de mon travail.*

*Mes remerciements vont également à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à La réalisation de ce travail.*

## Résumé :

L'anaplasmose est une rickettsiose due à une bactérie Gram négative intracellulaire obligatoire de la famille des *Anaplasmataceae* ; c'est une maladie vectorielle transmise par les tiques. Elle est considérée comme une infection zoonotique émergente à impact économique et épidémiologique important dans le monde. En Algérie, certaines études ont été décrites concernant l'anaplasmose bovine et canine mais aucune étude n'a été réalisée pour la recherche d'une éventuelle circulation d'*Anaplasma* spp. chez le caprin. De ce fait, il nous a paru intéressant de réaliser une enquête épidémiologique sur les pathogènes érythrocytaires d'*Anaplasma*. Le présent travail s'est donné comme objectif principal d'apporter une contribution originale à la connaissance des infections par *Anaplasma* spp. chez le caprin dans la région Nord-Est d'Algérie (wilaya de Guelma et wilaya d'El-taref), ainsi que les facteurs de risque associés. Ainsi, 198 prélèvements sanguins de caprin ont été effectués entre mars et septembre 2016 puis analysés par ELISA (182 prélèvements). D'autre part, des frottis colorés avec le colorant de Giemsa ont été réalisés (128 prélèvements). Des informations relatives aux caractéristiques individuelles des animaux ainsi qu'aux pratiques d'élevage ont été recueillies.

Les résultats des frottis sanguins colorés au Giemsa ont révélé la présence d'espèces intra érythrocytaire du genre *Anaplasma* avec une fréquence de 42.18%. La séroprévalence globale par cELISA pour *Anaplasma* spp. a été de 78.02%. L'analyse des facteurs de risque, susceptibles d'influencer la prévalence de l'agent pathogène étudiés, a montré l'influence de l'état de gestation ( $P=0.002$ ), de la saison ( $P=0.015$ ), les conditions climatiques ( $p=0.000$ ) et le type d'élevage ( $p=0.000$ ). Parmi les 102 tiques récoltées sur un total de 55 caprins, deux espèces ont été identifiées *Rhipicephalis sanguineus* et *Rhipicephalis bursa*, avec une nette prédominance de *Rhipicephalis sanguineus* (85.39%).

**Mots clés :** *Anaplasma* spp, Giemsa, cELISA, prévalence, facteurs de risque, Caprins, Nord-Est d'Algerie.

## **Abstract :**

Anaplasmosis is a rickettsial disease due to a mandatory intracellular Gram negative bacterium of the family *Anaplasmataceae*; It is a vector disease transmitted by ticks. It is considered an emerging zoonotic infection with significant economic and epidemiological impact in the world. In Algeria, some studies have been described concerning bovine and canine anaplasmosis but no studies have been carried out to investigate possible circulation of *Anaplasma* spp. In goats. For this reason, it seemed interesting to carry out an epidemiological investigation into the red cell pathogens of *Anaplasma*. The main objective of this work is to make an original contribution to the knowledge of infections with *Anaplasma* spp. In goats in the Northeast region of Algeria (Guilma wilaya and El-taref wilaya), as well as the associated risk factors. Thus, 198 goat blood samples were taken between March and September 2016 and analyzed by ELISA (182 blood samples). On the other hand, smears stained with the Giemsa dye were made (128 blood samples). Information on the individual characteristics of the animals and the rearing practices were collected.

The results of Giemsa stained blood smears revealed intra-erythrocyte species of the genus *Anaplasma* with a frequency of 42.18%. The overall seroprevalence by cELISA for *Anaplasma* spp. Was 78.02%. The analysis of the risk factors, which may influence the prevalence of the pathogen studied, showed the influence of pregnancy ( $P = 0.002$ ), season ( $P = 0.015$ ), climatic conditions ( $P = 0.000$ ) and type of rearing ( $p = 0.000$ ). Of the 102 ticks harvested from a total of 55 goats, two species were identified as *Rhipicephalis sanguineus* and *Rhipicephalis bursa*, with a clear predominance of *Rhipicephalis sanguineus* (85.39%).

**Key words:** *Anaplasma* spp, Giemsa, cELISA, prevalence, risk factors, goats, Northeast of Algeria.

## LISTE DES ABREVIATIONS

### LISTE DES ABREVIATIONS :

AGE	Agroécologique
ADAM9	Disintegrin et protéine 9 contenant le domaine de la métalloprotéinase.
AnKA	La protéine A contenant le domaine répétitif d'Ankyrine.
AP3B1	Complexe de protéines liées à l'adaptateur 3, sous-unité de la bêta 1.
ARNr 16S	16ème sous unité de l'acide ribonucléique ribosomiale
ATP5B	ATP synthase sous-unité bêta, mitochondriale.
Ats-1	Substrat translaté d'Anaplasma.
CD11b	Integrine M.
CD	Cluster de differentiation.
CD21	Complément du composant récepteur 2.
CDL	Groupe de molécules de différenciation.
cELISA	Test enzymatique immuno-enzymatique compétitif.
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité.
DC	Cellule à corps dense.
FC	Fixation du compliment.
FS	Frottis sanguins
FOXP1	Forkhead box P1.
IFAT	indirect fluorescent antibody technique.
IL1B	Interleukin 1, beta.
LCK	La protéine tyrosine kinase spécifique des lymphocytes.
LDL	Lipoprotéines de basse densité.
LT- $\gamma\delta$	Cellule T Gamma delta.
MSPs	protéines de surface majeure.
OIE	Office International des Epizooties.

## LISTE DES ABREVIATIONS

PSEN1	Presenilin protein.
PTEN	Phosphatase et homologue de tension.
RC	Cellule à corps réticulé.
ROCK	La protéine kinase Rho-associée.
Stk	La tyrosine kinase de la rate.
Syk	Système de sécrétion type 4.
TP53	Protéine tumorale p53.
VAV1	Facteur d'échange de nucleotides Vav guanine 1.

## LISTE DES TABLEAUX

### LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 01 :</b>	Systématique des tiques selon Hoogstraal et Aeschlimann (1982), modifié d'après Barker et Murrell (2004) et Guglielmone et al. (2010).	11
<b>Tableau 02 :</b>	Liste non exhaustive de quelques espèces de tiques tropicales et méditerranéennes parasites du bétail, d'importance vétérinaire (Barré et Uilenberg, 2010)	18
<b>Tableau 03 :</b>	Prévalences des différentes espèces d' <i>Anaplasma</i> ont été réalisées dans différentes régions du monde chez les caprins.	22
<b>Tableau 04 :</b>	Le nombre des fermes prélevées par commune et par zone AGE..	39
<b>Tableau 05 :</b>	Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une infection à <i>Anaplasma</i> spp par frottis sanguins.	47
<b>Tableau 06 :</b>	Répartition des séroprévalences vis-à-vis d' <i>Anaplasma</i> spp. en fonction des communes.	50
<b>Tableau 07 :</b>	Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une infection à <i>Anaplasma</i> spp par cELISA	52
<b>Tableau 08 :</b>	Comparaison de la technique des FS avec le test cELISA et Frottis pris comme un test de référence pour le diagnostic d' <i>Anaplasma</i> spp sanguin	55
<b>Tableau 09 :</b>	Effectif et proportion des espèces de tiques récoltées	56
<b>Tableau 10 :</b>	Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une infestation des caprins par les tiques.	58

### LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01 :</b>	Phylogramme de l'ordre des Rickettsiales sur la base de l'analyse des séquences des ARNr 16S (Brown, 2012).	05
<b>Figure 02 :</b>	Corps élémentaire d' <i>anaplasmataceae</i> dans une cellule endothéliale sous microscope électronique. (A et B : corps élémentaire (DC) à la surface de la cellule endothéliale, C : entrer de DC à la cellule, D : lyse cellulaire par le DC).	07
<b>Figure 03 :</b>	Cycle de développement d' <i>I. ricinus</i> .	15
<b>Figure 04 :</b>	Le transport membranaire chez les bactéries Gram-négatives.	24
<b>Figure 05 :</b>	Interaction cellule-hôte, cas d' <i>A. phagocytophilum</i> .	26
<b>Figure 06 :</b>	Inclusions intra érythrocytaire d' <i>A. ovis</i> sous microscope optique.	31
<b>Figure 07 :</b>	Situation géographique de la région d'étude	37
<b>Figure 08 :</b>	Situation géographique des communes de la wilaya de Guelma dans la région d'étude	40
<b>Figure 09:</b>	Situation géographique des communes de la wilaya d'El-Taref dans la région d'étude	41
<b>Figure 10:</b>	<i>Anaplasma spp</i> identifiée sur frottis sanguins colorés au Giemsa, oculaire x8 et objectif x100	45
<b>Figure 11 :</b>	Variation de la prévalence par frottis sanguin vis-à-vis d' <i>Anaplasma spp.</i> en fonction du statut de gestation, saison, avortement et conditions climatiques.	49
<b>Figure 12 :</b>	Distribution des caprins positifs par frottis sanguins vis-à-vis d' <i>anaplasma spp.</i> par commune.	51
<b>Figure 13:</b>	Variation de la séroprévalence par cELISA vis-à-vis d' <i>Anaplasma spp.</i> en fonction du type d'élevage.	54

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 14:</b>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> Male	55
<b>Figure 15:</b>	<i>Rhipicephalus Bursa femelle</i>	56
<b>Figure 16 :</b>	Proportion des espèces des tiques récoltées.	56
<b>Figure 17 :</b>	Variation de la prévalence de l'infestation des caprins par les tiques en fonction de saison, de type d'élevage, d'état d'hygiène de la ferme, et des conditions climatiques	60

**LISTE DES ANNEXES**

**Annexe I :** Fiche de renseignement sur l'animal prélevé

**Annexe II :** Questionnaire à l'intention des éleveurs

**Annexe III :** Examen microscopique des frottis sanguins

**Annexe IV :** Examen sérologique par cElisa

SOMMAIRE

## INTRODUCTION

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I Définition et importance.....	02
I.1. Définition.....	02
I.2. Importance .....	03
II Historique et synonymie.....	03
II.1. <i>Anaplasma spp</i> et l'anaplasmose caprine.....	03
II.2. Biologie.....	03
II.2.1. Position taxonomique.....	03
II.2.2. Morphologie.....	05
II.2.3 Structure antigénique.....	07
III Épidémiologie .....	08
III.1 Espèces affectées et hôtes réservoirs.....	08
III.2 Vecteurs et transmission.....	10
III.2.1 Les tiques.....	10
1. Systématique.....	11
2. Morphologie.....	12
3. Biologie et écologie.....	13
3.1 Le cycle de vie.....	14
3.2 Ecologie.....	15
3.3 Compétence et capacité vectorielle.....	16
III.2.3 Isolement d' <i>Aanaplasma spp</i> chez les tiques des caprins.....	19
III.3 Facteurs de risque et prévalences.....	20
VI. Physiopathologie de l'infection à <i>Anaplasma. Spp</i> .....	24
VI.1 Transport membranaire.....	24

## SOMMAIRE

VI.2 Interaction cellule-hôte.....	25
VI.2.1 Interactions avec les cellules endothéliales et autres cellules nucléés.....	25
VI.2.2 Parasitémie des érythrocytes.....	26
VI.3 Réponse immunitaire.....	27
VI.3.1 Réponse immunitaire contre <i>Anaplasma</i> spp.....	27
VI.3.2 Mécanismes d'échappement immunitaire .....	28
1. Évasion de la réponse immunitaire innée.....	28
2. Évasion de la réponse immunitaire adaptative.....	29
3. Immunosuppression.....	29
V. Diagnostic .....	30
V.1 Diagnostic clinique et épidémiologique.....	30
V.2 Diagnostic de laboratoire.....	30
V.2.1 frottis sanguins.....	30
V.2.2 Culture et isolement.....	31
V.2.3 tests sérologiques.....	32
V.2.4 Méthodes de biologie moléculaire.....	33
IV. Moyens de lutte .....	33
IV.1 Traitement .....	33
IV.2 Prophylaxie.....	34

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

I. Cadre et objectifs.....	35
II. Matériels et méthodes.....	35
II.1. Présentation de la zone d'étude et animaux.....	35
II.3. Plan d'échantillonnage et prélèvements.....	38
II.4. Établissement d'un questionnaire.....	38
II.5. Description du cheptel prélevé.....	39

II.6. Nature et préparation des prélèvements.....	42
II.6.1. Nature et préparation des prélèvements.....	42
II.6.2. Technique du frotti sanguin.....	42
II.6.3. Analyses sérologiques.....	43
II.7. Récolte et identification des tiques .....	43
II.8. Codage et saisie des données .....	44
II.9. Analyses statistiques .....	44
III. Résultats .....	45
III.1. Étude de la prévalence des infections par <i>Anaplasma</i> spp.....	45
III.1.1. Étude de prévalence par frottis sanguins.....	45
III.1.2. Étude des facteurs de risques liées à la technique FS.....	46
III.2. Étude de la seroprévalence vis-à-vis <i>Anaplasma</i> spp par cELISA.....	51
III.2.1 Séroprévalence globale.....	51
III.2.3. Étude des facteurs de risque liés à cELISA.....	51
III.3 Etude de la comparaison des deux methodes pour le diagnostic d' <i>Anaplasma</i> spp.....	54
III.4.1 Identification morphologique des différentes espèces de tiques récoltées .....	55
III.4.2 Prévalence globale .....	57
III.4.3. Prévalence par espèce de tique identifiée chez le caprins.....	57
II.4.4. Identification des facteurs de risque potentiels associés à une infestation par les tiques..	57
III.4.4. La relation entre l'infestation par les tiques et la prévalence à <i>Anaplasma</i> spp.....	60
IV. Discussion.....	61
Conclusion.....	71
Références	
Annexes	

# *Introduction*

### Introduction

L'Anaplasmose est une maladie causée par des bactéries intracellulaires obligatoires qui infectent des cellules de vertébrés et invertébrés (De la Fuente et *al.*, 2007). Les espèces bactériennes de cette famille ont un tropisme cellulaire différent (Globules rouges, globules blanc et plaquettes) et le pouvoir zoonotique de ces agents est associé à *A. ovis* et *A. phagocytophilum*. D'autre part, les caprins présentent une expression de signes cliniques dépendante de la dose d'espèce infectante. Dans certains cas, l'anaplasmose chez les caprins est présentée par un symptôme anémique non hémolytique et dans d'autres cas la maladie passe inaperçue. De plus, le caprin est susceptible d'être infecté par toutes les espèces d'*Anaplasma* d'où l'intérêt d'étudier cette maladie chez cette espèce animale.

En Algérie, des études ont été réalisées concernant l'anaplasmose bovine et canine. Cependant aucune étude n'a été décrite concernant la distribution et la prévalence d'*Anaplasma* spp. chez le caprin. De ce fait, il nous a paru intéressant de réaliser une enquête seroépidémiologique sur les pathogènes érythrocytaires d'*Anaplasma*. L'objectif principal a été d'apporter une contribution originale à la connaissance des espèces érythrocytaires circulantes d'*Anaplasma* (*A. ovis*, *A. marginale*, *A. centrale*) chez le caprin dans la région de l'Est algérien, et d'étudier la nature des facteurs de risque associés et leur impact sur la prévalence par ces hémopathogènes.

La partie bibliographique présente, après quelques rappels historiques, les connaissances actuelles sur la bactériologie de ce genre. Elle décrit ensuite les aspects épidémiologiques des infections par *Anaplasma* chez les caprins, la physiopathogénie, l'aspect immunologique puis la pathologie des anaplasmes, et le diagnostic. Enfin, ce travail expose les méthodes de lutte, à savoir le traitement et la prévention.

Dans la deuxième partie, nous aborderons une étude épidémiologique sur les infections à *Anaplasma* spp (cELISA et coloration par le Giema) menée durant une période s'étalant du mois d'avril au mois de septembre 2016 chez les caprins dans les communes des wilayas de Guelma et d'El-taref au Nord-Est de l'Algérie. Le protocole expérimental est détaillé et les résultats sont exposés puis discutés. Enfin, nous terminons ce manuscrit par une conclusion et des perspectives.

# *Partie bibliographique*

### I Définition et importance

#### I.1. Définition

L'anaplasmose est une rickettsiose due à une bactérie Gram négative intracellulaire obligatoire de la famille des *Anaplasmataceae*, ordre des *Rickettsiales* ; genre *Anaplasma*, (Dumler et al., 2001 ; Brown, 2012). C'est une maladie infectieuse, virulente, non contagieuse, transmise par les tiques (Makalaet al, 2003 ; Rajasokkappan et Selvaraju, 2016), elle est considérée comme une infection zoonotique émergente (Korenberget al., 1993; Doudier et al., 2010), à impact économique, social et épidémiologique important dans le monde (Morel, 2000 ; Suarez et Noh, 2011).

Un certain nombre d'espèces d'*Anaplasma* affecte les animaux et un nombre limité de ces organismes a également été identifié chez l'homme. Cependant, les agents de cette famille montrent différents hôtes préférentiels et tropisme cellulaire, les maladies engendrées par les différentes espèces d'*Anaplasma*, sont souvent nommées en fonction du type de cellule infectée par ces dernières (Dumler et al., 2001 ; Rar et al., 2011 ; Brown, 2012). Chez les caprins, *Anaplasma ovis*, connue pour causer la maladie, et *Anaplasma marginale* connue pour causer des infections latentes (Rafyi et Maghami, 1961) ; ces bactéries sont exclusivement parasites des érythrocytes, transmises principalement par les tiques *Rhipicephalus* spp et *Dermacentor* spp, mais également mécaniquement par des mouches piqueuses (Kocan et al., 2004 ; Rodriguez et al., 2009). L'infection chez les caprins est généralement asymptomatique. Sporadiquement, observer une anémie hémolytique, hémoglobinurie et une fièvre (Barry et Van Niekerk 1990 ; Stoltsz 1994 ; Hornik et al., 2000 ; Hornok et al. 2007). Récemment, des études ont montré que d'autres espèces telles que : *A. phagocytophilum*, *A. bovis*, et *A. platys*, sont capables d'infecter les caprins (Liu et al., 2014 ; Zobba et al., 2014 ; Ben said et al., 2017).

#### I.2. Importance

L'anaplasmose connaît une répartition mondiale, mais elle est particulièrement importante dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées (Bowles et al., 2000 ; L'Hostis et Seegers, 2002 ; Kocan et al., 2003).

L'impact de la maladie sur la santé vétérinaire et publique peut être important, car à ce jour deux espèces ont été identifiées comme des agents pathogènes humains : le premier est *A. phagocytophilum* qui a été d'abord reconnu pour provoquer l'anaplasmose granulocytaire humaine aux Etats-Unis en 1994, et isolé en culture de patients en 1996. Le second est un variant d'*A. ovis* qui a été détecté chez un seul patient humain de Chypre en 2007 et n'a jamais pu être détecté une autre fois chez l'homme (Chochlakis et al., 2010 ; Woldehiwet 2010 ; Zobba et al.

## Partie bibliographique

2014 ; Li *et al.*, 2015). L'impact économique d'*A. marginale* est très important chez les bovins en raison de la diminution des productions (lait et viande) et aux taux élevés des avortements, mortalités et morbidités engendrés (Camus et Uilenberg, 2010 ; Aubry et Geale, 2011 ; Suarez et Noh, 2011). En ce qui concerne l'impact économique des anaplasmes chez les caprins, il est relativement faible, il est lié à une réduction du gain de poids quotidien (Kimberling, 1988 ; Radostits, 2000).

## II. Historique et synonymie

### II.1. *Anaplasma* spp et l'anaplasmose caprine :

Les bactéries du genre *Anaplasma* sont des microorganismes hémotropes, intracellulaires obligatoires, transmis principalement par des tiques dures. Deux principales espèces sont connues pour infecter les caprins avant les années 2000 et sont *A. ovis* et *A. marginale*, ces dernières infectent les érythrocytes. (Rafyi et Maghami, 1961 ; Shompole *et al.*, 1989). D'autres espèces d'*Anaplasma* ont été récemment décrites chez le caprin, en effet Zobba et ses collaborateurs (2014), en Italie, ont isolé *A. platys* bactérie infectant les plaquettes sanguines. En Chine, Liu et ses collaborateurs (2014) ont défini *A. bovis* et *A. phagocytophilum*, bactéries infectant les monocytes et les neutrophiles respectivement.

### II.2. Biologie

#### II.2.1. Position taxonomique

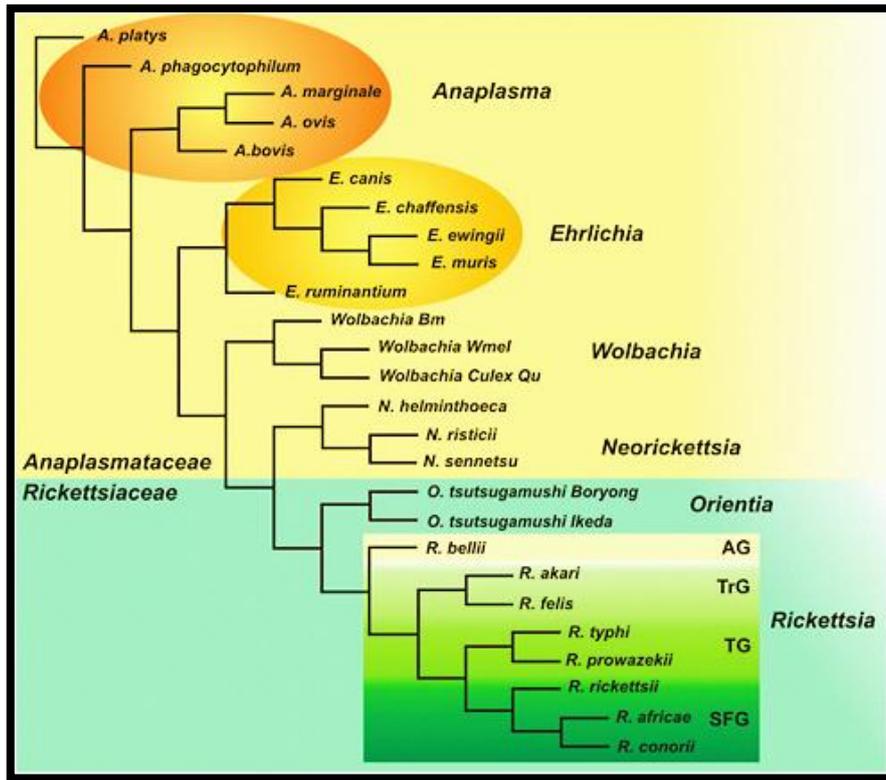
Suite à l'application des outils de phylogénie moléculaire, la taxonomie des anaplasmes a été revue et la nouvelle classification indique que le genre *Anaplasma* appartient à la famille des *Anaplasmataceae* et à l'ordre des *Rickettsiales*. En effet, Dumler et ses collaborateurs (2001) ont analysé les séquences des ARNr 16S, des gènes des opérons *gro* *ESL* et les gènes codant pour les protéines de surface afin d'établir la nouvelle classification. Ainsi, l'ordre des *Rickettsiales* comporte deux familles ; la famille des *Rickettsiaceae*, bactéries occupant un compartiment intracytoplasmique au sein de la cellule hôte et la famille des *Anaplasmataceae*, bactéries occupant un compartiment intravacuolaire qui comporte les genres *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Neorickettsia* et *Wolbachia*. De plus, Dumler et ses collaborateurs (2001) ont inclus dans le genre *Anaplasma* : *Anaplasma bovis* (précédemment *Ehrlichia bovis*), *Anaplasma platys* (précédemment *Ehrlichia platys*) et *Anaplasma phagocytophilum* qui regroupe les espèces anciennement nommées *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi* et l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire humaine. Ces trois agents présentent tout de même des différences

## Partie bibliographique

et sont définis comme des variants ou biovars au sein de cette espèce : variant bovin, équin et humain (Kocan et *al.*, 2010 ; Aubry et Geale, 2011 ; Rar et Golovljova, 2011).

Maintenant le genre *Anaplasma* regroupe six espèces qui parasitent les cellules hématopoïétiques et présentent entre elles un degré de similarité d'au moins 96,1% sur l'ARNr 16S (Kocan et *al.*, 2010), il s'agit d'*A. Phagocytophilum*, *A. ovis*, *A. marginale*, *A. centrale*, *A. bovis* et *A. platys*. *Anaplasma phagocytophilum* est l'espèce la plus fréquente et la plus importante, elle cause l'anaplasmose granulocytaire humaine et animale, elle touche principalement les chiens, les ruminants, les chevaux, les dromadaires, les amas et les cervidés (Wernery et Kaaden, 2002, Hapunik et al., 2011). Cette espèce est transmise par la tique *Ixodes ricinus* (Stuen, 2007; Woldehiwet, 2010). *Anaplasma ovis*, agent de l'anaplasmose érythrocytaire des petits ruminants est transmise par des tiques du genre *Dermacentor*, *Rhipicephalus* et *Hyalomma* (Friedhoff, 1997; Yin et Luo, 2007). *Anaplasma centrale* est l'agent de l'anaplasmose érythrocytaire des bovins et des ruminants sauvages, transmise par la tique du genre *Rhipicephalus simus*. *Anaplasma marginale*, agent d'anaplasmose érythrocytaire des bovins, des dromadaires, des cervidés, des buffles domestiques (Callow et *al.*, 1984 ; Hairgrove et *al.*, 2015) mais aussi, elle a été détectée chez un petit ruminant lequel pourrait être un réservoir de cette espèce, transmise principalement par les tiques *Rhipicephalus* spp et *Dermacentor* spp (Kocan et *al.*, 2004 ; Rodriguez et *al.*, 2009). *Anaplasma bovis*, agent de l'anaplasmose monocytaire des ruminants et des petits mammifères, elle est transmise par les tiques *Amblyoma* spp, *Hyalomma* spp et *Rhipicephalus* spp. Et enfin, *Anaplasma platys*, agent de la thrombocytopénie infectieuse cyclique canine, transmise par *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Inokuma et *al.*, 2001 ; Ramos et *al.*, 2014).

## Partie bibliographique



**Figure 01:** Phylogramme de l'ordre des Rickettsiales sur la base de l'analyse des séquences des ARNr 16S (Brown, 2012).

### II.2.2. Morphologie

Les anaplasmes sont des  $\alpha$ -protéobactéries de petite taille, souvent de forme coccoïdes à ellipsoïdes et immobiles. La coloration de Gram est négative. Elles sont formées d'une membrane externe et d'une membrane interne délimitant une matière filamenteuse dense. De plus, elles sont dépourvues de gènes de biosynthèse de lipopolysaccharides et de peptidoglycanes (Lin et Rikihisa, 2003 ; Rebaudet et Brouqui, 2008 ; Brown, 2012). Par ailleurs, elles disposent de plusieurs protéines de surface formant des complexes qui pourraient renforcer la membrane (Brayton et *al.*, 2005).

Dans les cellules hôtes, comme toutes les anaplasmes, elles résident et se multiplient dans des vacuoles intracytoplasmiques. Elles forment ainsi des inclusions nommées morula « mûre » en latin, visibles en microscopie optique par les colorations May-Grünwald Giemsa ou Diff Quick®, Wright ou Giemsa (Rebaudet et Brouqui, 2008 ; Rikihisa, 2011).

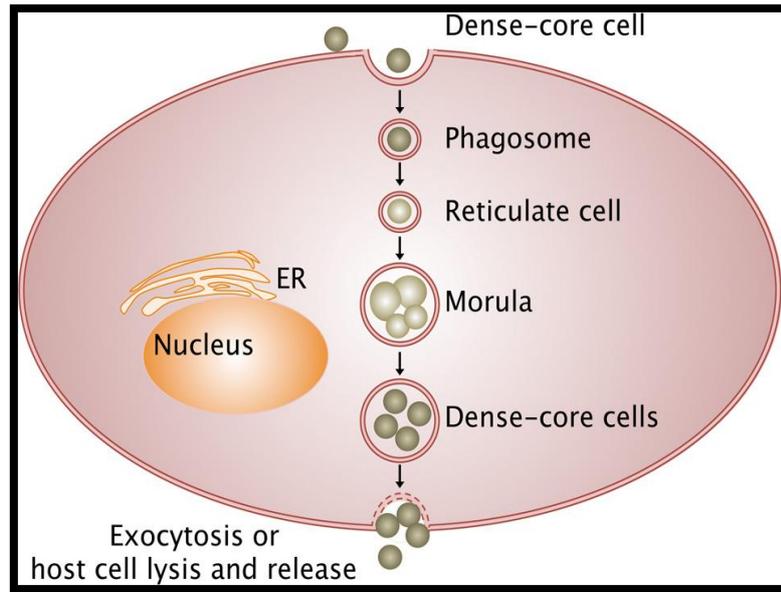
Sur des frottis sanguins colorés par le May-Grünwald Giemsa, les inclusions d'*A. ovis* apparaissent rondes, colorées en bleu, (Shompole et *al.*, 1989) de 0,4 à 0,8  $\mu\text{m}$ , de diamètre (Euzéby, 1988), 35-40% du temps se trouvent dans la partie centrale ou submarginale des

## Partie bibliographique

érythrocytes de l'hôte, et 60-65% du temps restant dans la partie marginale (Shompole et al., 1989). Les inclusions d'*A. marginale* apparaissent rondes, colorées en bleu, contenant 4 à 8 corps initiaux de 0,3 à 0,4 µm de diamètre et situées à la périphérie des érythrocytes contrairement à *A. centrale* qui occupe la partie centrale des érythrocytes. Morphologiquement, *A. ovis*, est indiscernable d'*A. marginale* (Spliteur et al., 1956 ; spliteur et al., 1955). *A. phagocytophilum* forme quant à elle des morulas d'un diamètre compris entre 1,5 et 2,5 µm mais pouvant parfois atteindre 6 µm, prenant une teinte pourpre violine et retrouvées principalement au sein des granulocytes neutrophiles et situées en général contre le noyau des cellules parasitées (Camus et Uilenberg, 2010 ; Rikihisa, 2011 ; OIE, 2012). Pour *Anaplasma. Platys*, elle se présente sous la forme de petits cocci d'environ 0,5 µm, Ils prennent une coloration basophile bleu foncée à mauve avec une coloration de type Romanowsky et rouge pâle avec une coloration de Macchiavello au sein des thrombocytes de l'hôte (Rikihisa, 1991 ; Perez, 1996 ; Ohashi, 1998 ; Brouqui, 1999 ; Rikihisa, 1999).

### II.2.3 Cycle bactérien

La visualisation par microscopie électronique à transmission révèle deux formes morphologiquement distinctes (Zhang et al., 2007). La forme extracellulaire infectieuse (corps élémentaires, EB ou cellules à noyau dense, DC) se fixe à la surface des cellules cibles de l'hôte avant d'entrer par endocytose (figure 2). A l'intérieur des cellules hôtes, les bactéries se développent au sein d'une vacuole liée à la membrane où elles se différencient en corps réticulés (RB ou cellules réticulées, RC) (deuxième forme). Ces derniers se répliquent pour former une grande colonie appelée morula, et après quelques jours, les bactéries se redifférencient en corps élémentaires pour être libérées à l'extérieur de la cellule et pour initier un nouveau cycle infectieux (figure 02) (Thomas et al., 2009). Ces deux formes se multiplient par fission binaire (Kocan et al., 2004 ; Rebaudet et Brouqui, 2008).



**Figure 02:** Cycle de vie intracellulaire des *Anaplasmatidae* (Pruneau et al., 2014).

### II.2.3 Structure antigénique

Certains caractères antigéniques des anaplasmes, sont communs entre des espèces différentes et d'autres variables au sein d'une même espèce. La majeure partie des antigènes impliqués correspond à des protéines de surface majeure ou les MSPs (Rebaudet et Brouqui, 2010). Ceux-ci jouent un rôle crucial dans les interactions de ces bactéries avec leurs cellules hôtes (Brayton et al., 2005; Dunning Hotopp et al., 2006 ; Nelson et al., 2008), et sont plus susceptibles d'évoluer que les autres gènes en raison de la sélection immunitaire exercée par leurs hôtes (de la Fuente et al., 2010). Parmi les protéines de surface les plus étudiées : MSP4, décrite chez *A. ovis*, et MSP2 et MSP3, décrites chez *A. marginale* et aussi chez *A. ovis*. Une enquête a démontré que *A. ovis* présente deux familles des gènes, MSP2 et MSP3 dont plusieurs copies sont similaires à celui d'*A. marginale* ; MSP2 d'*A. ovis* et d'*A. marginale* partagent des epitopes reconnait par les cellules lymphatiques CD4 des bovins immunisés par *A. marginale* (brown et al., 2001). Ces protéines sont codées par une famille de multigènes permettant une diversité antigénique importante (Severo et al., 2012). Le locus MSP2 contient un nombre variable de pseudogènes (5 à 10) et un seul site d'expression génomique. Le gène MSP2 est formé par une région centrale hypervariable limitée par des séquences conservées, identiques à celles de site d'expression MSP2. Les variations antigéniques du MSP2 et MSP3 se produisent par des phénomènes de conversion génétiques fournissant un mécanisme efficace pour produire un grand nombre de variants ou souches, ce qui explique en partie l'échappement de la bactérie au système immunitaire produisant ainsi des infections persistantes chez l'animal (de la Fuente et

## Partie bibliographique

*al.*, 2010). MSP2 ayant un rôle dans l'adhésion aux cellules hôtes, sa diversité pourrait donc permettre, outre l'évasion immunitaire et l'adaptation de la bactérie à de nouvelles niches animales (Rebaudet et Brouqui, 2008). En effet, les anciens sondages sur *A. ovis* ont révélé une variation du gène MSP4, conduit à l'identification de trois génotypes différents.

Une autre protéine majeure de surface est MSP1a, identifiée uniquement chez *A. marginale*, celle-ci est impliquée dans l'adhésion aux érythrocytes des bovins et les cellules de la tique et elle est conservée durant la multiplication de la bactérie (Aubry et Geale, 2011). Son poids moléculaire est variable entre les souches. Cette variation est due à la différence dans le nombre des tandems répétés des acides aminés (23-31) et ceci en fonction de l'origine géographique de la souche. Ainsi le gène *msp1 $\alpha$* , qui code pour cette protéine, est utilisé comme un marqueur génétique stable pour l'identification des différentes souches géographiques d'*A. marginale* (Kocan *et al.*, 2004 ; Aubry et Geale, 2011). Enfin, MSP5 (19 kDa) qui est une protéine immunodominante hautement conservée, identifiée à la majorité des espèces d'*Anaplasma*, dont la fonction reste à démontrer (de la Fuente *et al.*, 2010 ; Aubry et Geale, 2011).

### III. Épidémiologie

#### III.1 Espèces affectées et hôtes réservoirs

##### 1. Espèces érythrocytaires d'*Anaplasma*

*Anaplasma ovis* peut infecter les ovins et les caprins. Les caprins sont plus sensibles et expriment fréquemment des symptômes, ce qui n'est pas observé chez les ovins sauf sous certaines conditions (stress ou immunodépression) ; sans ces conditions, l'infection reste subclinique. Un animal infecté est immunisé contre de nouvelles infections car il reste porteur à vie, mais il sera également une source potentielle d'infection pour les autres animaux (Lestoquard, 1924 ; Splitter *et al.*, 1956; Radostitsrt *al.*, 2000). Expérimentalement, le cerf carrelés (*Odocoileus de Virginianus*), le cerf mullet (*Odocoileus hemionus hemionus*), l'élan (*Taurotragus Vryx*), le blesbok (*Damaliscus de la Phillipsi*), l'alce (*Cervus elaphus*) et l'antilope (*Antilocapra americana*) ont été décrits comme des réservoirs possibles d'*A. ovis* (Goffe *et al.*, 1993 ; De la Fuente, 2006). Ainsi, Hornok et ses collaborateurs (2011), ont montré que les mouches hippoboscid (*Melophagus ovinus*) peuvent être un réservoir d'*A. ovis*, cette conclusion est étayée par De Silva et Fikrig, (1997).

## Partie bibliographique

*Anaplasma marginale*, infecte principalement les Bovins domestiques, mais d'autres ruminants tels que les zébus (*Bos indicus*) ou taurins (*Bos taurus*), et les buffles domestiques peuvent être atteints (Kocan *et al.*, 2010 ; Camus et Uilenberg, 2010).

Diverses antilopes peuvent développer une infection subclinique et jouer le rôle de réservoir sauvage de l'infection comme le blesbok (*Damaliscus dorcas*), le céphalophe de Grimm (*Sylvicapra grimmia*) (Kuttler, 1984) le daim à queue noire (*Odocoileus columbianus scaphiotus*), le daim-mulet (*O. hemionus*), le daim de la Californie, le bison nord-américain, le daim-rouge Européen, et le dromadaire (*Camelus bactrianus*) (Li *et al.*, 2015). Une infection expérimentale des petits ruminants par le sang des bovins infectés par *A. marginale* conduit à une infection latente qui peut durer jusqu'à 75 jours, cela a été expliqué par une adaptation progressive des caprins à *A. marginale* (Morel, 2000).

Des études récentes ont démontré que les caprins peuvent être des réservoirs naturels à des espèces d'*Anaplasma* autres qu'*A. ovis* et *A. marginale*. Aisni, au nord-est de la Chine (2012), Liu et ses collaborateurs, ont identifié *A. phagocytophilum* et *A. Bovis* dans le sang des caprins. De plus, Zobba et ses collaborateurs (2014), ont identifié *A. platys* dans le sang de 27 caprins sur un total de 34 caprins, et *A. marginale* dans le sang de 29 caprins sur un total de 34 caprins en Italie.

### **2. Autres espèces d'*Anaplasma***

Une large variété des animaux a été défini comme des hôtes et réservoirs d'*A. phagocytophilum*, dont les animaux domestiques (bovins, ovins, caprins, chevaux, chiens), les grands mammifères (cerfs, biches, chevreuils, sangliers et renards), les micromammifères (mulots, campagnols) ainsi que l'homme (Amiel *et al.*, 2004 ; Dumler, 2005). Chez les ovins, elle entraîne la Fièvre à tiques ou tick-born-Fever. Chez les bovins, la maladie est alors appelée Fièvre des pâturages ou anaplasmose granulocytaire bovine (AGB), elle est aussi responsable de l'anaplasmose granulocytaire humaine. Enfin, il a été montré que plusieurs espèces dont le rat (Foley *et al.*, 2002), le mouton, le chevreuil, le bovin (Stuen *et al.*, 2006), le chien (Egenvall *et al.*, 2000), le cheval (Franzen *et al.*, 2005) le caprin et le dromadaire (Ben said *et al.*, 2014), peuvent être infectées de façon chronique, et pourraient donc constituer des réservoirs pour la bactérie. Les moutons et les chèvres peuvent être des porteurs chronique jusqu'à 25 mois (Rikihisa, 1991 ; Ogden *et al.*, 1998). En revanche, les petits mammifères sauvages sont des hôtes de prédilection pour les stades immatures des tiques. Ils représentent donc des réservoirs naturels potentiels pour *A. phagocytophilum* (Woldehiwet, 2010). En ce qui concerne *A. Platys* est connu pour

## Partie bibliographique

infecter les chiens, comme ils peuvent rester porteurs persistants subcliniques pour des périodes assez importante (Gaunt et *al.*, 2010). Elle a également été identifié chez les chats, les renards et les dromadaires (Lima et *al.*, 2010 ; Maggi et *al.*, 2013 ; Breitschwerdt et *al.*, 2014 ; Armanda et *al.*, 2015), De plus elle peut également être pathogènes chez l'homme (Doudier et *al.*, 2010, Nicholson et *al.*, 2010, Maggi et *al.*, 2013). Pour les infections à *A. bovis*, elle peut y aller jusqu'à 4 mois chez les caprins, elle a été aussi isolé chez les bovins, les cerfs, et les dromadaires qui peuvent infecter de façon chronique (Kawahara et *al.*, 2006 ; Ooshiro et *al.*, 2008 ; Jilintai et *al.*, 2009).

### III.2 Vecteurs et transmission

La source de l'infection est exclusivement le sang d'un animal porteur. La transmission d'un animal à l'autre fait donc intervenir des vecteurs biologiques tels que des tiques ou encore des vecteurs mécaniques tels que des mouches piqueuses comme les Tabanidés, la transmission iatrogène est également possible (Kocan et *al.*, 2004 ; Rodriguez et *al.*, 2009 ; Aubry et Geale, 2011). La voie biologique, via la salive des tiques infectées, est la principale voie de transmission, Chez les tiques, *Anaplasma. Spp* peut être transmise transstadialement, mais la transmission transovarienne n'a jamais été mise en évidence. La transmission d'un animal à l'autre a lieu le plus fréquemment lorsque les tiques changent d'hôte durant la phase d'engorgement sanguine (Zaugg, 1987 ; Kocan, 2010 ; Kocan et *al.*, 1992 ; Camus et Uilenberg, 2010). Ces tiques peuvent être infectées permanentes et jouées le rôle de réservoir de l'infection (Kocan et *al.*, 2003). Pour que la voie mécanique soit possible, il doit y avoir un grand nombre des mouches piqueuses au moment du pic de bactériémie chez l'animal et la transmission doit se faire dans les minutes qui suivent parce que les anaplasmes ne survivent pas longtemps sur les pièces buccales de l'insecte (Aubry et Geale, 2011). La transmission verticale intra-utérine est possible. Ainsi, les anaplasmes sont capables de traverser la barrière placentaire dès le second tiers de gestation suite à l'exposition de femelles gravides réceptives (Zaugg, 1987). Ces foetus peuvent également s'anémier, et dans certains cas mourir *in utero* (Friedhoff, 1997).

#### III.2.1 Tiques

Les tiques sont connues comme étant des parasites hématophages des animaux depuis l'antiquité. (Tissot-Dupont et Raoult, 1993 ; Sonenshine et *al.*, 2002 ; Swanson et *al.*, 2006) , ces ectoparasites ont été décrits comme vecteurs de nombreux pathogènes tels les protozoaires, les spirochètes, les rickettsies et les virus (Jongejan et Uilenberg, 2004 ; Pérez-Eid, 2007 ;

## Partie bibliographique

Bitam, 2012). Pour les anaplasmes, les principaux porteurs de la bactérie sont les tiques qui font partie de la famille des *Ixodidae*.

### 1. Systématique

Actuellement, 896 espèces de tiques sont regroupées en trois familles :

- Ixodina (tiques dures), avec 702 espèces, toutes ces espèces sont caractérisées par la présence d'une plaque dorsale dure ;
- Argasina (tiques molles), avec 193 espèces, toutes ces espèces présentent un tégument mou dépourvu de zones sclérifiées ;
- Nuttalliellina représenté par une seule espèce décrite dans le sud de l'Afrique.

La famille des *Ixodidae* est la plus importante au vu du nombre d'espèces comprises et de leur importance médicale et vétérinaire (Oliver 1989). Le tableau ci-dessous présente la systématique fréquente des tiques.

**Tableau 01** : Systématique des tiques selon Hoogstraal et Aeschlimann (1982), modifié d'après Barker et Murrell (2004) et Guglielmono et al. (2010).

<b>Embranchement</b>	<i>Arthropoda</i>		
<b>Classe</b>	<i>Chelicerata</i>		
<b>Sous-classe</b>	<i>Arachnida</i>		
<b>Ordre</b>	<i>Acari</i>		
<b>Sous-ordre</b>	<i>Ixodida</i>		
<b>Famille</b>	<i>Ixodidae</i>	<i>Argasidae</i>	<i>Nuttalliellidae</i>
<b>Genres</b>	<i>Ixodes</i> (243 espèces) <i>Amblyomma</i> <i>Anomalohimalaya</i> <i>Bothriocroton</i> <i>Cosmiomma</i> <i>Cornupalpum</i> <i>Dermacentor</i> <i>Haemaphysalis</i> <i>Hyalomma</i> <i>Margaropus</i> <i>Nosomma</i> <i>Rhipicentor</i> <i>Rhipicephalus</i>	<i>Argas</i> <i>Carios</i> <i>Ornithodoros</i> <i>Otobius</i>	<i>Nuttalliella</i>

## Partie bibliographique

### 2. Morphologie

#### 2.1 Taille

Les tiques ont une grande taille. Les larves possèdent 6 pattes et les nymphes et les adultes possèdent 8 pattes (Morel, 2000 ; Barré et Uilenberg, 2010). La taille des tiques appartenant à la famille des *Ixodidae* varie selon le stade de développement. A titre d'exemple, la larve d'*I. ricinus* mesure, à jeun, 0.6 à 1mm alors que la taille d'une femelle peut atteindre 3 à 4mm (Morel, 2000 ; Boulouis et al., 2015). Les mâles sont plus petits que les femelles.

#### 2.2 Comportement

Les tiques dures (*Ixodidae*) possèdent une caractéristique commune : la présence d'une plaque dorsale sclérifiée, le scutum. Celui-ci recouvre presque la totalité du corps du mâle alors que chez les larves, les nymphes et les femelles, il est réduit à la partie antérieure (Morel, 2000 ; Barré et Uilenberg, 2010 ; Boulouis et al., 2015).

##### 2.2.1 Tête

En avant du corps, il se trouve le capitulum (tête) qui porte les pièces buccales (rostre). Ces pièces buccales sont composées de l'hypostome, au centre, et d'une paire de chélicères, situées latéralement. Tels des couteaux, les chélicères permettent à la tique de percer la peau de son hôte alors que l'hypostome, pourvu de dents, sert à son ancrage sur l'hôte (Sonenshine et al., 2002 ; Socolovschi et al., 2008 ; Boulouis et al. 2015). Le capitulum est, du fait qu'il échappe à la déformation consécutive au gorgement, très utilisé en systématique. Ainsi particulièrement utilisés le rapport longueur/largeur du capitulum (tiques à rostre long ou à rostre court) et la forme de la basis capituli (rectangulaire, hexagonale, trapézoïdale) (Pérez-Eid, 2007). L'étude des pièces buccales permet généralement d'identifier les différentes espèces appartenant à la famille des *Ixodidae* (Sonenshine et al., 2002 ; Pérez-Eid, 2007 ; Boulouis et al., 2015).

##### 2.2.2 Idiosome

Dans la partie postérieure, du corps de la tique il se trouve l'idiosome, composé du scutum rigide et d'une partie plus souple et extensible permettant l'augmentation de volume pendant le repas sanguin, pourvu de sillons ; couleur unie ou avec dépôts d'email coloré chez certains genres (*Amblyomma* et *Dermacentor*), on peut y observer également des ocelles (yeux) sur les bords latéraux, proéminents ou aplatis (Pérez-Eid, 2007 ; Anderson et Magnarelli, 2008 ; Boulouis et al., 2015). Le système digestif de la tique occupe une grande partie de son idiosome.

## Partie bibliographique

En position antérieure, on trouve une paire de glandes salivaires, en forme de grappes. La salive de la tique contient de nombreuses substances lui permettant le bon déroulement de son repas de sang, notamment anesthésiantes, anticoagulantes, vaso-dilatatrices et immunosuppressives. La tique possède également des organes olfactifs, dont celui de Haller, situé sur la première paire de pattes, sensibles aux phéromones, au CO<sub>2</sub>, aux vibrations, aux variations de température et à l'humidité ; Les pédipalpes, avec leurs chémorécepteurs, jouent également un rôle sensoriel (Boulouis et al., 2015).

La face ventrale de l'idiosome porte les quatre paires de coxae sclérifiées, situées latéralement et antérieurement, sur lesquelles sont insérées les quatre pattes terminées par une ventouse et deux griffes ; les coxae peuvent porter 1 ou 2 épines ou aucune selon les genres. Leur forme ainsi que celles de leurs épines sont des caractères extrêmement utiles en systématique (Morel, 2000 ; Pérez-Eid, 2007). En position ventro-latérale, en arrière des coxae 4 sont déposés une paire de stigmates respiratoires, leur forme est utile dans la diagnose de certaines espèces (Sonenshine et al., 2002 ; Pérez-Eid, 2007).

### 2.2.3 Appareille génitale

Chez la femelle, l'uropore (orifice anal) est situé postérieurement alors que le gonopore (orifice génital) est en position antérieure (Barré et Uilenberg, 2010). L'uropore est contourné par un sillon anal semi-circulaire en avant chez les Ixodidés (*Prostriata*) et en arrière chez la plupart des Amblyommidés (*Metastriata*), il manque chez les *Boophilus* (Pérez-Eid, 2007). Chez les mâles, La face ventrale de l'idiosome porte des plaques ou écusson (Barré et Uilenberg, 2010). Chez les Ixodidés mâles, ces plaques sont au nombre de quatre, deux impaires (plaque centrale et plaque pré-génitale) et deux paires symétriques (plaques adanales et plaques épimérales). Tandis que chez la plupart des mâles Amblyommidés, elles sont moins développées, au nombre de quatre mais toutes paires (une paire d'adanales, une paire de subadanales et 2 paires d'accessoires) (Pérez-Eid, 2007).

## 3. Biologie et écologie

### 3.1 Biologie

Les tiques de sous ordre Ixodida, sont des acariens intermittents avec des phases de vie parasitaire brèves le temps du repas sanguin alternant avec de longues phases de vie libre dans l'environnement (Pérez-Eid, 2007 ; Umemiya-Shirafuji et al., 2012 ; Boulouis et al., 2015). Les Saisons et les microclimats (température, humidité) conditionnent les périodes d'activité des tiques et la durée de leur cycle évolutif (Boulouis et al., 2015). Cette bio-écologie des tiques a

## Partie bibliographique

des conséquences importantes sur leur compétence et leur capacité vectorielles, avec des associations, espèce de tique/ pathogène transmis, parfois très strictes (Boulouis et al., 2015).

### 3.1.1 Cycle de vie :

L'évolution de vie de tique se déroule selon différents stades qui sont : œuf, larve, nymphe, puis adultes femelle et mâle (Jongejan et Uilenberg, 1994). Il existe un repas sanguin unique par stade avec gorgement de la tique chez les tiques dures (Pérez-Eid et Gilot, 1998 ; Socolovschi et al., 2008 ; Boulouis et al., 2015). De plus la durée du repas sanguin est variée selon le stade et l'espèce de la tique (3 à 15 jours). Cas particuliers des mâles qui ne prennent pas de repas sanguin (famille Ixodidae, avec le genre *Ixodes*) ou ingèrent un peu de sang mais sans jamais se gorger (les genres *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, etc.), ou dans le cas des Amblyommidés, prennent un repas très réduit pour assurer la spermatogenèse (Sonenshine et al., 2002 ; Stich et al., 2008 ; Boulouis et al., 2015). La femelle de tique ne peut accomplir son repas avec gorgement complet qu'à la condition d'avoir été fécondée au préalable ; elle pourra alors se décrocher de l'hôte et se préparer à une ponte unique sur le sol, après quoi elle meurt (Morel, 2000 ; Socolovschi et al., 2008 ; Boulouis et al., 2015).

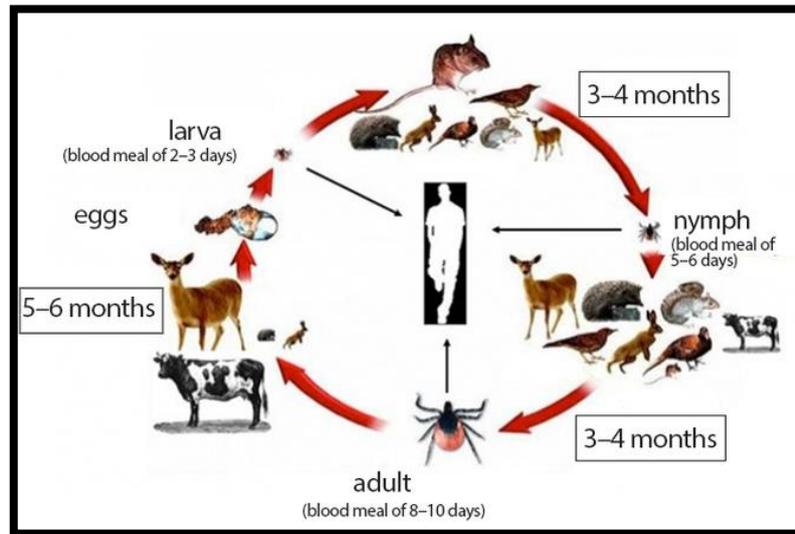
### 3.1.2 Nombre d'hôtes

En fonction du nombre d'hôtes ; il se trouve les tiques triphasiques qui nécessitent trois hôtes, un hôte pour le repas sanguin de chaque stade comme le cas d'*Ixodes ricinus* (figure 3), *Rhipicephalus sanguineus*, *Dermacentor* sp. ; à l'affût sur un support, la tique à jeun s'accroche à un hôte de passage, le mord et s'y fixe par ses pièces buccales pour prendre son repas de sang; le repas terminé, la tique gorgée se détache, tombe au sol où elle s'y métamorphose en stade, ou pour une femelle fécondée, se prépare à une ponte unique sur le sol avant de mourir (Sonenshine et al., 2002 ; Socolovschi, 2008). Aussi les tiques diphasiques qui nécessitent deux hôtes, le même individu pour les repas de larve, puis nymphe, et un second individu pour le repas d'adulte comme le cas de *Rhipicephalus bursa*, (Guiguen et Degeilh, 2001 ; Pérez-Eid, 2007). et enfin les tiques monophasiques, qui nécessitent un seul hôte sur lequel larve, nymphe puis adulte prennent leur repas comme le cas de *Boophilus* spp (Pérez-Eid, 2007 ; Stich et al., 2008).

## Partie bibliographique

### 3.1.3 Tropisme d'hôtes

En fonction du tropisme d'hôte, il existe les tiques télotropes (larves et nymphes sont assez ubiquistes, avec une préférence des larves pour les micro-mammifères, adultes avec sélectivité relative préférant des grands mammifères), les tiques ditropes (sélectivité pour larves et nymphes, mais différente de celle des adultes) et les tiques monotropes (pas de sélectivité différente entre larve, nymphe et adulte) (Morel, 2000 ; Pérez-Eid, 2007).



**Figure 03:** Cycle de développement d'*I. ricinus* (Pascale, 2016).

### 3.2 Ecologie

La vie des tiques est influencée par les conditions climatiques, la végétation et les interrelations qu'elles entretiennent avec les autres êtres vivants, animaux, parasites et microorganismes toute modification d'un de ces éléments influence à des degrés variables, la vie, voire la survie des tiques (Socolovschi, 2008). Les tiques sont, selon les espèces et les stases, endophiles, exophiles ou cryptophiles. Les exophiles vivent dans des biotopes ouverts tels que prairies, forêts, pâturages et steppes. Les endophiles vivent dans des habitats bien abrités et protégés comme des terriers, des nids et des constructions (maisons, étables). Le terme cryptophile, créé par Morel, s'applique aux espèces qui, au sein d'un biotope ouvert, s'abritent dans un microbiotope restreint, comme une haie ou un talus abrité (Pérez-Eid et Gilot, 1998 ; Guiguen et Degeilh, 2001). La distribution et le cycle de vie des tiques dépendent de facteurs intrinsèques, correspondant à leurs propriétés biologiques qui déterminent leurs réactions aux conditions extérieures, mais surtout de facteurs extrinsèques abiotiques, plus particulièrement la température et l'humidité relative (Pérez-Eid, 2007). En effet, les durées des différentes phases

## Partie bibliographique

du cycle de vie (ovogenèse, embryogenèse, mues, affût de l'hôte...) sont toutes conditionnées par ces facteurs climatiques. De même, cette durée du cycle est dépendante de plusieurs autres facteurs tels que la disponibilité, la densité et la nature des hôtes dans leur biotope (Bouattour, 2009).

Autre la durée des cycles, ces facteurs climatiques sont des éléments majeurs influençant la distribution spatiale des différentes espèces, les variations saisonnières de leurs activités et leur comportement (Socolovschi, 2008 ; Estrada-Peña et al., 2012). Ainsi on distingue, des conditions macroclimatiques (à l'échelle de régions), qui limitent la distribution des différentes espèces, directement ou en influant sur le type de végétation utilisé par les tiques, c'est pourquoi, chaque espèce présente une distribution géographique particulière, et les maladies transmises, particulièrement lorsque les tiques sont vectrices et réservoirs de pathogènes. Sont donc des maladies géographiques, et les facteurs microclimatiques (à l'échelle du micro-habitat, la plus petite surface individualisable où vivent les tiques) représentent les conditions environnementales influençant directement la vie des tiques (Guiguen et Degeilh, 2001; Socolovschi, 2008 ; Bouattour, 2009). Les radiations solaires apparaissent ainsi essentielles dans l'activité quotidienne de certaines espèces, par exemple dans la recherche de l'hôte ou d'un endroit abrité lorsqu'elles quittent un hôte. Notons également, que le froid, la chaleur et/ou la sécheresse, selon les espèces sont fatales à certaines tiques (Socolovschi, 2008).

### 3.3 Compétence et capacité vectorielle

Les *Ixodidae* possèdent des caractéristiques comportementales qui favorisent leur capacité de vecteurs (Parola et Raoult 2001). Ils se nourrissent pendant une relativement longue période, durant laquelle ils restent fermement attachés à leur hôte, permettant un éventuel échange de pathogènes. La piqûre étant indolore, ils ont la capacité de passer inaperçus durant toute la durée du repas sanguin. Ils peuvent se nourrir sur une grande variété d'animaux, qui ont chacun une niche écologique différente (Sonenshine 1991). Pour être considéré comme compétent, le vecteur doit être capable de se nourrir sur des hôtes infectés, d'acquérir le pathogène durant le repas sanguin et de maintenir l'infection pendant les mues (passage transstadial), et enfin il doit transmettre le pathogène aux hôtes sur lesquels il se nourrit (Kahl et al. 2002). De ce fait, le vecteur est impliqué dans le cycle naturel du pathogène (Kahl et al. 2002), tout comme l'hôte réservoir.

## Partie bibliographique

### 3.3.1 Infection des tiques

Dans la nature, une tique peut acquérir un pathogène (« s'infecter ») de trois manières différentes :

- La plus courante est l'acquisition d'un pathogène lors d'un repas de sang sur un hôte développant une infection systémique (généralement l'hôte réservoir). C'est la transmission horizontale.
- Pour une même tique, le pathogène peut survivre aux mues successives et donc lors du passage d'un stade gorgé au stade suivant non gorgé. C'est le passage transstadial. Ce mode de transmission est obligatoirement présent chez un arthropode dit « vecteur » et de plus, il est nécessaire à la survie à long terme du microorganisme dans la nature (Gern et Humair 2002).
- Plus rarement, lorsque les ovaires d'une femelle sont infectés par le pathogène, celle-ci peut transmettre son infection à sa descendance. C'est la transmission transovarienne ou verticale. Pour certains agents pathogènes, les trois voies de transmission sont possibles (ex. *Rickettsia* spp.). Dans ce cas, les tiques constituent également des hôtes réservoirs du pathogène.

La transmission de pathogènes par co-feeding est un phénomène particulier. Il a été décrit pour la première fois en 1987 pour le virus Thogoto (Jones et al. 1987) et il a été depuis démontré pour d'autres virus tels que TBEV ou le virus du louping-ill (Alekseev et Chunikhin 1990, Randolph et al. 1996). Gern et Rais (1996) ont montré que la bactérie *B. burgdorferi* si pouvait également être transmise par co-feeding. La transmission par co-feeding est la transmission d'un agent pathogène (virus ou bactérie) d'une tique infectée (le plus souvent une nymphe) à une tique non infectée (une larve) se nourrissant à proximité sur l'hôte, en l'absence d'infection systémique chez ce dernier.

Le tableau ci-dessous résume les principales espèces de tiques d'importance majeure, les maladies transmises ainsi que leur répartition géographique.

## Partie bibliographique

**Tableau 02:** Liste non exhaustive de quelques espèces de tiques tropicales et méditerranéennes parasites du bétail, d'importance vétérinaire (Barré et Uilenberg, 2010)

Espèces	Maladies transmises	Répartition géographique
<i>Amblyomma gemma</i>	Cowdriose	Afrique orientale
<i>A. hebraeum</i>	Cowdriose	Afrique australe
<i>A. lepidum</i>	Cowdriose	Afrique orientale
<i>A. pomposum</i>	Cowdriose	Tiques des montagnes de l'Afrique australe, orientale et centrale
<i>A. variegatum</i>	Cowdriose, associée à une dermatophilose sévère	Afrique sub-saharienne, Madagascar et Caraïbe.
<i>A. maculatum</i>	Vecteur expérimentale efficace et potentiel de la cowdriose	USA australe, Amérique centrale, nord sud-américain
<i>Boophilus annulatus</i>	Anaplasmose et babésiose bovine	Bassin méditerranéen, parties nord d'Afrique Subsaharienne, Mexique
<i>B. decoloratus</i>	Anaplasmose bovine, babésiose bovine ( <i>B. bigemina</i> )	Afrique subsaharienne
<i>B. geigy</i>	Babésiose bovine, probablement l'anaplasmose bovine	Afrique occidentale
<i>B. microplus</i>	Babésiose bovine, anaplasmose bovine	Asie méridionale ; introduite dans la pluparts des régions tropicales.
<i>Dermacentor marginatus</i>	Piroplasmose équine	beaucoup de régions d'Europe et d'Asie
<i>D. nitens</i>	Piroplasmose équine	Amérique tropicale
<i>Haemaphys alis longicornis</i>	Theilériose bovine orientale	l'Asie orientale et méridionale, Australie, région pacifique
<i>Hyalomma a. anatolicum</i>	Theilériose bovine tropicale, theilériose ovine bénigne	grandes régions d'Asie, nord-est d'Afrique
<i>H. d. detritum</i>	Theilériose bovine tropicale	Bassin méditerranéen
<i>H. m. marginatum</i>	Arbovirose	Bassin méditerranéen

## Partie bibliographique

<i>Ixodes holocyclus</i>	Paralyse à tique	Australie
<i>I. persulcatus</i>	Borréliose de lyme, arbovirose (encéphalite)	Europe orientale, Asie tempérée
<i>I. ricinus</i>	Babésiose bovine, fièvre des pâtures, ehrlichiose équine, borréliose de lyme, arbovirose	Bassin méditerranéen, Europe tempérée
<i>I. rubicundus</i>	Paralyse à tique	Afrique australe
<i>Rhipicephalus appendiculatus</i>	Theilériose bovine, arbovirose.	Afrique orientale et australe.
<i>Rh. bursa</i>	Babésiose, anaplasmose, piroplasmose équine	Bassin méditerranéen, Moyen-Orient
<i>Rh. e. evertsi</i>	Babésiose, anaplasmose, piroplasmose équine,	Afrique subsaharienne
<i>Rh. e. evertsi</i>	Babésiose, anaplasmose, piroplasmose équine, paralysie à tique	Afrique subsaharienne
<i>Rh. zambeziensis</i>	Theilériose bovine	Afrique australe orientale

### III.2.3 Isolement d'*Anaplasma* spp chez les tiques des caprins

Plusieurs espèces à travers le monde ont été rapportées dans la transmission expérimentale d'*A. ovis* (Kocan et al., 2004) ; parmi les plus importantes en région tropicale et subtropicale figurent, les *Hyalomma* (*H. marginatum marginatum* et *H. anatolicum anaolicum*) les *Rhipicephalus* (*R. sanguineus* et *R. bursa*), *Dermacentor lahorensis* et *Dermacentor andersoni*, et *Rhipicephalus* (*R. sanguineus* et *R. bursa*), comme des vecteurs naturels d'*A. ovis* (Noaman, 2012 ; Friedhoff, 1997, Rastegaieff, 1935 ; Ryef et al., 1964). Certaines espèces de tiques identifiées, telles que *R. turanicus*, *R. bursa* et *R. sanguineus*, ont été proposées précédemment comme des vecteurs d'*A. ovis* dans les pays méditerranéens (Ben Said et al., 2015). Derdakova et ses collaborateurs (2011) en Slovaquie ont montré que *D. marginatus* est le principal vecteur d'*A. ovis*. De plus, Aktas et ses collaborateurs (2009) ont rapporté la présence d'ADN d'*A. ovis* dans les glandes salivaires de *R. sanguineus* collectées en Turquie. Torina et ses collaborateurs (2008) et De La Fuente et ses collaborateurs (2005) ont démontré que *R. turanicus* est le principal vecteur d'*A. ovis* en Italie. Ainsi, Liu et ses collaborateurs en Chine ont isolé *A. phagocytophilum* à partir des tiques des caprins

## Partie bibliographique

(*Haemaphysalis longicornis*) (Liu et al., 2016). Jaafarbekloo et ses collaborateurs ont isolé *A. ovis* à partir *Rhipicephalus sanguineus* et *Hyalomma anatolicum* (Jaafarbekloo et al., 2014).

Enfin, Yin et ses collaborateurs (2007), ont démontré que certaines espèces des tiques telles que *Dermacentor nuttalli*, *Hyalomma asiaticum* et *Rhipicephalus pumilio*, ne sont pas capables de transmettre *A. ovis* par voie trans-stadiale, mais la transmission est possible par un cofeeding.

### III.3 Facteurs de risque et prévalences

Les infections à *Anaplasma* sont très largement distribuées à travers le monde. Certains facteurs favorisent la réceptivité tels que la race, l'âge, et l'état général des animaux (Lestoguard, 1924 ; Splitter et al, 1955; Splitter et al., 1956 ; Shompole et al, 1989 ; Morel, 2000; Stuen, 2007). De plus, elles présentent une certaine saisonnalité liée notamment à l'abondance des vecteurs. Ce qui concerne le facteur sexe, plusieurs études ont montré que qu'il n'a aucun effet sur les infections des caprins par les anaplasmes (Ben Said et al., 2015 ; Rajasokkappan1 et Selvaraju, 2016).

#### III.3.1 Saison

Les saisons préférentielles varient selon la région et les conditions bioclimatiques au cours de l'année (Morel, 2000 ; Amiel et al., 2004 ; Leger et al. 2013). Une étude a été faite en Corée, dans 3 régions, le nord, le centre et le sud ayant une température annuelle entre 8.2°C et 17.9°C, a montré des séroprévalences vis-à-vis d'*A. ovis* qui sont par ordre de fréquence de 1.7%, 2.6% et 9.2% respectivement. Ils ont montré également que la prévalence est plus importante dans les zones subtropicales (Lee et al., 2015). De plus, afin de révéler l'effet de saison, plusieurs études ont été faites, parmi lesquelles une étude menée en Corée (2015), qui a démontré que la séroprévalence en saison chaude (avril- septembre) (7.6%) est supérieure à celle décrite en saison froide (octobre- mars) (3.3%) (Lee et al., 2015). Cela a été confirmé dans une autre étude menée en Egypte dans laquelle la séroprévalence d'*A. ovis* est plus grande en été (58.6%) par rapport à la séroprévalence en automne (36.6%) (Goda et al., 2009). Contrairement à une autre étude faite par Velusamy et ses collaborateurs en Inde au nord-ouest de la région du Tamil Nadu (2014), ou ils ont démontré qu'il n'y a pas d'effet saison dans le cas d'anaplasmose caprine.

## Partie bibliographique

### III.3.2 Conduite d'élevage

La conduite d'élevage constitue en outre un facteur de risque important selon que le contact avec le vecteur est favorisé, ou que les contacts entre animaux ciblent et réservoirs potentiels sont fréquents. (Splitter et al, 1955; Splitter et al., 1956 ; Shompole et al, 1989 ; Morel, 2000; Stuen, 2007). Une étude menée en Egypte, a montré que l'infection par *A. ovis* chez les caprins est significativement associée au système de pâturage, ils ont rapporté que la séroprévalence des caprins qui vivent dans un système de stabulation intensif est de 21.3%, par rapport aux caprins qui vivent dans un système de stabulation extensif qui présentent une séroprévalence de 20% (Goda et al., 2009).

### III.3.3 Age

En ce qui concerne l'âge comme chez les bovins, les caprins adultes sont plus sensibles à la maladie que les jeunes (Radostitsrt al., 2000). Cela a été prouvé par plusieurs études dans le monde. En effet, dans une étude menée en Corée, les caprins âgés de plus d'un an présentent une séroprévalence plus élevée (9.4%) par rapport a ceux âgés de moins d'un an (4.9%), (lee et al., 2015). En Tunisie, une étude a montré que les caprins qui ont plus de 2 ans présentent une séroprévalence plus élevée (72.9%) que les caprins moins de 2 ans (55.6%) (Said et al., 2015). Une autre étude faite par Rajasokkappan et Selvaraju, en Inde (2016), sur des caprins symptomatiques appartenant à 3 déférentes classes d'âge (moins de 6mois, entre 6 mois et 12 mois et plus de 12 mois), a confirmé que la sensibilité des adultes (35.71%) est plus élevée par rapport aux jeunes animaux : 19.04% pour les animaux de moins de 6 mois et 28.37% pour les animaux entre 6 mois et 1 an.

### III.3.4 Infestation par les tiques

En Tunisie, des chercheurs ont enregistré une prévalence plus élevée chez les caprins infestés par les tiques (75.2%) par rapport aux caprins non infestés (59.5%).

Des études de prévalence portant sur les espèces d'*Anaplasma* réalisées dans différentes régions du monde chez les caprins sont résumées dans le tableau tableau 03.

## Partie bibliographique

**Tableau 03:** Prévalences des différentes espèces d'*Anaplasma* chez les caprins.

Année	espèce	Technique	Pourcentage (%)	pays	Référence
2002	<i>A. ovis</i>	Giemsa	38.92	Iran	Razmi et al., 2006
2006	<i>Anaplasma</i> spp	cElisa	45	Italie	Torina et al., 2008
	<i>A. ovis</i>	PCR	19		
2006	<i>A. ovis</i>	PCR	15.3	Chine	Lui et al., 2011
2008	<i>Anaplasma</i> spp	cElisa	85	Kenya	Ngeranwa et al., 2008
2008	<i>A. ovis</i>	PCR	80	Chine	Haigh et al., 2008
2008	<i>Anaplasma</i> spp	Giemsa	19	Egypte	Goda et al., 2009
		cELISA	48		
2008	<i>A. ovis</i>	PCR	63.7	Iran	Jalali et al., 2013
2009	<i>A. ovis</i>	PCR	100%	Angola	Kubelov et al., 2012
2010	<i>A. ovis</i>	PCR	58.3	Slovaquie	Derdáková et al., 2011
2010	<i>A. ovis</i>	PCR	15.3	Chine	Liu et al., 2012
	<i>A. phagocytophilum</i>		6.1		
	<i>A. bovis</i>		160		
2011	<i>Anaplasma</i> spp	cELISA	6.6	Corée	Lee et al., 2015.
2012	<i>Anaplasma</i> spp.	PCR	85	Italie	Zoba et al., 2014
	<i>A. platys</i>		79.4		
2013	<i>A. ovis</i>	RT-PCR	25.6	Chine	Chi et al., 2013
		C-PCR	9.06		

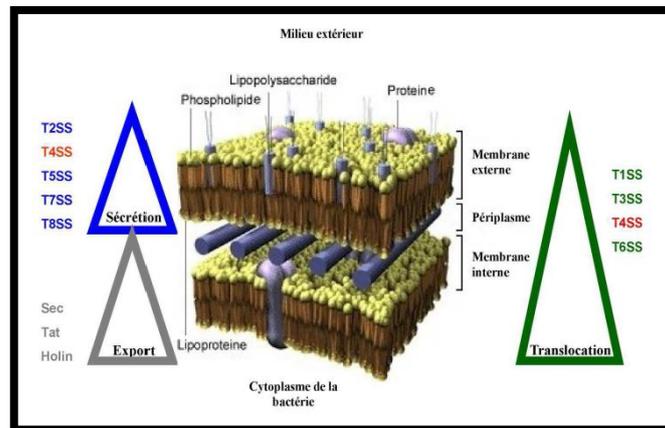
## Partie bibliographique

2013	<i>Anaplasma</i> spp	Giemsa PCR	88.9 71.8	Maroc	Ait Lbacha et al., 2015
2013	<i>Anaplasma</i> spp	lamp	31.1	chine	Li et al 2015
2013	<i>A. ovis</i>	PCR	65.3	Tunisie	Ben Said et al., 2015
2013	<i>Anaplasma</i> spp	PCR	81.8	chine	Qiu et al., 2016
2014	<i>Anaplasma</i> spp	PCR	17.9	chine	Seong et al., 2015
2015	<i>Anaplasma</i> spp	Giemsa PCR	28.8 65.4	Iran	Jalali et al., 2016
2015	<i>A. phagocytophilum</i>	PCR	26.7	Chine	Yang et al., 2016
2016	<i>Anaplasma</i> spp	Giemsa	26.15	Inde	Rajasokkappan et Selvaraju, 2016
2016	<i>A. ovis</i> <i>A. bovis</i> <i>A. phagocytophilum</i>	PCR	18.2 10.4 2.1	Chine	Zhang et al., 2016
2016	<i>A. platys</i>	RFLP-PCR	22.8	Tunisie	ben said, et al., 2017

### VI. Physiopathologie de l'infection à *Anaplasma*. Spp

#### VI.1 Transport membranaire :

Chez les bactéries à Gram négatif, les effecteurs modifiant la biologie de l'hôte doivent franchir au moins deux obstacles que sont les membranes interne et externe de la paroi bactérienne, toutes deux hydrophobes et donc imperméables aux composés hydrophiles. La sécrétion de substances est alors réalisée au moyen de différentes stratégies : la translocation en deux étapes comprenant d'abord l'export à travers la membrane interne puis une sécrétion à travers la membrane externe de la bactérie (L'export des protéines à travers la membrane interne vers l'espace périplasmique par les systèmes Sec (Secretion), Tat (Twinarginine translocation) ou holin (hole forming) et puis le transport à travers la membrane externe par des systèmes de sécrétion). Ou bien la translocation d'effecteurs à travers les deux membranes en une seule étape (Figure 4). Les systèmes de sécrétion permettent donc aux bactéries de transférer, dans le cytoplasme de la cellule hôte, des protéines ou complexes ADN-protéines (Pichon, 2009).



**Figure 04:**Le transport membranaire chez les bactéries Gram-négatives (Pichon, 2009).

#### Mécanismes de sécrétion bactérienne :

Dans un premier temps, les protéines sont exportées du cytoplasme vers le périplasmique de la bactérie par des mécanismes impliquant la reconnaissance, par l'intermédiaire de chaperones, d'une séquence signal spécifique des préprotéines et le transport actif de ces molécules vers et à travers la membrane interne, grâce à des translocases (Economou, 1999). Pour la sécrétion via des systèmes adaptés. Une fois dans l'espace périplasmique, les protéines exportées peuvent y rester, s'ancrer dans la membrane externe ou bien, dans un second temps, être sécrétées par des systèmes de sécrétion adaptés de type II, IV, V, VII et VIII (Hueck, 1998). Ces derniers

## Partie bibliographique

représentent autant de mécanismes permettant la sécrétion des déterminants bactériens à travers la membrane externe (Kostakioti *et al.*, 2005). Ces derniers représentent autant de mécanismes permettant la sécrétion des déterminants bactériens à travers la membrane externe (Kostakioti *et al.*, 2005). Chez les anaplasmes le système de Sécrétion de Type (T4SS) c'est une protéine immunodominant ; il se permet la sécrétion d'un grand nombre de molécules vers le milieu extérieur ou vers la surface de la bactérie (Aly *et al.*, 2008). De plus, le T4SS possède l'originalité de pouvoir réaliser le transport de protéines seules ou de complexes ADN-protéines (Christie, 1997).

### VI.2 Interaction cellule-hôte :

#### VI.2.1 Interactions avec les cellules endothéliales et autres cellules nucléés

Les espèces de la famille d'*Anaplasmataceae* développent des stratégies pour contourner les processus de reconnaissance et d'élimination d'agent pathogène par l'hôte. Ces stratégies permettent aux bactéries de survivre et de se reproduire à l'intérieure de la cellule.

Le processus d'invasion des différents espèces d'*Anaplasma* est se fait en quatre étapes principales : l'adhérence, l'internalisation, la prolifération intracellulaire et la propagation intercellulaire, et la subversion de l'hôte. En effet les études de génomiques fonctionnelles chez les Rickettsiales sont essentiellement réalisées sur la forme infectieuse libre et extracellulaire des bactéries (Moumen, 2015).

*L.A. phagocytophilum* interagit avec la surface de la cellule hôte, en utilisant des adhésines (PSGL-1 Et sLex) (figure 05) (Herron *et al.*, 2000, Reneer *et al.*, 2006). Les protéines PSGL-1 et Syk agissent conjointement pour phosphoryler ROCK1, permettant l'absorption bactérienne (Thomas et Fikrig, 2007). Des molécules d'invasion (invasine OmpA et Asp14) interagissent avec l'adhisine (PSGL1) pour favoriser l'infection dans des cellules hôtes des mammifères (Kahlon *et al.*, 2013). De plus, des radeaux lipidiques tels que Caveolin-1, des protéines ancrées glycosylphosphatidylinositol (GAP) et la flotilline, facilitent l'entrée des différents espèces d'*Anaplasma* (figure 5) (Rikihisa, 2010). La bactérie se lie également à l'intégrine- $\beta$ 2 Pour adhérer et entrer dans des cellules des mammifères (Schaff *et al.*, 2010).

*Anaplasma phagocytophilum*, se niche dans une vacuole intracytoplasmique, elle participe à la formation de laparoi vacuolaire par ses protéines (APH\_0032, APH\_0233 et APH\_1387), Une autre protéine, AptA interagit avec la vimentine (la protéine de filament intermédiaire)

## Partie bibliographique

(Sukumaran et al., 2011) ; afin de modifier la composition de membrane vacuolaire pour assurer un développement efficace.

Certaines protéines de Rab sont séquestrées par la bactérie pour acquérir des acides aminés et éventuellement du cholestérol, et recouvrir la membrane vacuolaire dans laquelle se développe la bactérie ; ceci vise à empêcher la maturation de la vacuole et de la fusion lysosomale.

L'invasion d'*A. phagocytophilum* nécessite le cholestérol à partir de la voie d'absorption de LDL, (Xiong et Rikihisa, 2012). Ainsi, l'accumulation de cholestérol semble faciliter la croissance d'*A. phagocytophilum* (Xiong et al., 2009).

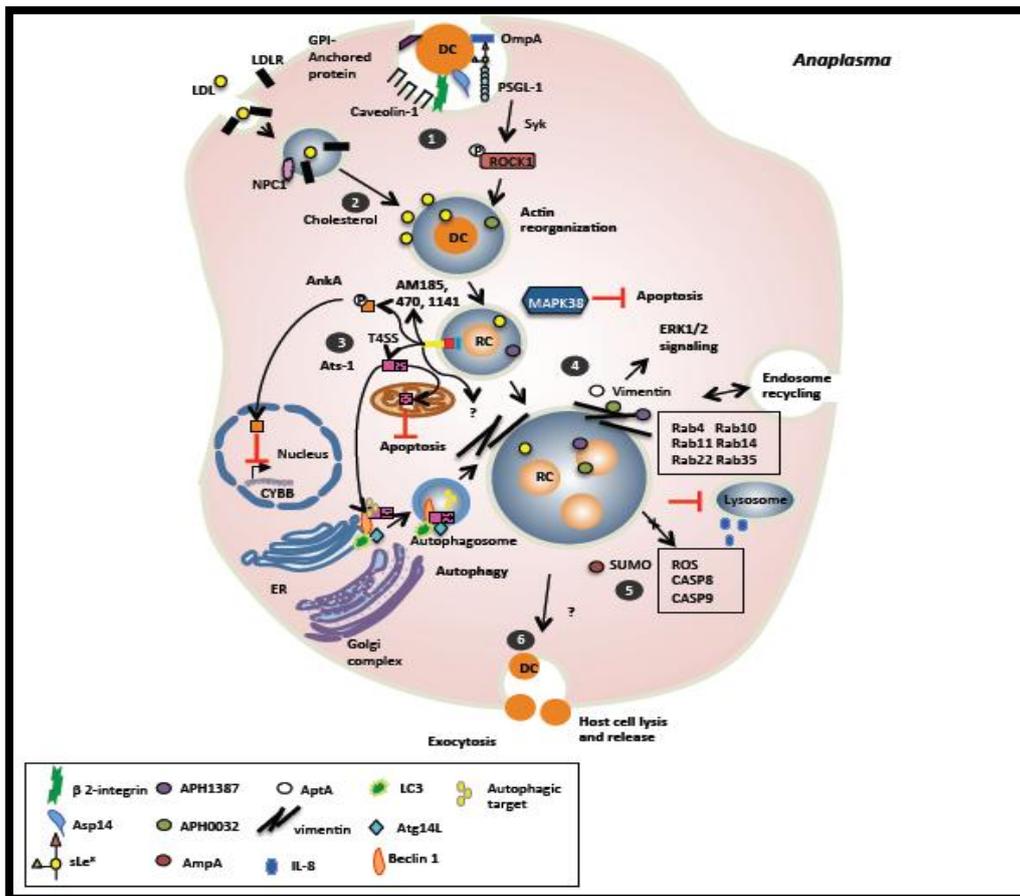


Figure 05: Interaction cellule-hôte, cas d'*A. phagocytophilum* (Moumen, 2015).

### VI.2.2 Parasitisme des érythrocytes

Le parasitisme des globules rouges confère à la bactérie le privilège non seulement d'être à l'abri des lysosomes et de la réponse immunitaire à médiation humorale, mais aussi la possibilité de persister au sein de l'hôte et par conséquent augmenter sa chance d'être absorbé par un arthropode hématophage. Toutefois, les érythrocytes matures, au contraire de toute autre cellule nucléée, possèdent un cytosquelette passif interdisant à la cellule une activité

## Partie bibliographique

phagocytaire. En effet, le mode d'entrée des anaplasmes aux érythrocytes n'est pas bien clair. L'hémolyse intravasculaire dans le cas d'anaplasmose érythrocytaire (*A. ovis*, marginale, centrale) est très faible au cours de l'infection, d'où l'absence de l'hémoglobinémie et de l'hémoglobinurie (Kocan et *al.*, 2000). En effet, l'anémie observée est due à une phagocytose des hématies, particulièrement dans la rate, qui transforme l'hémoglobine en bilirubine conjuguée facilement éliminée par la bile. Cette anémie est progressive, d'abord normocytaire, devient macrocytaire sous l'effet d'une hyperplasie compensatrice de la moelle osseuse, avec production de cellules immatures.

### VI.3 Réponse immunitaire

Au même titre que d'autres bactéries exclusivement intracellulaires, les anaplasmes doivent faire face à certaines contraintes : supprimer ou éviter les défenses de l'hôte et modifier localement l'environnement cellulaire pour satisfaire à ses besoins nutritionnels, sa reproduction et sa transmission. Or l'hôte, qui doit contrôler toute intrusion *via* son système immunitaire, est en fait incapable de se débarrasser les déférents espèces d'*Anaplasma*. Il est alors supposé que ces dernières ne sont pas reconnues et échappent aux défenses de l'hôte.

#### VI.3.1 Réponse immunitaire contre *Anaplasma* spp.

Les espèces d'*Anaplasma* peuvent modifier les profils d'expression des gènes chez les ruminants infectés (Meada et *al.*, 2007 ; Verschoor et *al.*, 2010), du fait les corps initiaux intra-érythrocytaires provoquent des modifications structurales et biochimiques de la membrane plasmique des érythrocytes. Les érythrocytes ainsi modifiés induisent la production d'autoanticorps qui, à leur tour, stimulent l'érythrophagocytose (Giardina et *al.*, 1993). Palmer et Mcguire (1984) ont démontré que, outre les auto-anticorps, il y a production des anticorps actifs contre les antigènes d'*A. marginale* ; ils ont par ailleurs identifié six antigènes majeurs de la membrane externe. Ces antigènes sont notamment MSP-1a, MSP-1b, MSP-2, MSP-3, MSP-4, et MSP-5 (Musoke et *al.*, 1996 ; Brown, 2012). Les travaux réalisés à ce jour impliquent, sans ambiguïté, une réaction immunitaire humorale dans l'anaplasmose. Il a été présumé que les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> sont essentiels à la protection contre l'infection, d'une part, par la production d'IFN- $\gamma$  qui active les fonctions microbicides des macrophages ; d'autre part, elles interviennent pour la commutation isotopique des lymphocytes B et la maturation de l'affinité des IgG (Abbott et *al.*, 2004 ; Brown, 2012). Chez le mouton, ils ont constaté suite à une infection par *A. phagocytophilum*, une diminution des populations CD4<sup>+</sup> et des LT- $\gamma\delta$ , notamment CD25<sup>+</sup>, avec une augmentation des CD8<sup>+</sup> et d'une population WC1<sup>+</sup> de LT-  $\gamma\delta$ .

## Partie bibliographique

Les LB et les leucocytes exprimant le CMH de classe II et CD11b étaient également réduits, ainsi que l'expression de CD11b et CD14 sur les granulocytes (Whist et al., 2003). Galino et ses collaborateurs (2010) ont démontré que lors d'une infection par *A. ovis* chez le cerf, 13 gènes sont été sur-exprimés. Ces gènes incluent ceux qui sont impliqués dans le contrôle de l'immunité innée (CD21, IL1B, ATP5B, CD80, PSEN1, PTEN), l'immunité adaptative (ADAM9, FOXP1, AP3B1, CD5L, LCK) ou les deux (TP53, VAV1), de plus des processus biologiques tels que la signalisation des cytokines, et le Jak-stat cascade, ont été affectées chez les cerfs infectés par *A. ovis*.

### VI.3.2 Mécanismes d'échappement immunitaire

La capacité des *anaplasmes* à échapper au système immunitaire, à se maintenir et à coloniser différents types cellulaires ou différents hôtes suppose que les bactéries sont capables d'interagir avec les molécules impliquées dans différents processus physiologiques de l'hôte.

#### 1. Évasion de la réponse immunitaire innée

Les anaplasmes sont dépourvues des peptidoglycanes et des lipopolysaccharides (Lin et Rikihisa, 2003 ; Rebaudet et Brouqui, 2008 ; Brown, 2012), qui sont deux composants principaux exprimés par la plupart des bactéries Gram négatives et qui activent les cellules phagocytaires via leurs récepteurs TLR (Toll-like Receptors). Ainsi, l'absence de ces molécules permet à cette bactérie de s'échapper aux composantes de l'immunité innée et sont par conséquent capables de pénétrer et de coloniser leurs cellules cibles (Brown, 2012). Cependant les anaplasmes développent des stratégies pour échapper à l'hôte des défenses innées comme l'apoptose. De même, *A. phagocytophilum* retarde l'apoptose spontanée des neutrophiles humains en inhibant la voie extrinsèque (inhibition du récepteur de la mort) et la voie intrinsèque en aval (inhibition de la caspase 8, translocation de Bax, caspase 9 et dégradation de XIAP) (Ge et Rikihisa, 2006). Au cours de l'infection par *Anaplasma*, l'activation de la protéine kinase activée par un mitogène p38 (MAPK38) provoque une inhibition de l'apoptose, activant l'expression de cytokines pro-inflammatoires (Choi et al., 2005). Les neutrophiles infectés par *A. phagocytophilum* induisent la voie phosphatidylinositol 3-kinase / Akt, permettant la libération d'IL-8 conduisant à l'inhibition de l'apoptose (Sarkar et al., 2012), deux effecteurs sont translocalisés dans les mitochondries et impliqués dans l'inhibition de l'apoptose (figure 5).

## Partie bibliographique

### 2. Évasion de la réponse immunitaire adaptative

#### 2.1 Les variations antigéniques

La persistance de l'infection est due en grande partie aux variations antigéniques, par des mécanismes de conversion génique, des antigènes immunodominants MSP2 et MSP3, chez *A. marginale*, aboutissant à l'émergence de nouveaux variants permettant ainsi une évaison de la réponse immunitaire déjà existante (Brown, 2012 ; Woldehiwet, 2010). Ce phénomène a été très clairement mis en évidence pour *A. marginale* avec les antigènes de surface MSP2. En effet, à chaque épisode bactériémique correspondent de nouveaux variants antigéniques MSP2 qui disparaissent ensuite à la faveur du contrôle de l'infection par l'immunité spécifique, avant que la bactérie n'échappe à nouveau au système immunitaire par l'émergence de nouveaux variants MSP2. L'immunité reposerait sur une réponse lymphocytaire de type humorale spécifique d'une zone de la protéine MSP2 codée par une région hypervariable des gènes *mSP2*. Le fait que les MSP2 soient disposées de manière multimérique à la surface des bactéries, que certains variants puissent réapparaître et perdurer de manière récurrente sans être éliminés par la réponse immunitaire et que certaines zones périphériques de la protéine puissent constituer des épitopes reconnus par les récepteurs des lymphocytes TCD4+, vient encore un peu plus complexifier ces mécanismes (Rebaudet et Brouqui, 2008 ; Brown, 2012).

### 3. Immunosuppression

L'infection par *A. phagocytophilum* est caractérisée par une immunosuppression généralisée, qui se manifeste par une leucopénie sévère due à une lymphocytopenie précoce, prolongée par une neutropénie et une thrombocytopenie (Woldehiwet, 1991). Les mécanismes causant cette immunosuppression sont probablement liés à la diminution du nombre de cellules blanches circulantes, mais également, à l'altération de certaines de leurs fonctions. Tout ceci conduit à une immunodépression favorisant les infections concomitantes (Woldehiwet, 2010 ; Kocan et al., 2010). Contrairement à *A. phagocytophilum*, *A. marginale* et *A. ovis* n'entraînent pas une immunosuppression généralisée et la diminution du nombre des leucocytes circulants n'a pas été rapportée (Brown, 2012, Jalali et al., 2016).

### V. Diagnostic

#### V.1 Diagnostic clinique et épidémiologique

Le diagnostic clinique est basé sur des éléments épidémiologiques (saisons et zones d'activité des tiques) et les symptômes (syndromes pyrétique non hémolytique et Anémie avec muqueuses blanc porcelaine,) (Morel, 2000 ; Gharbi et al., 2012). Le diagnostic différentiel se pose principalement avec la babésiose qui se manifeste le plus souvent par de l'hémoglobinurie (Camus et Uilenberg, 2010). L'infection par *A. ovis* chez les chèvres est caractérisée par une période d'incubation de 8 à 40 jours (Lestoquard, F. 1924.shompole et al., 1989), généralement l'infection soit asymptomatique que dans les cas des infections aigue, où elle peut se manifester par une débilité, dépression, anorexie, fièvre, dyspnée et une anémie à développement progressif, peut être suivie par la mort (shompole et al., 1989). En outre, Les formes aiguës sont décrites comme associée à des facteurs de stress comme la co-infection, le temps chaud, la vaccination, le déparasitage, lourde infestation par les tiques, le transport à longue distance et le mouvement des animaux (Khayat et Gilder 1947; Manickam, 1987; Friedhoff, 1997). En revanche L'infection par *A. ovis* peut prédisposer à d'autres maladies infectieuses et, ou parasitaires qui aggravent l'état d'un animal (Kocan et al., 2004). En effet, à ce jour il n'y a aucune étude qui montre l'infection symptomatique par des autres espèces d'*Anaplasma* chez les caprins mis appart l'infection par *A. ovis*.

#### V.2 Diagnostic de laboratoire

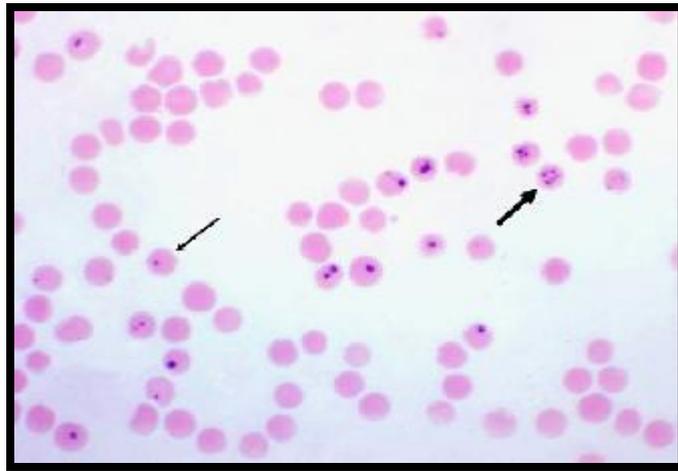
Le diagnostic de l'anaplasmose est basé sur la détection des corps d'inclusion des anaplasmes sur des frottis sanguins et par l'inoculation du sang chez des animaux splénectomisés ou sensibles, par une détection des anticorps dirigés contre les antigènes d'*Anaplasma spp.* dans le sérum et enfin par amplification génique (PCR).

##### V.2.1 Frottis sanguins

C'est la méthode la plus couramment utilisée pour le diagnostic des anaplasmes (OIE, 2008). Elle consiste en une analyse morphologique des cellules sanguines, préalablement étalées sur une lame en verre et colorées par la méthode de May-Grünwald Giemsa (Amiel et al., 2004). Il est important que les étalements soient bien préparés et qu'ils soient exempts d'impuretés. Ils doivent être préférentiellement préparés à partir de sang pris à partir de la veine jugulaire ou au niveau d'autres gros vaisseaux (OIE, 2008). Le pourcentage des cellules infectées varie avec le

## Partie bibliographique

stade et la sévérité de la maladie. Les corps d'inclusion intraérythrocytaires soient bien clairs lorsque la bactériémie dépasse de 0,1 à 0,2%. Cette méthode est efficace lors un prélèvement au cours de la phase aiguë de la maladie, mais elle est inefficace pour la détection des animaux présymptomatique et transporteurs (OIE, 2008). Cependant, les anaplasmes manquent des caractéristiques morphologiques distinctifs, elles doivent être distinguées des artéfacts de coloration, des plaquettes superposées à un polynucléaire ou à un érythrocyte (Camus et Uilenberg, 2010) et les corps de Howell-Jolly. Le frottis sanguin est une méthode simple, de réalisation rapide et peu coûteuse, elle est caractérisée par une bonne spécificité, mais sa sensibilité reste insuffisante (Amiel *et al.*, 2004).



**Figure 06:** Inclusions intra érythrocytaire d'*A.ovis* sous microscope optique (Goda et al. 2009)

### V.2.2 Culture et isolement

De toute évidence, la mise en évidence de la bactérie en culture est la méthode de choix pour le diagnostic bactériologique pour les anaplasmes. L'inoculation du sang des animaux splénectomisés ou malades est un moyen efficace pour les détecter.

Isolement et/ou la culture de certaines espèces d'*Anaplasma* est possible *in vitro* avec des granulocytes ou leurs précurseurs (Woldehiwet et Scott, 1982), plusieurs lignées de cellules sanguines humaines (HL-60, KG-1, THP-1) et des lignées de cellules adhérentes des tiques (IDE8, ISE6) (Goodman *et al.*, 1996 ; Munderloh *et al.*, 1996 ; Kocan *et al.*, 2010). Mais, encore aujourd'hui, il ne peut pas être utilisé en routine car il est coûteux et prend du temps et peu de laboratoires possèdent l'équipement pour la réaliser (Goodman *et al.*, 1996). De plus, il faut plusieurs jours, voire semaines, avant de pouvoir identifier les bactéries en culture et une

## Partie bibliographique

confirmation du diagnostic est nécessaire. Cette confirmation passe par une PCR suivie d'un séquençage de gènes spécifiques de la bactérie (Dumler et Brouqui, 2004).

### IV.2.3 Tests sérologiques

Les infections à *Anaplasma* persistent généralement pendant toute la vie de l'animal. Cependant, sauf dans certains cas de recrudescence, *Anaplasma* peut être aisément détecté dans des étalements sanguins après l'épisode de bactériémie. Aussi un certain nombre d'épreuves sérologiques ont été développées avec pour but la détection d'animaux infectés de manière permanente (OIE, 2008). Un kit commercialisé (cELISA) a été prouvé être fiable pour tester les petits ruminants domestiques infectés par les anaplasmes (Ndung'u et al., 1995 ; Knowles et al., 1996 ; Scoles et al., 2008 et Ngeranwa et al., 2008). Ce test est basé sur l'utilisation d'une protéine de surface principale (rMSP 5) comme un épitope de lymphocytes B et l'anticorps monoclonal spécifique anti-MSP5 (Ndung'u et al., 1995 ; Goda et al. 2009). Il est évident que ce test détecte des anticorps sériques dirigés contre *A. ovis*, *A. marginale*, et *A. centrale* car elles expriment toutes l'antigène MSP5 (Visser et al., 1992). Cependant, l'identification d'une espèce particulière entre *A. marginale*, *A. centrale*, et *A. ovis* nécessite d'autres tests tels que la PCR (Lee et al., 2015). En ce qui concerne la spécificité et la sensibilité ; elles sont élevées (98% et 95% respectivement) (Aubry et Geale, 2011). Pour déceler une infection à *A. phagocytophilum*, le test le plus couramment utilisé est l'IFAT. Il consiste à faire réagir le sérum d'un animal suspecté après différentes dilutions sur une préparation de cellules infectées ; la fixation est révélée par un conjugué marqué par un fluorochrome. Les immunoglobulines de classe G (IgG) sont détectables à partir de 21 jours après la primo-infection et persistent environ 4 mois (Pitel et al., 2008). L'inconvénient de ce test IFAT réside, comme pour le test cELISA, dans la possibilité de réactions croisées avec les autres anaplasmes, mais aussi la subjectivité dans l'évaluation du degré de fluorescence. Malgré ses inconvénients, cette technique fait toujours référence compte-tenu de sa grande sensibilité et sa bonne spécificité (goff et al., 1993).

D'autres épreuves sérologiques ont été également développées, telles que l'épreuve d'agglutination sur carte et la fixation du complément (FC) Cependant, ce test est difficile à réaliser et il est tombé en désuétude. (McGuire et al., 1984, palmer et al., 1998, OIE, 2008 ; McGuire et al., 1984).

## Partie bibliographique

### 4.2.4 Méthodes de biologie moléculaire

Les approches sérologiques portent encore le risque de réactions croisées avec des agents pathogènes étroitement liés, et ça nécessite d'autres tests plus précis tels que le séquençage et l'amplification multi-géniques. En ce qui concerne les méthodes de détection de nucléotides, une méthode basée sur une sonde d'ADN a été établie et utilisée pour identifier les chèvres infectées. Cependant, la sensibilité limitée de la sonde peut empêcher la détection d'une infection persistante des chèvres porteuses avec rickettsiémie à un bas niveau (Shompole et al., 1989). En outre, une amplification isotherme à médiation par boucle (LAMP), sensible et spécifique pour la détection d'*A. ovis* a été décrite (Ma et al., 2012). De plus, de nombreux tests de PCR visant à détecter les anaplasmes via des amorces dérivées de différents gènes ont été développés, tels que la PCR standard, RT-PCR, PCR-ELISA. Le gène le plus souvent recherché pour *A. ovis* est le MSP4 (torina et al., 2012) ; Dahmani et ses collaborateurs, ont développé également un nouvel outil qPCR ciblant le gène de 23S ARNr, afin de détecter les bactéries *Anaplasmataceae* (Dahmani et al., 2015). Pour *A. marginale*, les gènes les plus souvent recherchés sont : MSP4, MSP1 $\alpha$  et MSP1b (Aubry et Geale, 2011) et *rrs* (ARN 16S), *mSP2* (p44), *mSP4* et *anKA* pour *A. phagocytophilum* (Rebaudet et Brouqui, 2008 ; Rymaszewska, 2011). Ces analyses sont réalisables à partir des prélèvements du sang total, mais aussi sur des échantillons d'organes, dont la rate ou encore la moelle osseuse (Pitel et al., 2008). Ces techniques sont très sensibles et spécifiques et permettent notamment l'identification des animaux porteurs chroniques. Elles sont en outre rapides et automatisables, mais demeurent coûteuses et l'absence de standardisation rend leur interprétation difficile (Rebaudet et Brouqui, 2008 ; Camus et Uilenberg, 2010).

## IIV. Moyens de lutte

### IIV.1 Traitement

Les anaplasmes étant des bactéries intracellulaires strictes, leur traitement repose sur la mise en place d'une antibiothérapie à action intracellulaire. Une intervention précoce est le meilleur traitement contre l'anaplasmosé. Le médicament de choix est l'oxytétracycline et le chlorhydrate de tétracycline administrés par voie intramusculaire pendant 3 à 5 jours. Un traitement symptomatique peut être instauré en fonction des signes cliniques observés (Camus et Uilenberg, 2010 ; Stuen et al., 2013). L'efficacité des traitements dépend de la précocité du diagnostic et de l'administration rapide (au début de la maladie) de médicaments appropriés. Rajasokkappan et Selvaraju, en Inde (2016), ont traité des caprins symptomatique atteints par *A. ovis*, par la tétracycline (20 mg/kg par semaine pendant 2 à 4 semaines) et l'imidocarbe de

## Partie bibliographique

et il a été efficace. Ainsi, Goda et ses collaborateurs (2009) ont traité l'anaplasmose caprine par la terramycine (200mg/Kg) en Egypte, après l'administration de ce dernier ils ont constaté une augmentation de nombre des globules rouges et par conséquent l'augmentation de taux d'hémoglobine.

### **IIV.2 Prophylaxie**

En ce qui concerne la prévention de la maladie, elle se fait par le contrôle des tiques, comme toutes les maladies vectorielles et une chimio-prophylaxie avant chaque saison de mousson aux pays tropicaux, aussi l'administration prophylactique de la tétracycline est considérée comme la mesure de choix dans les zones où il y'a un foyer (Rajasokkappan et Selvaraju, 2016). Cependant, jusqu'à présent aucun nouveau vaccin ciblant les protéines de surface d'*A. ovis* n'a été développé (Goda et al., 2009).

# *Partie expérimentale*

# *Matériel et méthodes*

## I. Cadre et objectifs

Jusqu'à ce jour, aucune étude n'a été effectuée en Algérie sur l'anaplasmose caprine et les données sur sa prévalence est particulièrement rare voire absente.

Le présent travail a été effectué au nord-est algérien (les wilayas de Guelma et d'El-taref) et avait pour objectif général d'apporter une contribution originale à la connaissance des espèces circulantes d'*Anaplasma* chez les caprins notamment *A. ovis* et/ou *A. marginale* dans cette région, identifier les mécanismes et les facteurs de risque pouvant influencer sur la transmission de cette maladie afin d'en améliorer la prévention et le contrôle.

Les objectifs spécifiques assignés à cette étude sont :

- A. Mettre en évidence la prévalence d'*A. ovis* et/ou *A. marginale* et étudier la réponse en anticorps dans le cas d'anaplasmose érythrocytaire dans les élevages caprins au nord-est algérien.
- B. Déterminer les indicateurs ou les facteurs de risque susceptibles de favoriser la transmission de cette maladie.
- C. Identifier et recenser les différentes espèces de tiques (Ixodina) récoltées.
- D. Étudier la relation entre la présence de tiques et la prévalence d'*Anaplasma* spp. chez les caprins.

## II. Matériels et méthodes

### II.1. Présentation de la zone d'étude et animaux

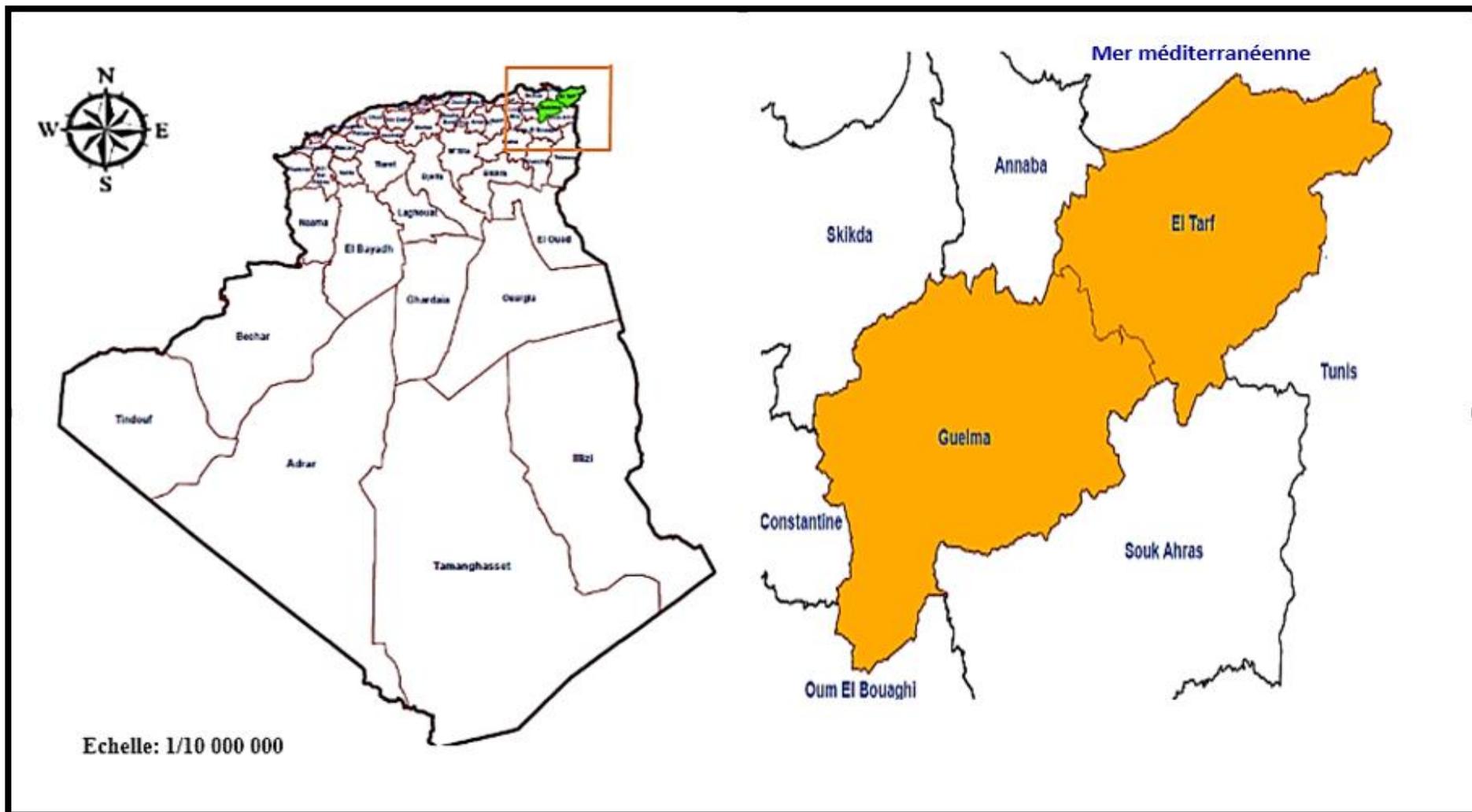
Nous avons effectué notre étude au nord-est algérien et nous avons choisi 2 wilayas de l'est algérien qui sont la wilaya de Guelma et la wilaya d'El-taref. La wilaya de Guelma est située sur une superficie de 3.686,84 Km<sup>2</sup>, Elle est délimitée au nord par La Wilaya d'Annaba, à l'ouest par La Wilaya de Skikda, et la wilaya de Constantine, au sud par La Wilaya d'Oum-El-Bouagui, à l'est par la wilaya de Soukahrass et par la wilaya d'El-Taref. Le territoire de la Wilaya renferme actuellement 34 communes qui constituent les unités territoriales et 10 Dairas, Le territoire de la Wilaya se caractérise par un climat sub-humide au centre et au Nord et semi-aride vers le Sud. Ce climat est doux et pluvieux en hiver et chaud en été. La température qui varie de 4° C en hiver à plus de 35° C en été est en moyenne de 17,3° C. la géographie de la Wilaya se caractérise par un relief diversifié dont on retient essentiellement une importante couverture forestière et le passage du oued Seybouse qui constitue le principal

cours d'eau. Ce relief se décompose par des montagnes (37,82 %), plaines et plateaux (27,22 %), collines et piémonts (26,29 %) et Autres (8,67 %).

La wilaya d'El Tarf est située à l'extrême nord-est de l'Algérie à la frontière tunisienne ; sur une superficie de 3339 km<sup>2</sup>, Elle est délimitée au nord, par la mer Méditerranée à l'est, par la Tunisie au sud, par la wilaya de Souk Ahras, au sud-est, par la wilaya de Guelma et à l'ouest par la wilaya d'Annaba. Le territoire de la Wilaya renferme actuellement 24 communes qui constituent les unités territoriales et 07 Dairas, Le climat de la wilaya est généralement humide, il se décline du nord au sud de la façon suivante : une zone côtière qui jouit d'un climat chaud et humide ; une zone de montagne qui occupe l'essentiel de la wilaya et jouit d'un climat humide doux au nord et frais au sud. Le taux de précipitation annuel est de 900 à 1200ml.

La zone étudiée possède au totale un effectif de 112740 têtes de caprins, dont 69200 têtes à Guelma et 43540 à El-Taref (DSA, 2015).

Le mode d'élevage est généralement de type extensif. Les animaux sont nourris au foin, au son et à l'herbe pendant la saison de pâturage. Celle-ci va de mars à décembre avec des variations suivant les conditions climatiques. L'association de l'élevage des caprins à celui des ovins est fréquente dans cette région, ainssi la cohabitation avec les chiens.



**Figure 07:** Situation géographique de la région d'étude.

### I.3. Plan d'échantillonnage et prélèvements

Notre étude épidémiologique est de type transversal (a cross-sectional study), elle a eu lieu durant la période allant de Mars jusqu'à septembre 2016.

L'échantillonnage a été réalisé en trois étapes ; dans un premier lieu, nous avons choisi deux wilayas de l'est algérien et 15 communes aléatoirement. Par la suite nous avons effectué encore un choix aléatoire des fermes à partir d'une liste des éleveurs de caprins de la région. Le but était d'avoir une répartition homogène des élevages sélectionnés sur la zone d'étude. Par la suite, le nombre de caprins à prélever dans chaque ferme a été défini en fonction du nombre total de caprins présents dans celle-ci : soit la ferme comprenait moins de 10 caprins et dans ce cas tous les caprins étaient prélevés, soit la ferme contenait plus de 10 caprins et dans ce cas, au moins 10 individus étaient prélevés. L'objectif était d'avoir un échantillon représentant au moins 10% de l'ensemble des individus présent dans chaque ferme visitée.

Le choix des caprins prélevés au sein de chaque élevage a été réalisé au hasard. À l'exception des chevreaux âgés de moins de 3 mois qui ont été écartés de l'étude afin d'éviter une éventuelle détection d'anticorps colostraux (OMACAP, 2015). Ce processus nous a permis de réaliser un échantillonnage aléatoire de 198 prélèvements sanguins de caprins âgées entre 4 mois à 07 ans provenant de 15 communes situées dans les wilayas de Guelma et d'El-taref (11 communes et 4 communes respectivement) et issus de 23 exploitations caprines (14 de Guelma et 9 d'El-taref). Si on se réfère au chiffre des Directions des services agricoles de 2015, le taux d'échantillonnage réalisé a été d'environ 0.62% pour les caprins (n=31567).

### II.4. Établissement d'un questionnaire

Un questionnaire épidémiologique a été distribué à l'éleveur afin de révéler l'état des fermes visitées et les conditions d'élevage, aussi les caractéristiques des animaux ; de plus, un examen clinique a été réalisé sur chaque animal prélevé, qui a consisté à prendre sa température rectale et de noter d'éventuels symptômes cliniques évoquant l'anaplasmose (fièvre, anémie, avortement etc...).

Ce questionnaire comporte des éléments en relation avec :

- Les fermes visitées (type de stabulation, type de production, présence d'avortement ou non, traitement antiparasitaire et antibactérien ; cohabitation avec autres animaux.....).
- Les caprins prélevés (âge, origine, sexe, couleur de robe, gestation, signes cliniques...

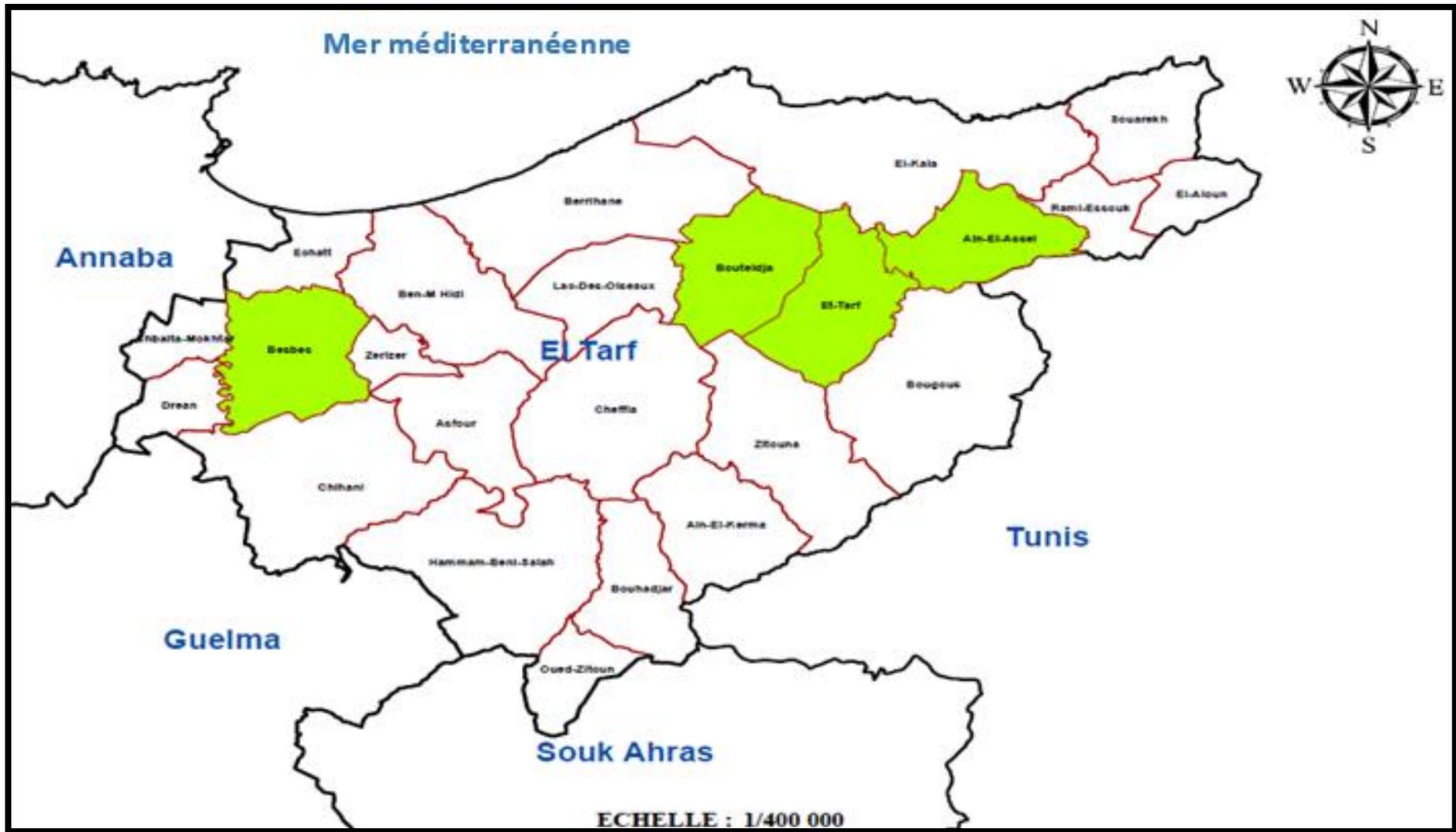
## II.5. Description du cheptel prélevé

L'échantillon comprenait 128 femelles (64.64%) et 70 mâles (34.34%). Les animaux ont été répartis en trois classes d'âge : <6mois (4%), 6 à 12 mois (30.8%) et plus de 12 mois (65.6%).

Nos prélèvements ont concerné 15 communes réparties dans les 3 zones agroécologiques (AGE) de la région nord-est algérienne. Le tableau ci-dessous reprend le nombre des fermes prélevées par commune et par zone AGE.

**Tableau 04:** Le nombre des fermes prélevées par commune et par zone AGE.

Région AGE	Commune	Nbr de fermes prélevées	Nbr de caprins prélevés
Humide	<b><u>Guelma</u></b>		
	Hemmam dbagh	01	06
	<b><u>El-taref</u></b>		
	Ain la-assel	03	29
	Elt-aref	03	32
	Besbesse	01	08
	Bouteldja	01	08
<b>Prévalence</b>		<b>40.90%</b>	<b>41.9%</b>
Subhumide	<b><u>Guelma</u></b>		
	Ain arbi	03	33
	Ain makhlouf	02	19
	Bordj sabat	01	09
	Bouhamdan	01	10
<b>Prévalence</b>		<b>31.81%</b>	<b>35.9%</b>
Semi-Aride	<b><u>Guelma</u></b>		
	Ain sandel	01	06
	Ain regada	01	06
	Oued znati	01	06
	Nechmaia	01	07
	Bouhachana	01	09
	tamlouka	01	10
<b>Prévalence</b>		<b>27.27%</b>	<b>22.2%</b>



**Figure 08:** Situation géographique des communes de la wilaya d’El-tarf dans la région d’étude.

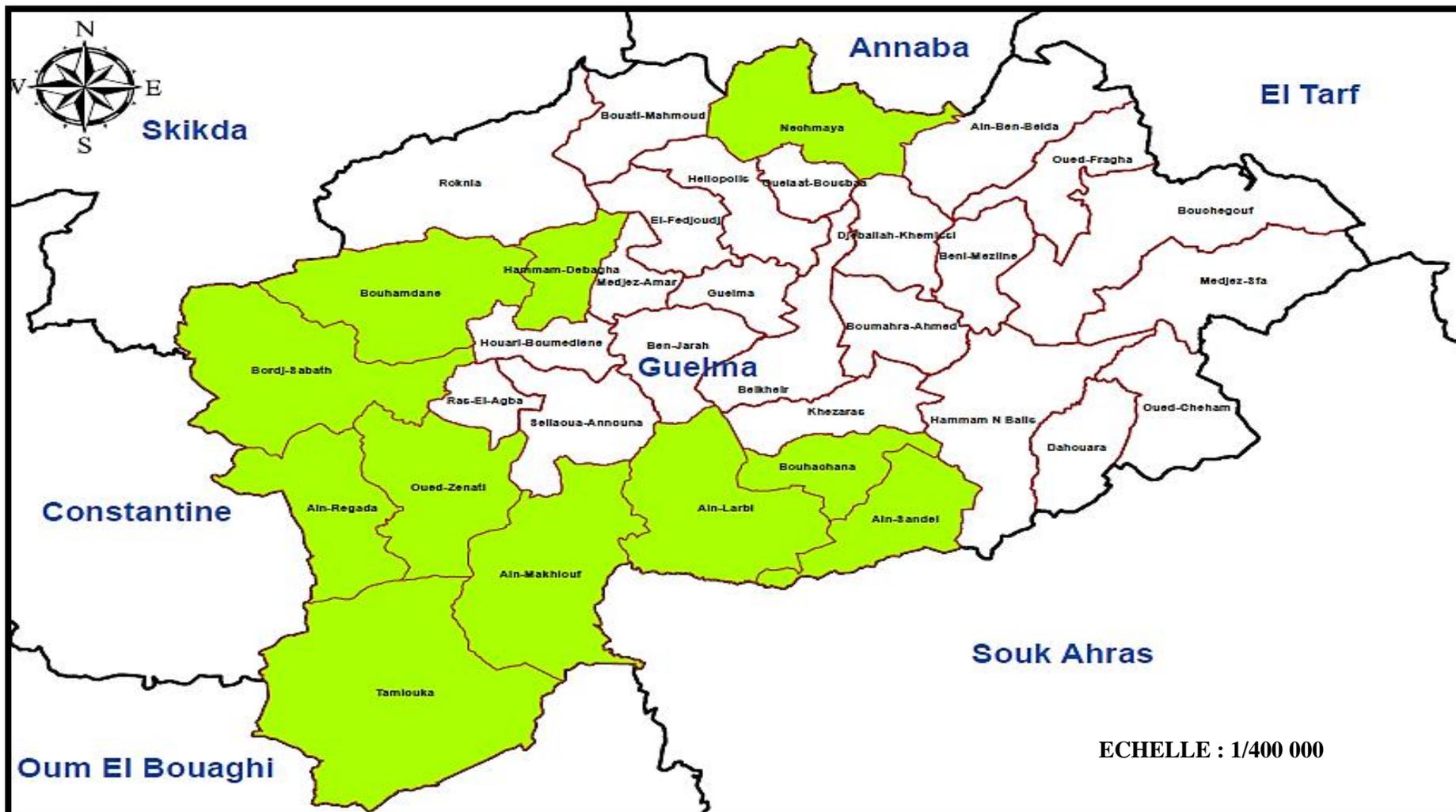


Figure 09: Situation géographique des communes de la wilaya de Guelma dans la région d'étude.

## II.6. Nature et préparation des prélèvements

### II.6.1. Nature et préparation des prélèvements

Pour les prélèvements sanguins, nous avons ponctionné à partir de la veine jugulaire, le sang a été recueilli dans 2 tubes à système vacutainer différents (5 ml dans chaque tube). Un tube sec (système vacutainer sous vide réf : 454092) pour la collecte de sérum et un tube EDTA (système vacutainer avec présence d'acide tétra-acétique éthylène diamine réf : 454036) pour la collecte du sang total. Sur chaque animal, un frottis sanguin mince a été réalisé à partir du sang total collecté.

Les tubes de prélèvements et les lames ont été étiquetés selon un code faisant ressortir la localisation de l'élevage, le numéro d'élevage et le numéro de l'animal prélevé. Après avoir la séparation du sérum dans les tubes secs, Les sérums obtenus ont été transférés immédiatement dans des tubes eppendorf® et stockés dans un congélateur à -20°C.

Les échantillons ont été transportés et acheminés vers le laboratoire de parasitologie-mycologie de l'ENSV dans une glacière à 4°C.

### II.6.2. Technique du frotti sanguin

Pour chaque caprin, un frotti sanguin a été réalisé à partir du sang veineux. Les étalements qui ont été réalisés consistent à déposer une goutte de sang près de l'extrémité de la lame, une 2ème lame est approchée et placée devant la goutte de sang, sous un angle de 30 à 45°. La goutte de sang va s'étendre le long de son bord par capillarité, puis déplacée d'un mouvement uniforme vers l'avant en glissant sur la 1ère lame.

Les étalements de sang sont séchés à l'air, fixés dans du méthanol absolu pendant 5 min, et ensuite colorés par le Giemsa, on recouvre la lame d'une solution de Giemsa diluée dans de l'eau distillée (10 gouttes de Giemsa dans 15 ml d'eau distillée) et enfin, on jette 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.

La fixation et la coloration des lames ont été réalisées le jour même de leur réalisation pour une meilleure sensibilité de la méthode (Uilenberg, 2004 ; OIE, 2008).

Tous les étalements colorés ont été par la suite examinés attentivement au microscope optique sous huile à immersion en utilisant l'objectif x100. Le pathogène a été identifié selon les critères morphologiques décrits par les différentes publications de l'OIE (2010 ; 2012).

### II.6.3 Analyses sérologiques

Le test sérologique a été réalisé au sein du Laboratoire de microbiologie de l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger. Après décongélation des sérums à température ambiante, nous avons procédé aux analyses sérologiques des 182 sérums en utilisant un kit commercial pour la détection des anticorps spécifiques d'*A. ovis* et *A. marginale*.

Nous avons utilisé un test commercial ELISA-c (*Anaplasma* Antibody Test Kit, cELISA, VMRD, Pullman, Washington, USA), basé sur un antigène de surface majeur recombiné rMSP5 et l'anticorps monoclonal spécifique anti-MSP-5. Il s'agit du test sérologique recommandé par l'OIE (2008, 2012). Pour analyser 182 sérums, nous avons utilisé deux microplaques de 96-puits fixés avec l'antigène rMSP5, en suivant les instructions du fabricant, les contrôles positifs et négatifs ont été fournis par le fabricant.

Nous avons procédé comme suit : les sérums à tester et les sérums témoins non dilués ont été incubés dans la plaque fixée avec l'antigène rMSP5 à 23°C pendant 60 min. Par la suite, la microplaque a été lavée avec du tampon de lavage dilué. L'anticorps monoclonal, dilué et conjugué à la peroxydase, a été additionné ensuite incubé à 23°C durant 20 min. Un deuxième lavage a été fait avec du tampon de lavage dilué. La réaction immuno-enzymatique a été révélée par addition et incubation pendant 20 min d'une solution contenant le substrat. La réaction est arrêtée par l'addition de solution stop.

La densité optique a été déterminée au moyen d'un lecteur ELISA à la longueur d'onde de 620 nm. Les densités optiques (DO) obtenues ont été converties en pourcentages d'inhibition (PI), calculés selon une formule indiquée par le fabricant. Le seuil de positivité (*cut off*) est déterminé, également par le fabricant à 30%, ainsi les échantillons dont le pourcentage est inférieur à 30% sont négatifs et ceux dont le pourcentage est supérieur à 30% sont positifs.

### II.7. Récolte et identification des tiques

Tous les caprins prélevés ont été examinés pour la présence de tiques. Celles-ci ont été récoltées sur l'animal vigile de façon mécanique sans qu'aucune substance (éther, acaricide, etc...) ne soit préalablement appliquée sur le parasite. Les tiques récoltées ont été alors conservées individuellement pour chaque animal dans des tubes identifiés remplis d'éthanol à 70°. Une fois au laboratoire de parasitologie de l'ENSV, chaque tique a été observée sous la loupe binoculaire (OPTIKA) pour la diagnose. L'identification des spécimens a été réalisée au niveau du genre et de l'espèce selon les clés taxonomiques élaborées par Walker et *al.* (2003) et Meddour-Bouderda et Meddour (2006).

## II.8. 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).

## II.9. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été menées grâce au logiciel statistique SPSS (version 20). Les prévalences calculées ont été estimées à 95% d'intervalle de confiance (IC95%). Une analyse univariée a été effectuée pour chaque facteur de risque en utilisant le test  $\chi^2$ , ou dans certains cas le test de Fisher exact. Les différences observées ont été considérées comme significatives quand la valeur de  $P$  était inférieure à 0,05.

Les comparaisons des méthodes avec le calcul de la spécificité, la sensibilité, l'exactitude, valeur prédictive positive, valeur prédictive négative, McNemar et du Kappa de Cohen ont été réalisées par le logiciel SPSS 20.

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 considéré comme significativement différent du test de référence lorsque  $P < 0,05$  (Kirkwood et Sterne, 2003).

# *Résultats*

### III. Résultats

#### III.1. Étude des prévalences des infections par *Anaplasma* spp

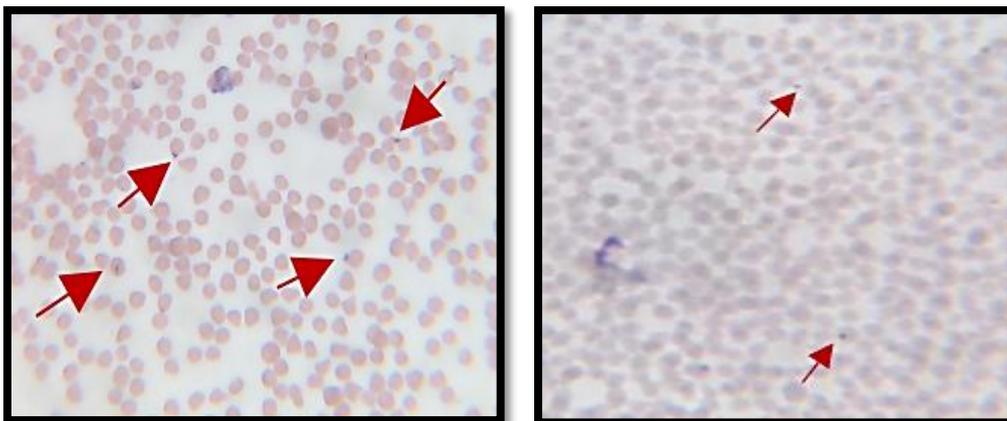
Pour étudier la prévalence des infections par *Anaplasma*, nous avons utilisé deux techniques différentes : le frottis sanguins (FS) qui est une technique de diagnostic directe permettant la mise en évidence des différentes espèces érythrocytaires d'*Anaplasma* et la sérologie qui est une méthode de diagnostic indirecte utilisée pour la détection des anticorps spécifiques dirigés contre *Anaplasma* spp. (*A. ovis*, *A. marginale*, *A. central*).

##### III.1.1. Étude de prévalence par frottis sanguins

Parmi les 198 caprins prélevés, seulement 128 frottis ont été faits en utilisant la coloration de Giemsa. Le reste des prélèvements n'a pas été fait en raison des obstacles du travail tel que la difficulté de la lecture après avoir réalisé des frottis trop mince ou trop épais qui empêche d'une façon à une autre la lecture sous microscope optique.

La coloration Giemsa a permis de mettre en évidence nos hémopathogènes identifiés par leur aspect morphologique et sa localisation dans les érythrocytes. La coloration Giemsa a permis d'observer des éléments denses de forme ronde et fortement colorés à localisation intra-érythrocytaire. La plupart de ces corps sont localisés au centre et/ou proche du bord des érythrocytes (Figure 10).

Les résultats ont révélé que 54 caprins étaient positifs pour *Anaplasma* spp intra-érythrocytaire, correspondant à une prévalence globale de 42.18% (IC 95%, 29% et 55.4%). Nous n'avions pas pu distinguer entre nos hémopathogènes étudiés par la technique de Giemsa.



**Figure 10:** *Anaplasma* spp identifiée sur frottis sanguins colorés au Giemsa, oculaire x8 et objectif x100 (photos zoomées) (Photos Personnelle, 2016).

### III.1.2. Étude des facteurs de risque liés à la technique FS

Cette étude, nous a permis d'étudier les facteurs de risque qui semblent augmenter le risque de la positivité vis-à-vis d'*Anaplasma* spp. Le tableau (5) résume tous les résultats obtenus de l'analyse des facteurs de risque liés à l'infection par *Anaplasma* spp.

L'analyse détaillée des résultats montre ce qui suit :

- Les prévalences vis-à-vis d'*Anaplasma* spp n'ont pas variés de façon statistiquement significative en fonction du sexe ( $p=0.20$ ) de l'âge ( $p=0.365$ ), de l'infestation par les tiques ( $p=0.406$ ) et de la couleur de la robe ( $p=0.19$ ).
- Ainsi, la prévalence a varié de façon significative en fonction de la saison, on remarque qu'il y a une influence très significative sur la prévalence d'*Anaplasma* spp ( $p=0.015$ ). Le taux de l'infection est nettement plus élevé en automne avec une prévalence de 72.22%, par rapport au printemps et été, où on a enregistré les prévalences de 43.33%, 35% respectivement (figure 12).
- Le facteur gestation a été étudié pour un certain nombre de chèvres (87 chèvres) et il a révélé qu'il existe une association très significative entre le statut de gestation et la prévalence à *Anaplasma* spp. ( $p=0.002$ ), en effet, les chèvres gestantes sont plus positives (77.77%) par rapport à celles non gestantes qui présentent uniquement 37.68% de positivité.
- Le facteur d'avortement a été également étudié pour les 87 chèvres et il s'est avéré qu'il influence très significativement ( $p=0.002$ ) sur les infections à *Anaplasma* spp. En effet, les chèvres avortées présentent une positivité (81.25%) plus élevée à celles des chèvres non avortées qui présentent uniquement 38.2% des cas positifs.
- En revanche, les prévalences vis-à-vis d'*Anaplasma* spp ont variés de façon statistiquement significative en fonction des conditions climatiques ( $p=0.000$ ). La zone subhumide présente la prévalence la plus élevée (78.37%) par rapport à celles de zone semi-aride et humide (33.33%, 23.7% respectivement).
- Si on considère la prévalence en fonction des communes investiguées, on note qu'il y a des communes plus exposées que d'autres. Citant l'exemple de la commune de Ain makhoulouf et la commune de Ain el-arbi situées dans la wilaya de Guelma, et celle d'Ain la-assel située dans la wilaya d'El-taref qui ont présenté les taux les plus élevés de l'infection (34.21%, 28.94% et 11.76% respectivement) contrairement à la commune de Bouhachana (Guelma) et de Besbesse (El-taref) qui ne présentent aucun cas positif vis-à-vis d'*Anaplasma* spp.

Les résultats par frottis sanguins obtenus en fonction des communes sont repris dans le tableau (6) et la figure (12).

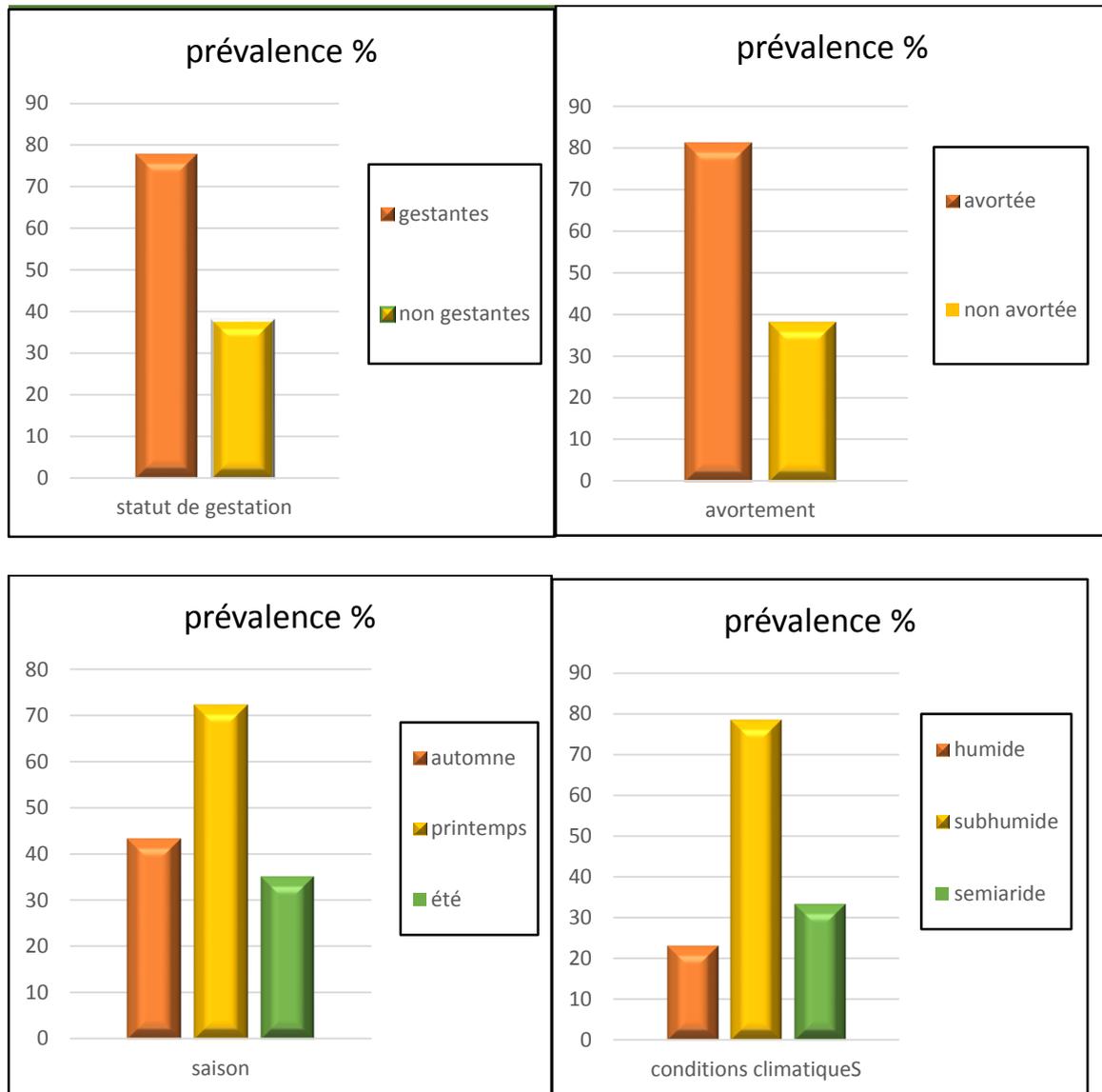
- Pour le facteur état d'hygiène de la ferme, aucune différence significative ( $p=0.671$ ) entre les fermes qui ont une bonne hygiène, hygiène moyenne et mauvaise hygiène n'a été révélée.
- Enfin, aucune différence significative ( $p =0.497$ ) entre le mode d'élevage extensif et semi extensif n'a été observée : le mode extensif (44.14%), le mode semi extensif (38.29%).

**Tableau 05:** Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une infection à *Anaplasma* spp. par frottis sanguins.

Variables	Catégorie	Fréquences observées			Séroprévalence (%) (IC95%)	Valeur « P »	Signification
		totale	(+)	(-)			
Sexe	Male	41	14	27	34.14 (19.6 et 48.7)	0.206	NS
	Femelle	87	40	47	45.97 (53.5 et 56.9)		
Age	<6mois	4	3	1	75 (-32.9 et 117.4)	0.365	NS
	6mois-12mois	41	18	23	43.90 (28.7 et 59.1)		
	>12mois	83	33	50	39.75 (29.2 et 50.3)		
Type d'élevage	Extensif	81	36	45	44.44 (33.6 et 55.3)	0.497	NS
	Semi extensif	47	18	29	38.29 (7 et 29)		
Statut de gestation	Gestante	18	14	4	77.77 (58.6 et 97)	0.002	TS
	Non	69	26	43	37.68 (26.2 et 49.1)		
Avortement	Oui	16	13	3	81.25 (62.25 et 100.4)	0.002	TS
	Non	71	27	44	38.02 (26.7 et 49.3)		
Tiques	Présence	48	18	30	37.5 (23.8 et 51.2)	0.406	NS
	Absence	80	36	44	45 (34.1 et 55.9)		

Saison	Automne	18	13	5	72.22 (51.5 et 92.9)	0.015	S
	Printemps	30	13	17	43.33 (25.6 et 61.1)		
	Eté	80	28	52	35 (24.5 et 45.5)		
Couleur de robe	Noire	68	28	40	41.17 (29.5 et 52.9)	0.199	NS
	Blanche	24	14	10	58.33 (38.6 et 78.6)		
	Noire et blanche	13	4	9	30.76 (5.7 et 55.8)		
	Blanche et noir	11	5	6	45.45 (16 et 74.9)		
	Noire et marron	1	0	1	0		
	Roue	11	2	9	18.18 (-4.6 et 41)		
Etat d'hygiène	Bonne	78	33	45	42.30 (31.3 et 53.3)	0.671	NS
	Moyenne	47	19	28	40.42 (26.4 et 54.4)		
	mauvaise	3	2	1	66.66 (13.3 et 120)		
Conditions climatiques	Humide	52	12	40	23.07 (11.6 et 34.5)	<b>0.000</b>	<b>TS</b>
	Sub humide	37	29	8	78.37 (65.1 et 91.6)		
	Semi haride	39	13	26	33.33 (22.2 et 44.5)		
Mode d'élevage	Extensif	81	36	45	44.44 (33.6 et 55.3)	<b>0.497</b>	NS
	Semi extensif	47	18	29	33.3 (20.7 et 45.9)		

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

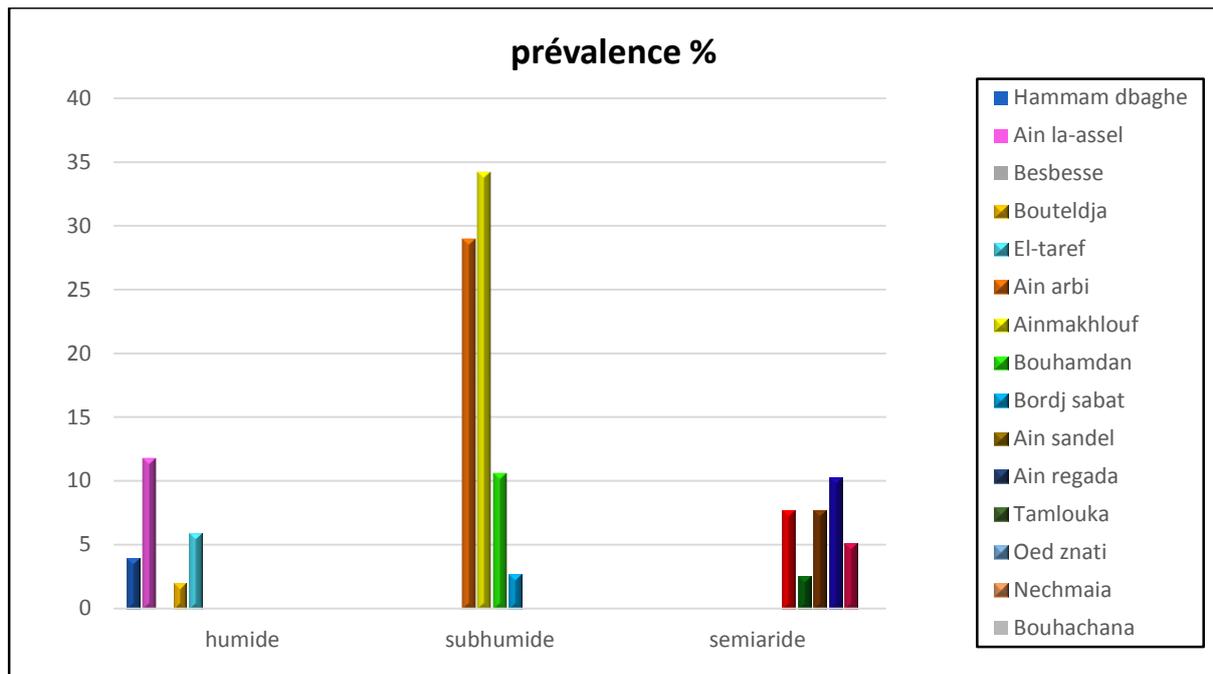


**Figure 11:** Variation de la prévalence par frottis sanguins vis-à-vis d'*Anaplasma* spp. en fonction du statut de gestation, avortement, saison et conditions climatiques.

**Tableau 06:** Répartition des séroprévalences vis-à-vis d'*Anaplasma* spp.en fonction des communes.

<i>Zones</i>	<b>Nombre de positifs</b>	<b>Séroprévalence (%) (IC 95%)</b>
<b><u>Humide</u></b>		
<i>Hammam dbaghe</i>	2/3	3.92% (-13.9% et 19.9%)
<i>Ain la-assel</i>	6/19	11.76% (-2.7% et 26.2%)
<i>Besbesse</i>	0/4	-
<i>bouteldja</i>	1/4	1.96% (-7.3% et 23.9%)
<i>El-taref</i>	3/21	5.88% (-11.6% et 15.5%)
<b><i>P</i></b>		<b>0.171 (NS)</b>
<b><u>Subhumide</u></b>		
<i>Ain arbi</i>	11/15	28.94% (6% et 51.9%)
<i>Ain makhlouf</i>	13/14	34.21% (9.4% et 59.1%)
<i>Bouhamdan</i>	4/5	10.52% (-16.4% et 37.4%)
<i>Bordj sabat</i>	1/4	2.63% (-13.1% et 18.3%)
<b><i>P</i></b>		<b>0.135 (NS)</b>
<b><u>Semi-aride</u></b>		
<i>Ain sandel</i>	3/6	7.69% (-13.6% et 29%)
<i>Ain regada</i>	1/6	2.56% (-11.2% et 21.4%)
<i>Bouhachana</i>	0/8	-
<i>Nechmaia</i>	2/7	5.12% (-4.2% et 35%)
<i>Oued znati</i>	4/6	10.25% (-14% et 34.5%)
<i>Tamlouka</i>	3/6	7.69% (13.6% et 29%)
<b><i>P</i></b>		<b>0.097 (NS)</b>
<b><i>Total</i></b>	54/128	42.18% (45.4% et 62.6%)

NS : non significatif ( $p > 0,05$ ).



**Figure 12:** Distribution des caprins positifs par frottis sanguins vis-à-vis d'*Anaplasma* spp. par commune.

### III.2 Étude de la séroprévalence vis-à-vis *Anaplasma* spp par cELISA

#### III.2.1. Séroprévalence globale

Sur les 182 sérums caprins testés en cELISA, 142 étaient positifs vis-à-vis d'*A. ovis* et/ou *A. marginale*, ce qui correspond à une séroprévalence globale de 78.02% (71.2% et 48.8%).

Les facteurs de risque associés à l'infection par *Anaplasma* spp. a été également étudié dans ce travail.

#### III.2.2 Étude des facteurs de risque liés à cELISA

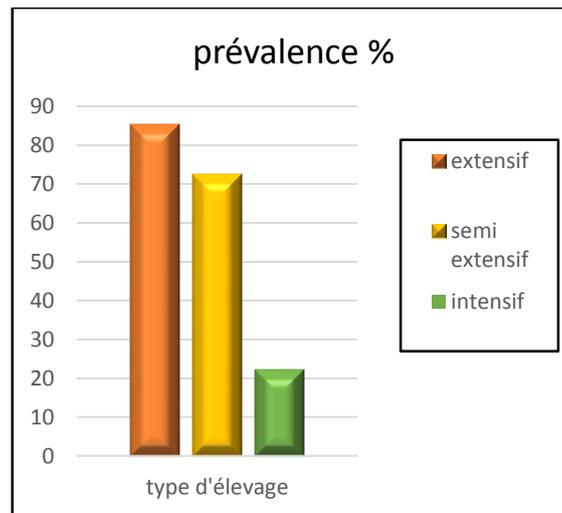
Nous avons vérifié si les facteurs suivants : le sexe, l'âge, le type d'élevage, la gestation, l'avortement, l'infestation par les tiques, la saison, la couleur de robe, état d'hygiène et conditions climatiques, étaient des facteurs de risque pour la positivité à l'anaplasmose caprine utilisant la technique d'ELISA (tableau 07). Globalement il s'est avéré que le type d'élevage (figure 13) est statistiquement très significatif vis-à-vis des infections par *Anaplasma* spp avec une valeur de P de 0.000.

**Tableau 07:** Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une infection à *Anaplasma* spp. par cElisa.

Variables	Catégorie	Fréquences observées			Séroprévalence (%) (IC95%)	valeur « P »	Signification
		total e	(+)	(-)			
Sexe	Male	66	46	20	69.69 (58.6 et 80.8)	0.078	NS
	Femelle	117	96	46	82.05 (75.05 et 89)		
Age	<6mois	8	4	4	72.72 (41.9 et 103.6)	0.05	NS
	6mois-12mois	55	40	15	72.72 (60.9 et 84.5)		
	>12mois	119	98	21	82.35 (75.5 et 89.2)		
Type d'élevage	Extensif	115	98	17	85.21 (75.7 et 91.7)	0.000	<b>TS</b>
	Semi extensif	58	42	16	72.41 (60.9 et 83.9)		
	Intensif	09	02	07	22.22 (-4.9 et 49.4)		
Statut de gestation	Gestante	26	23	3	88.46 (76.2 et 100.7)	0.638	NS
	Non	88	72	16	81.81 (37.8 et 89.9)		
Tiques	Présence	158	122	36	77.21 (70.7 et 83.8)	0.455	NS
	Absence	24	20	14.1	83.33 (68.4 et 98.2)		
Saison	Automne	26	21	5	80.76 (56.6 et 95.9)	0.772	NS

	Printemps	30	13	17	43.33 (25.6 et 61.1)		
	Été	82	62	20	75.60 (66.3 et 84.9)		
Couleur de robe	Noire	86	66	20	76.74 (67.8 et 85.7)	0.775	NS
	Blanche	38	32	6	84.21 (72.6 et 95.8)		
	Noire et blanche	25	17	25	68 (49.7 et 86.3)		
	Blanche et noir	18	15	3	83.33 (66.1 et 100.5)		
	Noire et marron	1	1	0	100 (100 et 100)		
	Roue	13	10	3	76.92 (54 et 99.8)		
Etat d'hygiène	Bonne	103	81	22	78.64 (70.7 et 86.6)	0.681	NS
	Moyenne	65	49	16	75.38 (64.9 et 85.9)		
	Mauvaise	14	12	2	85.71 (67.4 et 104)		
Conditions climatiques	Humide	74	56	18	75.67 (65.9 et 85.4)	0.646	NS
	Subhumide	66	54	12	81.81 (72.5 et 91.1)		
	Semi-aride	42	32	10	76.19 (63.3 et 89.1)		

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



**Figure 13:** Variation de la séroprévalence par cELISA vis-à-vis d'*Anaplasma* spp. en fonction du type d'élevage.

### III.3.1 Etude de la comparaison des deux méthodes (FS et cELISA) pour le diagnostic d'*Anaplasma* spp.

Les performances de la méthode du frottis sanguins ont été évaluées en prenant comme test de référence cELISA (tableau 08). Pour la méthode du frottis sanguins, la sensibilité, la spécificité, l'exactitude relative, le coefficient kappa de Cohen, le test de McNemar, valeur prédictive positive (VPP) et valeur prédictive négative (VPN) ont été calculés avec le test cELISA pris comme test de référence.

Les résultats obtenus ont montré une spécificité relative de 60.71% une sensibilité relative de 45.16% et une exactitude de 48.46%, un VPP de 79.24% et un VPN de 75%. La valeur de Kappa est de 0,038, ce qui signifie d'une concordance très faible. Le résultat du test McNemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement différentes ( $p < 0.05$ ).

**Tableau 08:** Comparaison de la technique des FS avec le test cELISA pris comme test de référence pour le diagnostic d'*Anaplasma* spp.

Tests	cELISA			
		+	-	Total
FROTTIS SANGUIN	+	42	11	53
	-	51	17	68
	Total	93	28	121
	Valeurs intrinsèques	SE= 45.16%	SP= 60.71%	ER= 48.46%

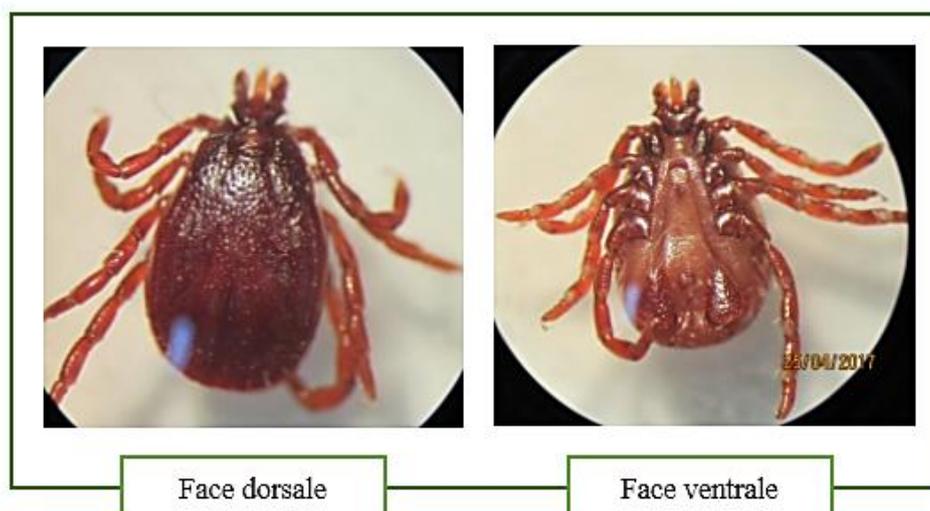
### III.4.1 Identification morphologique des différentes espèces de tiques récoltées

Nous avons prélevé 102 tiques. 89 des tiques prélevées étaient au stade adulte, réparties en 29 males et 60 femelles et le reste, nous n'avons pas pu les identifier.

L'étude morphologique de ces tiques a permis d'identifier la présence de deux espèces appartenant à un seul genre qui est : *Rhipicephalus* (100%).

#### *Rhipicephalus sanguineus*

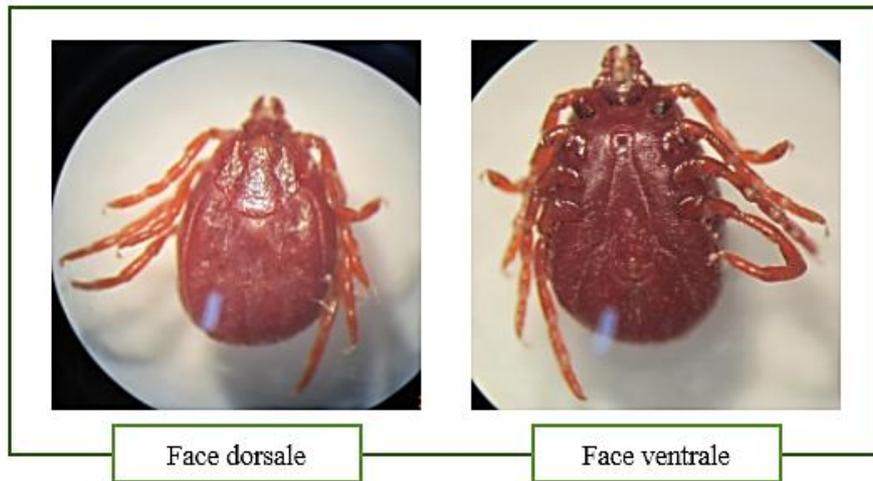
Représente 85.39% des tiques identifiées, c'est la tique dominante dans cette région, récoltée durant toute la période de notre étude mais avec un effectif plus important en mois de mai et juin.



**Figure 14:** *Rhipicephalus sanguineus* Male (photo personnelle, 2017).

***Rhipicephalus Bursa***

Représente 14.6 % des tiques identifiées, retrouvées durant le mois de mai et de juin avec une prédominance en mois de mai.

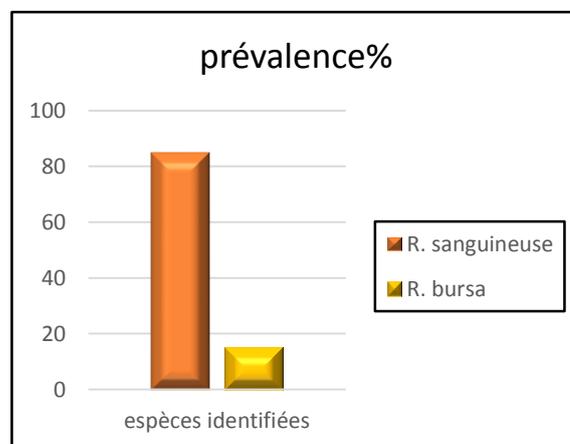


**Figure 15:** *Rhipicephalus Bursa femelle* (photo personnelle, 2017).

Les différentes espèces identifiées et leurs fréquences sont indiquées dans le tableau 09

**Tableau 09:** Effectif et proportion des espèces de tiques récoltées

G e n r e	e s p é c e	A V R I L		M A I		J U I N		J U L L E T		A O U T		S E P		T o t a l e	%
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F		
<i>Rhipicephalus</i>	<i>Sanguineus</i>	2	3	19	33	5	14	0	0	0	0	0	0	76	85.39
	<i>Bursa</i>	0	0	1	7	2	3	0	0	0	0	0	0	13	14.60



**Figure 16:** Proportion des espèces des tiques récoltées.

### III.4.2. Prévalence globale

Sur les 198 caprins examinés, 55 ont été infestés avec au moins une espèce de tique, soit une prévalence globale de 27.77% avec IC 95% (15.9% et 39.6%).

### III.4.3 Prévalence par espèce de tique identifiée chez les caprins

L'évaluation du taux d'infestation par espèce de tique identifiée montre une large prédominance de *R. sanguineus* avec 15 caprins ont été infestés soit 27.27% et *R. bursa* avec un taux d'infestation de 7.27% (4 caprins). Les caprins qui ont été infestés par des tiques dans leur état larvaire, présentent une prévalence de 65.46%.

### II.4.4. 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 caprins par les tiques. Les facteurs considérés sont : le sexe, l'âge, la race, l'état d'hygiène de la ferme, la saison et la zone AGE.

Les résultats consignés dans le tableau (10), révèlent que les facteurs tels la saison de la récolte des tiques, le type d'élevage, l'état d'hygiène de la ferme, ainsi que les conditions climatiques des zones étudiées se sont montrés significativement associés à l'infestation des caprins par les tiques ( $p < 0,05$ ).

Pour la saison de la récolte des tiques, la prévalence de l'infestation des caprins est élevée pendant l'été avec 22.22% de prévalence par rapport à celle de printemps avec 8.79% de prévalence alors qu'elle est de 0 % en automne.

Si on regarde le type d'élevage, la prévalence de l'infestation des caprins par les tiques est nettement plus élevée dans l'élevage semi extensif (24.19%) et l'élevage extensif (8.73%) comparées aux élevages intensifs où ces caprins ont montré un taux d'infestation de (0.0%).

Si on considère l'état d'hygiène de la ferme, nous remarquons que l'infestation est plus importante dans les fermes qui présentent un état d'hygiène moyenne (20.28%) par rapport à celles qui présentent un état d'hygiène bon (10.71%) et mauvais (0.0%).

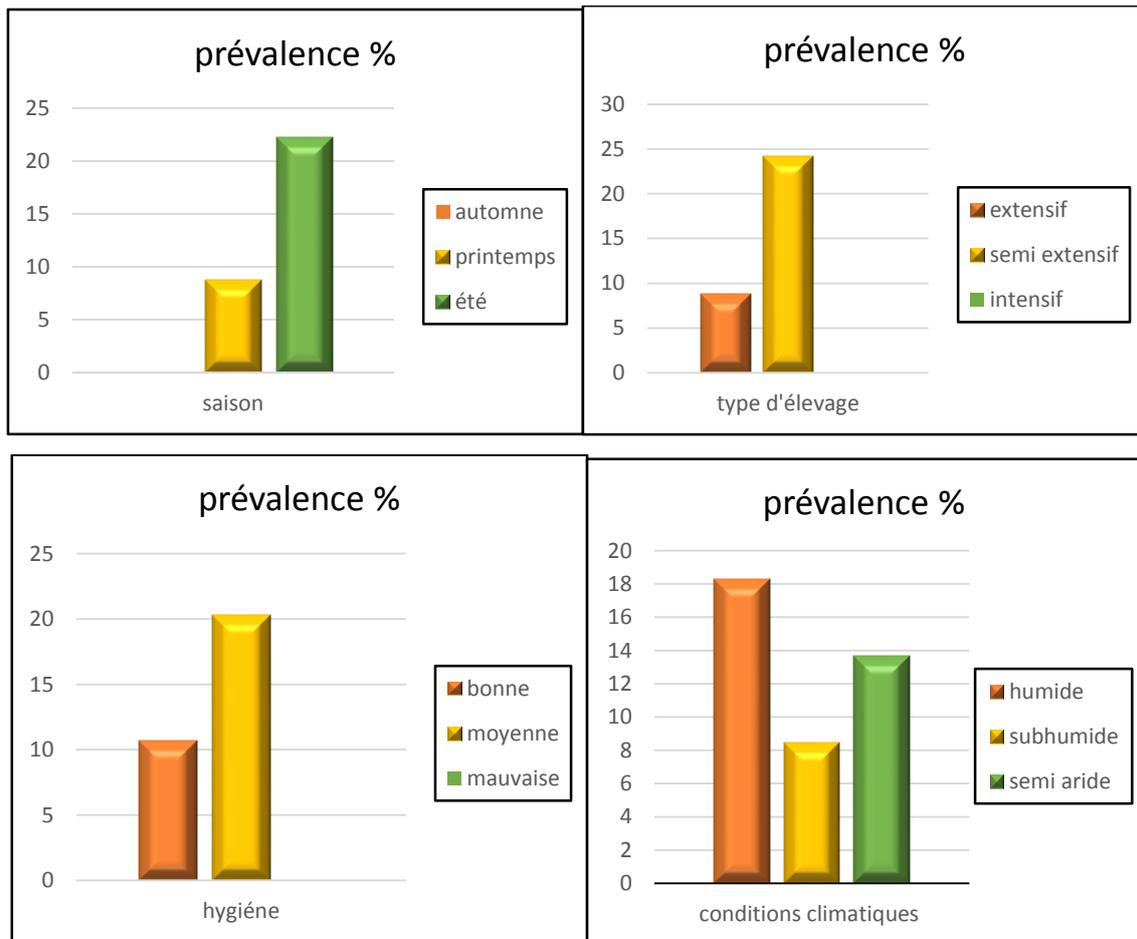
Si on tient compte maintenant des conditions climatiques des zones étudiées, la prévalence de l'infestation des caprins est plus élevée dans la zone humide avec 18.30 % de prévalence suivi des zones semi-aride et subhumide avec 13.63% et 8.43% de prévalence respectivement.

**Tableau 10:** Analyse des facteurs susceptibles d'influencer le risque d'exposition à une infestation des caprins par les tiques.

variables	catégorie	Fréquences observées			Infestation par les tiques (%)	Valeur de « P »	Signification
		totale	(+)	(-)			
Sexe	Male	71	11	60	15.49 (7.1 et 23.9)	0.814	NS
	Femelle	127	15	112	11.8 (6.2 et 17.4)		
Age	<6 mois	8	0	8	0	0.509	NS
	6mois-12mois	61	9	52	14.75 (5.9 et 23.6)		
	>12 mois	129	17	112	0.13 (-0.5 et 0.8)		
Saison	Automne	26	0	26	0	0.004	TS
	Printemps	91	8	83	8.79 (3 et 14.6)		
	Eté	81	18	63	22.22 (13.2 et 31.3)		
Couleur de la robe	Noire	88	13	75	14.77 (7.4 et 22.2)	0.576	NS
	Blanche	42	5	37	0.11 (-0.9 et 1.1)		
	Noire et blanche	29	2	27	6.89(-2.3 et 16.1)		
	Blanche et noir	21	4	17	19.04 (2.2et 35.8)		
	Noir et marron	1	0	1	0		
	Grise	1	0	1	0		
	Roue	16	0	16	0		
Type d'élevage	Extensif	126	11	115	8.73 (3.8et 13.7)	0.006	TS

	Semi extensif	62	15	47	24.19 (13.5 et 34.8)		
	Intensif	10	0	10	0.0		
Hygiène	Bonne	112	12	100	10.71 (5 et 16.4)	0.044	S
	Moyenne	69	14	55	20.28 (10.8 et 29.8)		
	Mauvaise	17	0	17	0.0		
Conditions climatiques	Humide	71	13	58	18.30 (9.3 et 27.3)	0.003	TS
	Subhumide	83	7	76	8.43 (2.5 et 14.4)		
	Semi-aride	44	6	38	13.63 (3.5 et 23.8)		

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



**Figure 17:** Variation de la prévalence de l'infestation des caprins par les tiques en fonction de saison, de type d'élevage, d'état d'hygiène de la ferme, et des conditions climatiques.

#### II.4.5. La relation entre l'infestation par les tiques et la séroprévalence à *Anaplasma* spp.

Afin de vérifier le rôle des différentes tiques identifiées dans la transmission des anaplasmes étudiées, nous avons mis en relation les résultats de l'étude sur les tiques avec ceux obtenus dans l'étude de la séroprévalence vis-à-vis d'*Anaplasma* spp. En effet, aucune relation significative n'a été observée entre la séroprévalence vis-à-vis d'*Anaplasma* spp. et la présence de *R. Sanguineus* et *R. bursa* ( $p > 0,05$ ).

## *Discussion*

#### IV. Discussion

En Algérie, l'existence de l'anaplasmose à *A. ovis*, a été signalée en 1924 chez les ovins par Lestoquard. Différentes espèces d'*Anaplasma* ont été identifiées chez les animaux domestiques, à titre d'exemple : les espèces d'*A. platys* et d'*A. phagocytophilum* qui ont été isolées chez les carnivores notamment chez les chiens dans la région d'Alger (Azzag et al., 2015). Dahmani et ses collaborateurs (2015) ont également isolé *A. platys* chez les chiens dans la région de la Kabylie. De plus, l'espèce d'*A. phagocytophyluma* a été décrite chez les bovins à la région d'Alger par Amanzougarene (2014) et à Betna par Dahmani et ses collaborateurs (2015).

Aussi, *A. platys* a été décrite pour la première fois chez les bovins par Dahmani et ses collaborateurs (2015) toujours à la région de Betna. Pour l'espèce d'*A. marginale*, a été décrite chez les bovins, par Ziam et Benaouf à l'est algérien (El-taref et Annaba) en 2004, par Dib et ses collaborateurs (2008) à la région d'El-taref, et par Amanzougaghene (2014) dans la région d'Alger. Cependant à ce jour, aucune étude sur les infections des caprins à *Anaplasma* en Algérie n'a été rapportée. Notre étude fournit, pour la première fois, des informations sur les séroprévalences et les facteurs de risques susceptibles d'influencer sur les infections des caprins par *Anaplasma* spp en Algérie.

##### IV.1 Protocole de l'étude et biais de conception

Avant de faire l'analyse des résultats obtenus dans cette étude, il nous paraît nécessaire de discuter le protocole général de l'enquête, afin de faire ressortir ses qualités et ses défauts.

##### IV. 1.1 Méthode d'échantillonnage

L'étude réalisée est de type transversal, sur un effectif de 198 caprins dans une région qui en héberge environ 31567 caprins (DSA, 2015), ce qui correspond à un taux d'échantillonnage de 0.62%. L'idéal aurait été de prélever 10% de la population caprine de la région pour obtenir une meilleure précision des résultats, mais devant les difficultés d'accéder à toute la région et au prix cher de kit d'analyse de différentes espèces d'*Anaplasma*, en empêche de réaliser le taux d'échantillonnage représentatif.

Même si les élevages ont pu être sélectionnés de manière aléatoire, il nous fallait l'accord des éleveurs pour prélever leurs caprins et certains n'ont pas souhaité participer à l'étude. Par conséquent, ceci crée un certain biais de sélection. D'autre part, pour le choix des caprins à prélever au sein de chaque ferme, nous pensions que dans un élevage donné, il serait relativement aisé de prélever au hasard n'importe quel caprin afin d'avoir au final une représentation homogène de l'effectif. Nous nous sommes rapidement rendu compte que la

majorité des éleveurs ne veulent pas faire des prélèvements sur les petits caprins, Ceci explique pourquoi dans notre étude la classe des animaux qui ont moins de 6 mois en était en faveur des autres classes.

La collecte des prélèvements sanguins s'est effectuée dans le respect des règles d'hygiène et de conservation de la chaîne du froid, tout au long de l'enquête, depuis la récolte jusqu'à l'acheminement au laboratoire.

#### **IV.1.2 Questionnaire épidémiologique**

Nous avons rempli les questionnaires avec les éleveurs des 22 fermes prélevées. Les résultats de ces derniers sont basés en grande partie sur la mémoire des éleveurs. Par conséquent, peu de données objectives ont pu être synthétisées à partir des questionnaires. Le fait de demander ainsi les informations aux éleveurs est un biais.

#### **IV.1.3 Méthodes de diagnostic employées**

Nous avons utilisé comme test de diagnostic direct la méthode du frottis sanguins mince, qui permet de mettre en évidence notre hémopathogène *d'Anaplasma* sur la base de ses caractéristiques morphologiques à partir du sang provenant de la veine jugulaire (Bock et *al.*, 2006 ; OIE, 2008 ; Mosqueda et *al.*, 2012). Ceci explique pourquoi nous avons fait les frottis à partir du sang veineux. Le frottis sanguins est une méthode simple, de réalisation rapide et peu coûteuse. Cependant, son inconvénient majeur réside dans le fait que cette méthode ne peut être adaptée qu'à la détection des infections aiguës et non recommandée chez les porteurs chroniques pour lesquels la bactériémie est en générale faibles (OIE, 2008, 2010). Dans ce dernier cas, la détection des anticorps dirigés contre ces hémopathogènes est l'outil le plus adapté pour évaluer l'importance de ces maladies dans les populations caprines.

#### **IV.1.4 Description morphologique des espèces d'*Anaplasma* identifiées sur frottis sanguins colorés au Giemsa**

L'analyse des frottis sanguins colorés au Giemsa nous a permis de mettre en évidence les espèces intra érythrocytaires *d'Anaplasma* (*A.marginale* et/ou *A.ovis*).

Globalement, l'identification des espèces *d'Anaplasma* a été difficile à cause de leur morphologie punctiforme facile à confondre avec des dépôts de coloration (artéfacts de

coloration) et des plaquettes superposées à des polynucléaires ou sur des érythrocytes mais aussi avec les corps de Jolly qui prêtent souvent à confusion. Cependant, ces derniers ont un pourtour parfaitement lisse, alors que les anaplasmes consistent plutôt en un amas de corps élémentaires avec un pourtour un peu irrégulier, c'est ce qui permet généralement de distinguer entre eux (Uilenberg, 2004). Mis à part que les Anaplasmes n'ont pas des caractéristiques morphologiques distinctifs entre eux, (Camus et Uilenberg, 2010).

## **IV. 2 Étude de la prévalence des infections par *Anaplasma spp***

### **IV. 2.1 Étude de prévalence par frottis sanguins**

Un total de 198 échantillons de sang caprins a été prélevé, que 128 prélèvements ont été analysés par la méthode du frottis sanguins coloré au Giemsa. Le reste des prélèvements ont été subits une mauvaise préparation et nous n'avons pas pu effectuer une lecture fiable par la suite (frottis trop mince et/ou trop épais). Les résultats ont révélé la présence des espèces intra érythrocytaire d'*Anaplasma* avec une prévalence de 42.18%. La prévalence obtenue vis à vis d'*Anaplasma spp* par Giemsa est de 42.18%. Cette prévalence est proche de celle retrouvée dans la région nord-est d'Iran (Mashhad) dans une étude menée en 2006 par Razmi et ses collaborateurs, ces derniers ont mentionné une prévalence de 47.53% en utilisant la technique de la coloration de Giemsa.

Par ailleurs, un taux de positivité plus faible a été rapporté à Tamil Nadu en Inde par Rajasokkappan et Selvaraju (2016) où ils ont noté une prévalence de 26.15 % par la technique de Giemsa sur des 130 caprins symptomatiques. De plus, toujours par la technique de Giemsa en Iran à Ahvaz, et à Matrouh en Egypte les prévalences étaient de 28.8% et de 19% respectivement (Goda et al., 2009 ; Jalali et al., 2016).

En revanche, une étude a été faite au Maroc, en utilisant la technique de Giemsa, montre une prévalence plus élevée à celle rapportée dans notre étude (88%) (Ait elbacha et al., 2015).

#### **IV.2.1.1 Étude des facteurs de risque associés**

La connaissance des facteurs de risque susceptibles de favoriser l'apparition des infections à *Anaplasma* chez les caprins est nécessaire pour une bonne compréhension de son épidémiologie, ainsi que leurs implications en termes de stratégies de contrôle adaptées aux conditions locales. En effet, certains facteurs de risques associés aux maladies transmises par les arthropodes chez le caprin, en particulier celles du genre *Anaplasma* ont été étudiées. À titre

d'exemples, certains ont rapporté que les prévalences de ces affections sont fortement associées aux caractéristiques individuelles des animaux.

### 1. Sexe

Aucune différence significative n'a pu être démontrée entre la prévalence positive des mâles et celle des femelles pour les espèces d'*Anaplasma* (*A. ovis*, *A. marginale*) ont été rapportées. Ceci est compatible avec ce qui a été rapporté ailleurs sur les maladies vectorielles (Farougou et al., 2007; Salih et al., 2009; Ait Hamou et al., 2012; amanzougaghene, 2013). De plus, plusieurs études ont montrés que le sexe n'a aucun effet sur les infections des caprins par *Anaplasma* (Ben Said et al., 2015; Rajasokkappan et Selvaraju, 2016). Contrairement, Zhou et ses collaborateurs en Turquie (2016) ont montré que les mâles plus susceptibles à l'infection par *Anaplasma* par rapport aux femelles.

### 2. Saison

Globalement, nos résultats rapportent que la saison est statistiquement significative. La positivité est nettement plus élevée en automne comparée aux autres saisons. Nos résultats concordent à ceux décrits dans de la littérature, où ils ont montré que le caractère saisonnier de ces affections superpose à celui des tiques vectrices (Sergent et al., 1945; Morel, 2000). En effet l'activité vectorielle est plus intense pendant les premières et les dernières chaleurs.

En revanche, Velusamy et ses collaborateurs (2014) en Inde au nord-ouest de la région du Tamil Nadu, où ils ont montrés qu'il n'y a pas d'effet de saison dans le cas d'anaplasmose caprine.

### 3. Statut de la gestation

Le facteur gestation a été étudié pour un certain nombre des chèvres et il a révélé que le statut de gestation est statistiquement significatif par rapport à la positivité envers *Anaplasma* spp. En effet, les chèvres gestantes présentent une forte prévalence à *Anaplasma* spp. par rapport aux chèvres non gestantes. Cela est compatible avec ce qui est décrit dans la littérature : en générale les femelles gravides pourraient avoir plus de difficultés à contrôler l'infection que les femelles non gravides en raison de l'affaiblissement de leur système immunitaire. En effet lors de la gestation la réponse immunitaire est déviée vers la voie TH2, par conséquent la sécrétion d'IL4 et d'IL5 inhibe la voie TH1 par inhibition de la sécrétion de l'INFgamma puissant activateur de la réponse immunitaire à médiation cellulaire protectrice des pathogènes intracellulaires.

De plus, certaines protéines circulantes dépriment les réponses immunitaires lors de la gestation (Bach, 1990) parmi elles, on trouve la « pregnancy  $\alpha$  2 macroglobulin » et « l'uromoduline » dont les rôles immunodépresseurs ont été prouvés *in vitro* (Min, 1994).

#### 4. Avortement

Il s'est avéré que la présence ou l'absence des avortements ont une influence significative sur la prévalence d'*Anaplasma*, il a été constaté que la prévalence des animaux non avortés est inférieure par rapport à ceux avortés. En effet, les animaux qui ont été infectés par *Anaplasma* restent des porteurs sains durant une longue période de vie voire à toute leur vie et ça indique une présence presque permanente des anaplasmes dans leur sang.

#### 5. Conditions climatiques

Nous avons constaté que la prévalence vis-à-vis *Anaplasma* spp. est variable d'une manière significative en fonction des 3 zones agroécologiques considérées. Toutefois, nous avons remarqué que la zone subhumide est plus touchée que la zone humide et la zone semi-aride. En effet, les infections à *Anaplasma* présentent une certaine saisonnalité liée notamment à l'abondance des vecteurs, cependant les saisons préférentielles varient selon la région et les conditions bioclimatiques au cours de l'année (Amiel et al., 2004 ; Leger et al. 2013 ; Morel, 2000). D'ailleurs, les étages humide et sub-humide, constituent des biotopes très favorables aux tiques *Rh. Sanguineus*, *Rh. bursa* (Bouattour, 2002 ; M'ghirbi et Bouattour, 2009) qui sont des espèces reconnues comme des vecteurs d'anaplasmose caprine à *A. ovis*, dans la région méditerranéenne (Ben said et al., 2015). Nos résultats ne correspondent pas à ceux décrits dans la littérature et cette différence peut être liée à l'origine des animaux, qui sont presque toute l'année en échanges commerciaux (vente et achat), ça sert au transfert des caprins entre les différentes zones agroécologiques. De plus, cela peut être également lié à la sensibilité du test qui influence sur les résultats par la diminution du nombre des animaux positifs.

#### IV.2.2 Étude de la séroprévalence par cELISA

Les résultats obtenus à l'aide du test cELISA sur les 182 caprins testés ont montré que 142 animaux (soit 78.02%) sont positifs à *Anaplasma* spp (*A. marginale* et/ou *A. ovis*).

Cette séroprévalence obtenue est proche de celles publiées en Machakos à Kenya où une séroprévalence de 85% a été décrite chez les caprins, par la technique d'ELISA (Ngeranwa et al., 2008). En revanche, notre étude a montré une séroprévalence plus importante que celles

observées, en Corée (nord, sud et centre), (6.6%, ELISA) (Lee et al., 2015), en Italie (sicily), (45%, ELISA) (Torina et al., 2008), et au Matrouh en Egypte, (48%, ELISA) (Goda et al., 2009).

#### IV.2.2.1 Étude des facteurs de risque associés

##### 1. Age

En classant les animaux en 3 catégories d'âge, la prévalence de ce dernier a été jugée statistiquement non significative. En effet, les caprins ont l'âge plus de 12 mois et entre 6 mois et 12 mois ont été plus souvent infectés que les jeunes caprins qui sont moins de 6 mois, avec une fréquence d'infestation élevée chez les caprins entre 6 mois et 12 mois par rapport aux ceux qui sont plus de 12 mois. Une étude a été menée en Iran par Razmi et ses collaborateurs (2006) sur des caprins symptomatiques, a montré que l'âge ne présente aucun risque sur les infections à *Anaplasma* spp. En effet, de nombreux auteurs s'accordent sur le fait que pour les infections transmises par les tiques, le nombre d'animaux infectés augmente avec le nombre de saisons de maladies vécues par les animaux et par conséquent avec l'âge (Woodford et al. 1990 ; Fernandez-Ruvalcaba et al. 1995 ; Flach et al. 1995 ; Kachani et al. 1996 ; El Haj et al., 2002b ; Ait Hamou et al., 2012a).

##### 2. Type d'élevage

Les caprins qui pâturent ont présenté une séropositivité plus élevée comparés à ceux qui restent en stabulation permanente. Ceci peut être expliqué par le fait que le pâturage augmente le risque de contracter les tiques vectrices et par conséquent contracter l'infection. Ceci va dans le même sens que certaines études assez similaires sur les infections transmises par les tiques (El Haj et al., 2002a ; Swai et al., 2005).

Goda et ses collaborateurs (2009) ont rapportés que l'infection par *A. ovis* chez les caprins est significativement associée au système de pâturage, mais avec un séoprévalence élevée liée au système de stabulation intensif (21.3%), par rapport au système de stabulation extensif (20%).

#### IV. 3 Étude de la comparaison des deux méthodes de diagnostic

Dans ce travail, les performances de la méthode du frottis sanguins ont été évaluées par rapport au test sérologique (cELISA) pris comme référence.

Globalement, la méthode du frottis sanguins a montré une spécificité moyenne, une faible sensibilité et une faible exactitude, une VPP et VPN élevées. Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré des valeurs entre 0.00 – 0.20 ce qui correspond à une concordance très faible entre les deux techniques.

Le résultat du test de McNemar a montré que la méthode donne des valeurs significativement différentes ( $p < 0,05$ ).

Ce manque de sensibilité constaté pour les Frottis sanguins explique donc l'énorme différence obtenue par l'examen sérologique pour les hémopathogènes étudiés. Le résultat obtenu dans cette étude est comparable avec ceux trouvés en Egypte par Abou El-Naga (2009) et ses collaborateurs où ils ont enregistré des prévalences de 37% et de 67% en utilisant la coloration de Giemsa et le test sérologique cELISA respectivement vis-à-vis les infections d'*Anaplasma* chez les bovins. Mouloudi et ses collaborateurs (2006), au Maroc, ont obtenu une fréquence de 25.4% par la coloration de Giemsa et une fréquence de 63.9% par le test ELISA. Une autre étude a été faite par Zemzamy et ses collaborateurs (2011) toujours au Maroc, où ils ont obtenu des fréquences de 53.7% et de 20% en utilisant la PCR et FS respectivement. En revanche, Ait Ibacha et ses collaborateurs (2015) au Maroc, ont démontré des fréquences de 88.9% et 71.8% en utilisant le FS et le PCR respectivement. La faible sensibilité des FS par rapport aux tests sérologiques peut s'expliquer, d'une part, par la faible bactériémie qui caractérise le portage chronique de cette affection. En effet, sauf dans certains cas de recrudescence d'accès bactériémique, *Anaplasma* ne peuvent être aisément détectés dans des étalements sanguins après l'épisode clinique (Blandino et *al.*, 1995 ; OIE, 2008). D'autre part, le principe de la sérologie qui repose sur la détection des anticorps dirigés contre ces hémopathogènes chez un animal, ne signifie pas que ce dernier est porteur, puisque les anticorps peuvent persister après un traitement curatif ou une guérison spontanée pendant une durée variable selon l'agent pathogène en cause. Autrement dit, la sérologie n'atteste pas la présence de l'agent pathogène au moment du prélèvement, mais bien une trace de son passage chez l'individu, ce qui est tout à fait adapté aux études épidémiologiques.

La fiabilité de la technique FS provient de la mise en évidence des infections actives, lui conférant les avantages d'un diagnostic de certitude, Son inconvénient majeur est le manque de sensibilité, à cause de nombreux faux négatifs pendant les phases chroniques des infections. Dans ce dernier cas, le recours aux tests sérologiques pour la détection des anticorps dirigés contre ces hémopathogènes est l'outil le plus adapté pour les études épidémiologiques afin d'évaluer l'importance de ces affections dans une population donnée (Amanzougaghene., 2014).

#### **VI.4. Étude épidémiologique des populations de tiques rencontrées chez les caprins dans la région d'étude**

Sur les 198 caprins examinés, 55 ont été infestés avec des tiques soit une prévalence globale de 27.77%. Cette prévalence est proche à celle retrouvée dans une étude faite en Tunisie, où la prévalence était de 37.29 % (Ben said et al., 2015).

##### **IV.3. 1. Prévalence par espèces de tiques**

Dans la région du nord-est Algérien (El-taref et Guelma), les caprins sont des hôtes préférentiels de certaines espèces de tiques. En effet, 102 tiques ont été récoltées sur 55 caprins suivis pendant une période de 6 mois. L'analyse des résultats relatifs au taux d'infestation de ces caprins par 2 espèces d'ixodidés qui sont *Rhipiciphalus sanguineuse* avec un taux de prévalence 85.3%, et *Rhipiciphalus bursa* à une prévalence 14.6%. Ces espèces identifiées semblent être très abondantes dans notre région d'étude. Des résultats similaires sur le taux d'infestation par *R. bursa* ont été décrits à Beja et Bizert en Tunisie avec une fréquence de 14.47 %, et un taux assez faible de *R. sanguineuse* (4.93%) par rapport à notre taux (Ben said et al., 2015). Une autre étude menée en Grèce par Chaligiannis et ses collaborateurs (2016), a montré que les 2 espèces de tiques *R. sanguineuse* et *R. bursa* sont les plus prédominants chez les petits ruminants avec des prévalences de 61.2% et 25.9% respectivement. Goda et ses collaborateurs (2009) ont montré une prévalence du *R. sanguineus* (13.2%) qui est inférieure à celle de notre. De plus, *R. Sanguineus* et *R.bursa* sont des tiques de chien (tiques brunes des chiens), nous avons remarqué que tous les caprins infestés cohabitaient avec des chiens de chasse ou de garde. Ce qui confirme les observations de Yousfi-Monod et Aeschlimann (1986), qui ont constaté que le bétail parasité par ces espèces est en général celui qui cohabite avec les chiens. Les tiques du chien brunes peuvent également survivre dans différentes niches écologiques et que les contraintes environnementales ne sont pas très influentes sur le succès de colonisation de cette espèce de tiques (Chaligiannis et al., 2016).

##### **VI.3.2 Étude des facteurs de risque associés à l'infestation par les tiques**

Nous avons étudiés certains facteurs susceptibles d'influencer positivement ou négativement l'infestation des caprins par ces tiques. Les résultats ont montré que les facteurs tels que la saison, l'état d'hygiène, les conditions climatiques et type d'élevage, le type d'élevage, se sont montrés significativement associés à l'infestation des caprins par les tiques.

Cette étude a révélé l'influence de la saison sur L'infestation des tiques, où on a enregistré un taux d'infestation plus élevé en été (22.2%) par rapport au printemps et à l'automne où le taux

d'infestation est faible (8.79%, 0% respectivement). ceci est à mettre en relation avec la période d'activité des tiques qui est maximale et intense pendant les premières chaleurs qui débutent généralement le mois de mai.

Pour l'état d'hygiène de la ferme, plus l'hygiène est mauvaise, plus le taux d'infestation par les tiques est élevé. En effet, 20.28% des caprins abrités des élevages moins entretenus sont infestés par les tiques, par contre, une prévalence de 10.71% des caprins dans des élevages de bon état ont été retrouvés infestés. Pour la prévalence des caprins abrités des élevages très mal entretenus qui a été de 0%, ça peut être liée au nombre des fermes (02 fermes) qui n'était pas important par rapport au nombre des autres fermes (09 moyenne, 12 bonne). Cela rejoint les résultats obtenus par Boularias dans une étude menée à Yakouren (Tizi-Ouzou) où 85.41% des bovins infestés sont abrités des élevages mal entretenus contre 26% des bovins abrités des élevages moyennement entretenus. Le même résultat s'est obtenu par Amanzougaghene (2014) à la région d'Alger où elle a montré une prévalence de 50,85% des bovins infestés dans des élevages mal entretenus contre seulement 6.12% des bovins infestés dans des élevages moyennement entretenus et aucun dans les élevages bien entretenus (Amanzougaghene, 2014).

Pour le facteur type d'élevage, les caprins issus des élevages intensifs restent en stabulation cela diminue leur risque d'expositions aux ectoparasites d'où un taux d'infestation bas (0.0%) peut être également lié au nombre faible des fermes qui sont menées par le système intensif par rapport aux autres fermes, contrairement aux caprins des élevages semi extensif et extensif qui sortent au pâturage augmentant ainsi leur exposition aux ectoparasites.

Enfin, concernant les conditions climatiques, nous avons montré que les caprins qui vivent dans l'étage humide sont les plus exposés à l'infestation par les tiques, suivis par ceux de l'étage semi-aride puis l'étage sub-humide. En effet, l'étage humide et subhumide constitue des biotopes très favorables pour le développement des tiques. Nos résultats peuvent être expliqués par le fait que la tique du genre *Rhipicephalis* n'a pas de préférence tropique.

#### **IV.3.3. Étude de la relation entre la présence de tiques et la prévalence d'*Anaplasma* spp. chez les caprins**

Nous avons tenté de rechercher l'existence d'un éventuel lien entre la présence des différentes espèces de tiques chez le caprin et la positivité vis-à-vis des espèces d'*Anaplasma* étudiées. Il est important de préciser, que l'existence d'un tel lien statistique n'est qu'un indicatif d'un rôle vectoriel possible d'une espèce de tique donnée. Par conséquent, pour pouvoir prouver une telle implication, la biologie moléculaire reste incontournable. Et même si l'agent infectieux existe bien chez une tique, son niveau reste à déterminer, ainsi que la capacité réelle de la tique à

pouvoir le propager parmi le cheptel, c'est ce qu'on appelle l'étude de la compétence vectorielle. Il est intéressant de préciser que les anaplasmes sont à transmission vectorielle chez les caprins, le vecteur c'est toujours les tiques, leur activité maximale est au printemps ainsi, la bactériémie la plus précoce pourrait être détectée en été, ce qui nous laisse le plus incriminer le rôle des tiques dans la transmission des anaplasmes chez les caprins.

Dans notre étude, aucune association significative n'a été mise en évidence entre la prévalence à *Anaplasma spp.* et l'infestation par *R. sanguineuse* et/ou *R. bursa*. Notre résultat est contradictoire à ce qui est dans la littérature. Certaines espèces de tiques ont été signalées comme pouvant être des vecteurs potentiels à *Anaplasma spp.* chez les caprins ; à titre d'exemple : Derdakova et ses collaborateurs (2011) ont montré que *Dermacentore marginatus* est le principale vecteurs d'*A. ovis* en Slovaquie. Ainsi Aktas et ses collaborateurs (2009) ont rapporté la présence d'ADN d'*A. ovis* dans les glandes salivaires de *R. sanguineus* collectées en Turquie. De plus Torina et ses collaborateurs (2008) et de la Fuente et ses collaborateurs (2005) ont démontré que *R. turanicus* est le principal vecteur de *A. ovis* en Sicile (Italie). Yin et Luo (2007), ont démontrés que certaines espèces des tiques telles que *Dermacentor nuttalli*, *Hyalomma asiaticum* et *Rhipicephalus pumilio*, ne sont pas capable de transmettre l'*A. ovis*, par voie trans-stadiale, mais la transmission est possible par un cofeeding. En plus plusieurs auteurs accordées sur le fait que la tique *Rhipicephalus spp.* est la tique la plus incriminée dans la transmission d'anaplasmose des petits ruminants (Ait Ibacha et al., 2014)

*Conclusion*

## Conclusion

Ce travail nous a permis de mettre en évidence, par la technique de Giemsa et la technique d'ELISA, la présence d'*Anaplasma* spp. (*A. ovis* et/ *A. marginale*) dans la population caprine de la région de l'est algérien (Guelma et El-tatrf).

De plus, au cours de ce travail, nous avons recensé et identifié deux espèces de tiques infestant les caprins de la région : *Rhipicephalus bursa* et *Rhipicephalus sanguineus*, avec prédominance de *Rhipicephalus sanguineus*.

Nos résultats mettent aussi en exergue la présence de quatre facteurs de risque de transmission d'*Anaplasma* spp aux caprins, qui sont le statut de gestation, la saison, la zone agro écologique et le type d'élevage.

La prévalence obtenue vis-à-vis des agents étudiés indique que ces derniers sont largement distribués dans l'est algérien. Pour cela, il serait intéressant de compléter notre travail par une étude moléculaire afin d'identifier avec certitude les différents espèces d'*Anaplasma*.

Les résultats de nos travaux permettent d'entrevoir aussi une série d'études en perspectives visant à améliorer d'avantage les connaissances concernant l'anaplasrose caprine en Algérie. Dans une première étape, il serait intéressant de poursuivre ce type d'études épidémiologiques dans d'autres régions du pays caractérisées par des situations écologiques très diverses. Ceci permettra d'acquérir des connaissances approfondies sur cette maladie et une meilleure maîtrise des facteurs de risque au sein des différents systèmes de production animale, dont le but de construire des modèles de lutte standard adaptés à chaque contexte épidémiologique.

De plus, Les prévalences élevées vis-à-vis ces espèces et l'exposition des caprins aux vecteurs arthropodes, ainsi que le contact étroit des humains aux caprins font les différents espèces d'*Anaplasma* des candidats potentiels pour des agents zoonotiques. D'autres études sont nécessaires pour évaluer l'effet zoonotique possible de cet hémopathogène.

# *Références*

## Références

- ABBOTT J.R., PALMER G.H., HOWARD C.J., HOPE J.C., BROWN W.C. Anaplasma marginale major surface protein 2 CD4+ T cell epitopes are evenly distributed in conserved and hypervariable regions (HVR), whereas linear B cell epitopes are predominantly located in the HVR. *Infect Immun.*, 2004, 72, 1096–106.
- ABOU-ELNAGA, T. R., M. A. MAHMOUD, W. A. OSMAN, and A. S. A. Goda, 2009: Serological survey of Anaplasma marginale (Rickettsia) antibodies in animals by major surface protein 5 competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *Suez Canal Vet. Med. J.* 19, 309–320.
- AIT HAMOU S., RAHALIT T., SAHIBI H., BELGHYTI D., LOSSON B., RHALEM A. (2012). Séroprévalences des hémoparasitoses bovines dans deux régions irriguées du Maroc. *Revue Méd. Vét.*, 163, 10, 480-485.
- AIT LBACHA H., S. ALALI, Z. ZOUAGUI, L. EL MAMOUN, A. RHALEM, E.PETIT, N. HADDAD, C. GANDOIN, H-J. BOULOUIS AND R. MAILLARD. High Prevalence of Anaplasma spp. in Small Ruminants in Morocco ; 2014 doi:10.1111/tbed.12366
- AKTAS M, ALTAY K, DUMANLI N, KALKAN A. Molecular detection and identification of Ehrlichia and Anaplasma species in ixodid ticks. *Parasitol Res.* 2009 ; 104(5):1243-8. doi: 10.1007/s00436-009-1377-1.
- ALEKSEEV, A. N., S. P. CHUNIKHIN. The exchange of the tick-borne encephalitis virus between ixodid ticks feeding jointly on animals with a subthreshold level of viremia. *Med Parazitol (Mosk.)*, 1990, 48-50.
- ALY KA, BARON C. The VirB5 protein localizes to the T-pilus tips in *Agrobacterium tumefaciens*. *Microbiology.*, 2007, 153:3766–3775.
- AMANZOUAGHENE N. (2014), Étude épidémiologique sur les infections et co-infections par Babesia spp et Anaplasma spp chez le bovin dans la région d'Alger - Identification des tiques Ixodina, École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, En vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Sciences Vétérinaires École Doctorale en Production Hygiène et Santé Animale Option : Gestion des Maladies Infectieuses Animales, 237 pages.
- AMIEL C., ABADIA G., CHOUDAT D. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Médecine et maladies infectieuses.* 2004, 34, 111–122.
- ANDERSON J.F., MAGNARELLI L.A. Biology of Ticks. *Infect Dis Clin N Am.*, 2008, 22, 195–215.
- ARMANDA D.S. BASTOS OSAMA B. MOHAMMED NIGEL C. BENNETT CHARALAMBOS PETEVINOS ABDULAZIZ N. ALAGAILI, Molecular detection of novel Anaplasmataceae closely related to Anaplasma platys and Ehrlichia canis in the dromedary camel (Camelus dromedarius), *vetmic.2015.06.001*
- AUBRY P., GEALE D.W. A Review of Bovine Anaplasmosis. *Transboundary and Emerging Diseases.*, 2011, 58, 1, 30.
- AZZAG, N., PETIT, E., GANDOIN, C., BOUILLIN, C., GHALMI, F., HADDAD, N., BOULOUIS, H. J. (2015). Prevalence of select vector-borne pathogens in stray and client-owned dogs from Algiers. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 38, 1–7. <http://doi.org/10.1016/j.cimid.2015.01.00>
- BACH J.F., LESAVRE P. *Immunologie*. Paris Flammarion coll. « de la biologie à la clinique. (1990).
- BARKER, S. C., A. MURRELL. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology* 129 Suppl: 2004. S15-36.
- BARRE N., UILENBERG G. LEFEVE P-C., BLANCOU J., CHERMETTE R.,

- UILENBERG G. (Eds), Infectious and Parasitic Diseases of Livestock. Second edition. Lavoisier: Italie, 2010, 93-136.
- Barry DM, VAN NIEKERK CH. Anaplasmosis in improved Boer goats in South Africa artificially infected with *Anaplasma ovis*. *Small Rumin Res.*, 1990; 3:191-197.
- BAXT, L.A., GARZA-MAYERS, A.C., and Goldberg, M.B. (2013) Bacterial subversion of host innate immune pathways. *Science* **340**: 697-701.
- BEN SAID M, H. BELKAHIA, A. ALBERTI, R. ZOBBA, M. BOUSRIH, M. YAHIAOUI, M. DAALOUL-JEDIDI, A. MAMLOUK, M. GHARBI, L. MESSADI. "Molecular Survey of *Anaplasma* Species in Small Ruminants Reveals the Presence of Novel Strains Closely Related to *A. Phagocytophilum* in Tunisia." *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 15, no. 10 (October 2015): 580-90. doi:10.1089/vbz.2015.1796.
- BEN SAID M, BELKAHIA H, EL MABROUK N, SAIDANI M, ALBERTI A, ZOBBA R, CHERIF A, MAHJOUR T, BOUATTOUR A, MESSADI L. *Anaplasma platys*-like strains in ruminants from Tunisia. *Infect Genet Evol.* (2017) 24;49:226-233.
- BITAM I. Vectors of rickettsiae in Africa. *Ticks Tick Borne Dis.*, 2012, 3 (5-6), 382-6. doi: 10.1016/j.ttbdis.2012.10.011.
- BLANDINO T., BARRERA M., ALONSO M., FAURE M., RODRIGUEZ DIEGO J.G. Diagnostic de *Babesia bigemina* avec le test à l'immunoperoxydase. *Revue Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, 1995, 48 (3), 244-246.
- BOCK R.E., DEVOS A.J., MOLLOY J.B. Tick-borne diseases of Cattle. Australian and New Zealand Standard Diagnostic Procedures, 2006, 1-29.
- BOUATTOUR A. Les changements climatiques et leurs impacts sur les systèmes vectoriels. In : Bulletin de la Société vétérinaire pratique de France (Ed.), avril/mai/juin, 2009, 2 (93), 3-10.
- BOUATTOUR A., DARGHOUTH M.A. First report of *Babesia divergens* in Tunisia. *Vet. Parasit.*, 1996, 63, 161-165.
- BOULARIAS G. (2016), étude seroépidémiologique des infections à bartonella bovis et à Bartonella chomeli dans les élevages bovin de la région de Yakouren, École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, En vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Sciences Vétérinaires, Option : Immunologie Animale, page 139.
- BOULOUIS H-J, Lagrée A-C, Dugat TH, Haddad N. "Les Animaux Vertébrés et Les Maladies Dues À Des Bactéries Vectorisées Par Les Tiques." *Revue Francophone Des Laboratoires* 2015, no. 472, 2015: 77-87.
- BRAYTON K., KAPPEMEYER L.S., HERNDON D.R., DARK M.J., TIBBALS D.L., PALMER G.H., MCGUIRE T.C., KNOWLES D.P. Complete genome sequencing of *Anaplasma marginale* reveals that the surface is skewed to two superfamilies of outer membrane proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 2005, 102 (3), 844-849.
- BREITSCHWERDT, E.B., Hegarty, B.C., Qurollo, B.A., Saito, T.B., Maggi, R.G., Blanton, L.S., Bouyer, D.H., Intravascular persistence of *Anaplasma platys*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Ehrlichia ewingii* DNA in the blood of a dog and two family members. *Parasit. Vectors*, 2014. 7, 298.
- BROUQUI, P., *Ehrlichiosis in Europe*, in *Rickettsiae and rickettsial diseases at the turn of the third millennium*, P. Brouqui, Editor. 1999, Elsevier: Paris. p. 220-232.
- BROWN W.C. Adaptive immunity to *Anaplasma* pathogens and immune dysregulation: implications for bacterial persistence. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 2012, 35, 241-252.
- BROWN, G. K, MARTIN, A.R., ROBERTS, T. K., AITKEN, R.J., Detection of Ehrlichia

platys in dogs in Australia. *Aust.vet. J.* 2001. 79, 554-558.

**C**ALLOW LL. Protozoan and rickettsial diseases. In: 'Animal health in Australia'. Canberra: Australian Bureau of Animal Health; 1984. p. 123–86. ISBN 15.

CALLOW LL, Arthropod-borne rickettsias of the blood. In: Anon, ed. *Animal Health in Australia, Protozoal and rickettsial diseases*. Canberra, Australian Bureau of Animal Health, 1984. AGPS, 177-202.

CAMUS E., UILENBERG G. Anaplasmosis. In: Lefevre P-C., Blancou J., Chermette R., Uilenberg G. (Eds), *Infectious and Parasitic Diseases of Livestock*. Second edition. Lavoisier: Italie, 2010, 1247-1263.

CARLYON, J.A., ABDEL-LATIF, D., PYPAERT, M., LACY, P., FIKRIG, E. *Anaplasma phagocytophilum* utilizes multiple host evasion mechanisms to thwart NADPH oxidase-mediated killing during neutrophil infection. *Infect. Immun.*, 2004. **72**: 4772–4783.

CHALIGIANNIS I, MUSELLA V, RINALDI L, CRINGOLI G, DE LA FUENTE J, PAPA A, SOTIRAKI S. Species diversity and spatial distribution of ixodid ticks on small ruminants in Greece. *Parasitol Res.* 2016 Dec;115(12):4673-4680. Epub 2016 Sep 22.

CHI, Q., Z. LIU, Y. LI, J. YANG, Z. CHEN, C. YUE, J. LUO, H. YIN. "Development of a Real-Time PCR Assay for Detection and Quantification of *Anaplasma Ovis* Infection." *Transboundary and Emerging Diseases* 60 (November 2013): 119–24. doi:10.1111/tbed.12139.

CHOCHLAKIS, DIMOSTHENIS, IOANNIS IOANNOU, YANNIS TSELENTIS, ANNA PSAROULAKI,. "Human Anaplasmosis and *Anaplasma Ovis* Variant." *Emerg Infect Dis* 16, no. 6 (2010): 1031–32.

Choi KS, Park JT, Dumler JS. *Anaplasma phagocytophilum* delay of neutrophil

apoptosis through the p38 mitogen-activated protein kinase signal pathway. *Infect Immun.* 2005, 73(12):8209-18.

Christie P.J. *Agrobacterium tumefaciens* T-complex transport apparatus: a paradigm for a new family of multifunctional transporters in eubacteria. *Journal of Bacteriology*, 1997. 179: 3085-3094.

**D**AHMANI M, DAVOUST B, BENTERKI MS, FENOLLAR F, RAOULT D, MEDIANNIKOV O. Development of a new PCR-based assay to detect Anaplasmataceae and the first report of *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma platys* in cattle from Algeria. 2015, *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 39:39-45.

DAHMANI M, LOUDAHI A, MEDIANNIKOV O, FENOLLAR F, RAOULT D, DAVOUST B. Molecular detection of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs from Kabylie, Algeria. *Ticks Tick Borne Dis.* 2015 Mar ; 6(2):198-203. doi: 10.1016

DE LA FUENTE, J., A. TORINA, ET AL. "Serologic and molecular characterization of *Anaplasma* species infection in farm animals and ticks from Sicily." *Veterinary Parasitology.* (2005). 133(4): 357-362.

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. Functional genomic studies of tick cells in response to infection with the cattle pathogen, *Anaplasma marginale*. *Genomics*, 2007, 90, 712–722.

DE LA FUENTE J., KOCAN K.M., BLOUIN E.F., ZIVKOVIC Z., NARANJO V., ALMAZAN C., ESTEVES E., JONGEJAN F., DAFFRE S., MANGOLD A.J. Functional genomics and evolution of tick–*Anaplasma* interactions and vaccine development. *Veterinary Parasitology*, 2010, 167, 175–186.

DE LA FUENTE, J., M. W. ATKINSON, J. T. HOGG, D. S. MILLER, V. NARANJO, C. ALMAZAN, N. ANDERSON, AND K. M. KOCAN. 2006. Genetic characterization of *Anaplasma ovis* strains from bighorn sheep in Montana. *Journal of Wildlife Diseases* 42: 381–385.

DE LA FUENTE, J., VAN DEN BUSSCHE, R.A., KOCAN, K.M., Molecular phylogeny and ogeography of North American isolates of *Anaplasma marginale* (Rickettsiaceae: Ehrlichieae). *Vet Parasitol*, 2001, 97, 65-76.

DERDAKOVA, MARKETA, ASTERIA ŠTEFANCIKOVA, EVA ŠPITALSKA, VERONIKA TARAGELOVA, TATIANA KOSTALOVA, GABRIELA HRKLOVA, KATERINA KYBICOVA., “Emergence and Genetic Variability of *Anaplasma* Species in Small Ruminants and Ticks from Central Europe.” *Veterinary Microbiology* 153, no. 3–4 (December 2011): 293–98. doi:10.1016/j.vetmic.2011.05.044.

DE SILVA, A. M., ANE. FIKRIG, 1997: Arthropod- and host-specific gene expression by *Borrelia burgdorferi*. *J. Clin. Invest.* 99,377–379.

DIB L., BITAM I., TAHRI M., BENSOUILAH M., DE MEEÛS T. Competitive Exclusion between Piroplasmosis and Anaplasmosis Agents within Cattle. *PLoS Pathog*, 2008, 4 (1): e7. doi:10.1371/journal.ppat.0040007.

DOUDIER B., OLANO J., PAROLA P., BROUQUI P. Factors contributing to emergence of *Ehrlichia* and *Anaplasma spp.* As human pathogens. *Veterinary Parasitology*, 2010, 167, 149–154.

DUMLER J.S. *Anaplasma* and *Ehrlichia* infection. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2005, 1063, 361-373.

DUMLER J.S., BARBET A.F., BEKKER C.P.J., DASCH G.A., PALMER G.H., RAY S.C., RIKIHISA Y., RURANGIRWA F.R.: Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the

order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and ‘HGE agent’ as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2001, 51, 2145–2165.

DUMLER J.S., BROUQUI P. Molecular diagnosis of human granulocytic anaplasmosis. *Expert Rev. Mol. Diagn.*, 2004, 4 (4), 559-569.

DUNNING HOTOPP J.C., LIN M., MADUPU R., CRABTREE J., ANGIUOLI S.V., EISEN J., SESHADRI R, REN Q., WU M. et al. Comparative genomics of emerging human ehrlichiosis agents. *PLOS Genetics*, 2006, 2, 208-223.

**E**CONOMOU A. Following the leader: bacterial protein export through the Sec pathway. *Trends in Microbiology*, 1999.7: 315-320.

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

EL HAJ N., KACHANI M., BOUSLIKHANE M., OUHELLI H., AHAMI A.T., KATENDE J., MORZARIA S.P. Séroépidémiologie de la theilériose à *Theileria annulata* et de la babésiose à *Babesia bigemina* au Maroc. *Revue Méd. Vét.* 2002a, 153 (3), 189-196.

EL HAJ N., KACHANI M., OUHELLI H., BOUSLIKHANE M., AHAMI A.T., EL GUENNOUNI R., EL HASNAOUI M., KATENDE J.M., MORZARIA S.P. Eudes épidémiologiques sur *Babesia bigemina* au Maroc. *Revue Méd. Vét.*, 2002b, 153, 12, 809-814

ENIGKK K., Susceptibility of the eland antelope for *Anaplasma ovis* and

*Eperythrozoon ovis* Dtsch, tropenmen., 1942. 46: 48-52,

ESTRADA-PEÑA, A. J. DE LA FUENTE "The ecology of ticks and epidemiology of tick-borne viral diseases." *Antiviral Research* 2014. **108**(0): 104-128.

ESTRADA-PEÑA A., AYLLON N., DE LA FUENTE J. Impact of climate trends on tick-borne pathogen transmission. *Frontiers in Physiology*, 2012, 3 (64), 1-12.

EUZEBY J. Les hémoprotozooses des Ovins en France. *Rev MédVét.* 1988; 139(1): 69-81.

**F**arougou S., Tassou A.W., Tchabode D.M., Kpodekon M., Boko C., Youssao A.K.I. (2007). Tiques et hémoparasites du bétail dans le nord-Bénin. *Revue Méd. Vét.*, 2007, 158, 8-9, 463-467.

FERNANDEZ-RUVALCABA M., CANTO ALARON G.J., ABOYTES TORRES R.: Seroprevalence of *Babesia spp.* and *Anaplasma spp.* in the municipality of Santiago Ixcuintla, Mexico. *Vet. Mexico*, 1995, 26, 407-409.

FLACH E.J., OUHELLI H., WADDINGTON D., OUDDICH M., SPOONER R.L.: Factors influencing the transmission and incidence of tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection in cattle) in Morocco. *Vet. Parasitol.*, 1995, 59, 177-188.

FOLEY J.E., KRAMER V., WEBER D. Experimental infection of dusky-footed wood rats (*Neotoma fuscipes*) with Ehrlichia phagocytophila sensu lato. *J.Wildl. Dis.*, 2002, 38, 194-198.

FRANZEN P., ASPAN A., EGENVALL A., GUNNARSSON A., ABERG L., PRINGLE J. Acute clinical, hematologic, serologic, and polymerase chain reaction findings in horses experimentally infected with a European Strain of *Anaplasma phagocytophilum*. *J. Vet. Intern. Med.*, 2005, 19, 232-239.

FRIEDHOFF KT. Tick-borne diseases of sheep and goats caused by *Babesia*, *Theileria*

or *Anaplasma spp.* *Parassitologia.* 1997. Jun;39(2):99-109. Review.

FRIEDHOFF, K.T., Tick-borne diseases of sheep and goats caused by *Babesia*, *Theileria* or *Anaplasma spp.* *Parassitologia*, 1997.39, 99– 109.

FRENCH D.M., BROWN W.C., PALMER G.H. Emergence of *Anaplasma marginale* antigenic variants during persistent rickettsemia. *Infect. Immun.*, 1999, 67, 5834-5840.

FRENCH D.M., MCELWAIN T.F., MCGUIRE T.C., PALMER G.H. Expression of *Anaplasma marginale* major surface protein 2 variants during persistent cyclic rickettsemia. *Infect. Immun.*, 1998, 66, 1200–1207.

**G**ACHOHI J.M., NGUMI P.N., KITALAD P.M., SKILTON R.A. Estimating seroprevalence and variation to four tick-borne infections and determination of associated risk factors in cattle under traditional mixed farming system in Mbeere District, Kenya. *Preventive Veterinary Medicine*, 2010, 95, 208-223.

Galindoa Ruth C., Nieves Ayllóna, Tania Cartaa, Joaquín Vicentea, Katherine M. Kocanb, Christian Gortazara, José de la Fuentea, Characterization of pathogen-specific expression of host immune response genes in *Anaplasma* and *Mycobacterium* species infected ruminants, *Microbiology and Infectious Diseases* 33 (2010) e133–e142.

GAUNT, S., BEALL, M., STILLMAN, B., LORENTZEN, L., DINIZ, P., CHANDRASHEKAR, R., BREITSCHWERDT, E., Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*. 2010.

GE, Y. RIKIHISA, Y. *Anaplasma phagocytophilum* delays spontaneous human neutrophil apoptosis by modulation of multiple apoptotic pathways. *Cell Microbiol* (2006) 8: 1406–1416.

GERN, L., P. F. HUMAIR. Ecology of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Europe. In: J Gray, O. Kahl, RS Lane, et al. eds. Lyme Borreliosis: Biology, Epidemiology and Control. Wallingford, Oxon, UK: CABI International: 2002. 149-174.

GERN, L., AND O. RAIS. Efficient transmission of *Borrelia burgdorferi* between cofeeding *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* 1996;33: 189-192.

GIARDINA S., ASO P.M., BRETANA A. Antigen recognition on *Anaplasma marginale* and bovine erythrocytes: An electron microscopy study. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1993, 38, 183-191.

GOKCE H. I., WOLDEHIWET Z. The effects of *Ehrlichia (Cytoecetes) phagocytophila* on the clinical chemistry of sheep and goats. *J. Vet. Med. Biol.*, 1999, 46, 93-103.

GODA, AZZA SA, WAFAA A. OSMAN, A. MAHMOUD MONA, AND TAREK R. ABOU-ELNAGA. "Seroprevalence of *Anaplasma Ovis* Antibodies in Small Ruminants by Major Surface Protein 5 Competitive Inhibition Enzyme-Linked Immunosorbent Assay." *Suez Canal Veterinary Medicine Journal* 1 (2009): 287-97.

GOFF, W., D. STILLER, D. JESSUP, P. MSOLLA, W. BOYCE, AND W. FOREYT. Characterization of an *Anaplasma ovis* isolate from desert bighorn sheep in southern California. *Journal of Wildlife Diseases* 1993. 29: 540-546.

GOODMAN J.L., NELSON C., VITALE B., MADIGAN J.E., DUMLER J.S., KURTTI T.J., MUNDERLOH U.G. Direct cultivation of the causative agent of human granulocytic ehrlichiosis. *N. Engl. J. Med.*, 1996, 334, 209-215.

Guglielmone, A. A., R. G. Robbins, D. A. Apanaskevich, T. N. Petney, A. Estrada-Pena, I. G. Horak, R. Shao, and S. C. Barker. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. *Zootaxa* 2010. 2528: 1-28.

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

HAIRGROVE T, SCHROEDER ME, BUDKE CM, RODGERS S, CHUNG C, UETI MW, Molecular and serological in-herd prevalence of *Anaplasma marginale* infection in Texas cattle. *Prev Vet Med.* 2015; 119(1-2):1-9.

HAPUNIK J, VICHOVA B, KARBOWIAK G, WITA I, BOGDASZEWSKI M, PET'KO B. Wild and farm breeding cervids infections with *Anaplasma phagocytophilum*. *Ann Agric Environ Med.* 2011; 18(1):73-7.

HERRON, M.J., NELSON, C.M., LARSON, J., SNAPP, K.R., KANSAS, G.S., AND GOODMAN, J.L. Intracellular parasitism by the human granulocytic ehrlichiosis bacterium through the P-selectin ligand, PSGL-1. *Science* (2000) 288: 1653-1656.

HOOGSTRAAL, H., AND A. AESCHLIMANN. 1982. Tick-host specificity. *Bull Soc Entomol Suisse* 55.

HORNOK, S; ELEK, V; DE LA FUENTE, J; NARANJO, V; FARKAS, R; MAJOROS, G AND FÖLDVARI, G First serological and molecular evidence on the endemicity of *Anaplasma ovis* and *A. marginale* in Hungary. *Vet. Microbiol.*, (2007). 122: 316-322.

HORNOK, S., J. FUENTE, I. G. DE MERA, M. L. MELI, V. ELEK, E. GÉONCZI, T. MEILI, B. T\_ANCZOS, R. FARKAS, H. LUTZ, AND R. HOFMANN- LEHMANN, First molecular evidence of *Anaplasma ovis* and *Rickettsia* spp. in keds (Diptera: Hippoboscidae) of sheep and wild ruminants. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011: 11, 1319-1321.

HUANG, B., HUBBER, A., MCDONOUGH, J.A., ROY, C.R., SCIDMORE, M.A., AND CARLYON, J.A. The *Anaplasma phagocytophilum*-occupied vacuole

selectively recruits Rab-GTPases that are predominantly associated with recycling endosomes. *Cell Microbiol* (2010) **12**: 1292–1307.

HUANG, B., TROESE, M.J., HOWE, D., YE, S., SIMS, J.T., HEINZEN, R.A., *Anaplasma phagocytophilum* APH\_0032 is expressed late during infection and localizes to the pathogen-occupied vacuolar membrane. *Microb. Pathog.* (2010) **49**: 273–284.

HUANG, B., TROESE, M.J., YE, S., SIMS, J.T., GALLOWAY, N.L., BORJESSON, D.L., AND CARLYON, J.A. *Anaplasma phagocytophilum* APH\_1387 is expressed throughout bacterial intracellular development and localizes to the pathogen occupied vacuolar membrane. *Infect. Immun.* (2010) **78**: 1864–1873.

HUECK C.J. 1998. Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1998.62: 379-433.

**I**NOKUMA H, OHNO K, ONISHI T, RAOULT D, BROUQUI P. Detection of ehrlichial infection by PCR in dogs from Yamaguchi and Okinawa Prefectures. *Japan J Vet Med Sci.* 2001 ; 63:815–7.

**J**AFARBEKLOO A, BAKHSHI H., F. FAGHIHI3, Z. TELMADARRAIY, A. KHAZENI, M. A. OSHAGHI2, M. R. RAMZGOUYAN, M. M. SEDAGHAT. Molecular Detection of *Anaplasma* and *Ehrlichia* Infection in Ticks in Borderline Of Iran-Afghanistan. *J. Biomedical Science and Engineering*, 2014, 7, 919-926

JALALI, S. M., S. Bahrami, A. Rasooli, S. Hasanvand. “Evaluation of Oxidant/antioxidant Status, Trace Mineral Levels, and Erythrocyte Osmotic Fragility in Goats Naturally Infected with *Anaplasma Ovis*.” *Tropical Animal Health and Production*, May 3, 2016. doi: 10.1007/s11250-016-1071-0.

JALALI, S. M., Z. KHAKI, B. KAZEMI, M. BANDEHPUR, S. RAHBARI, M. RAZI

JALALI, AND S. P. YASINI. “Molecular Detection and Identification of *Anaplasma* Species in Sheep from Ahvaz, Iran.” *Iranian Journal of Veterinary Research* 14, no. 1 (2013): 50–56.

JILINTAI, SEINO, N., HAYAKAWA, D., SUZUKI, M., HATA, H., KONDO, S., MATSUMOTO, K., YOKOYAMA, N., INOKUMA, H., Molecular survey for *Anaplasma bovis* and *Anaplasma phagocytophilum* infection in cattle in a pastureland where sika deer appear in Hokkaido, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2009. 62, 73–75.

JONES, L. D., C. R. DAVIES, G. M. STEELE, AND P. A. NUTTALL. A novel mode of arbovirus transmission involving a nonviremic host. *Science* 1987. 237: 775-777.

JONGEJAN F., UILENBERG G. Ticks and control methods. *Rev. Sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1994, 13 (4), 1201-1226.

**K**ACHANI M., FLACH E, WILLIAMSON S., OUHELLI H., EL HASNAOUI M., SPOONER R.L. The use of an enzyme-linked immunosorbent assay for tropical theileriosis research in Morocco. *Prev. Vet. Med.*, 1996, 26, 329-339.

KAHL, O., L. GERN, L. EISEN, AND R. S. LANE. 2002. Ecological research on *Borrelia burgdorferi* sensu lato: Terminology and some methodological pitfalls, pp. 29–46. In J. Gray, O. Kahl, R. S. Lane and G. Stanek (eds.), *Lyme Borreliosis: Biology, Epidemiology and Control*. CABI Publishing.

KAHLON, A., OJOGUN, N., RAGLAND, S.A., SEIDMAN, D., TROESE, M.J., OTTENS, A.K., *Anaplasma phagocytophilum* Asp14 is an invasin that interacts with mammalian host cells via its C terminus to facilitate infection. *Infect. Immun.* (2013) **81**: 65–79.

KAWAHARA, M., RIKIHISA, Y., LIN, Q., ISOGAI, E., TAHARA, K., ITAGAKI, A., HIRAMITSU, Y.,TAJIMA, T., Novel genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum*,

- Anaplasma bovis, Anaplasma centrale, and a novel Ehrlichia sp. in wild deer and ticks on two major islands in Japan. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006. 72, 1102-1109.
- KESSLER, R.H., RISTIC, M., SELLS, D.M., CARSON, C.A., *In vitro* cultivation of *Anaplasma marginale*: Growth pattern and morphologic appearance. *Am. J. Vet. Res.* 1979. 40 (12), 1767-1773.
- KIMBERLING, C.V. JENSEN AND SWIFT'S diseases of sheep, 3rd ed. Lea and Febiger, Philadelphia, Pennsylvania, 1988. 394 pp.
- KHAYAT, S.M. AND GILDER, A. A. Ovine piroplasmosis in Iraq. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* (1947). 41: 119-126.
- KIMBERLING, C.V. Disease of the blood and blood forming system, in *Diseases of sheep*, 3rd ed., edited by R. Jensen & B.L. Swift. Philadelphia: Lea and Febiger. 1988.
- KNOWLES, D.P., DE ECHAIDE, S.T., PALMER, G. McGUIRE, T., STILLER, D. McELWAIN, T. 1996. Antibody against an *Anaplasma marginale* MSP5 epitope common to tick and erythrocyte stages identifies persistently infected cattle. *Journal of Clinical Microbiology*, 34:2225–2230.
- KOCAN K.M., DE LA FUENTE J., BLOUIN E.F., COETZEE J.F., EWING S.A. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Veterinary Parasitology*, 2010, 167, 95–107.
- KOCAN K.M., DE LA FUENTE J., BLOUIN E.F., GARCIA-GARCIA J.C. *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae): recent advances in defining host–pathogen adaptations of a tick-borne rickettsia. *Parasitology*, 2004, 129, S285–S300.
- KOCAN K.M., DE LA FUENTE J., GUGLIELMONE A.A., MELENDEZ R.D. Antigen and Alternatives for Control of *Anaplasma marginale* Infection in Cattle. *Clinical Microbiology Reviews*, 2003, 16 (4), 698–712.
- KOCAN K.M., STILLER D., GOFF W.L., CLAYPOOL P.L., EDWARDS W., EWING S.A., MCGUIRE T.C., HAIR J.A., BARRON S.J. Development of *Anaplasma marginale* in male *Dermacentor andersoni* transferred from parasitemic to susceptible cattle. *Am.J. Vet.Res.* 1992, 53, 499–507.
- KORENBERG, E.I., KRYUCHECHNIKOV, V.N., KOVALEVSKY, Y.V., Advances in investigations of Lyme borreliosis in the territory of the former USSR. *Eur. J. Epidemiol.* 1993, 9, 86–91.
- KOSTAKIOTI M., C.L. NEWMAN, D.G. THANASSI ET C. STATHOPOULOS. Mechanisms of protein export across the bacterial outer membrane. *Journal of Bacteriology*, 2005. 187: 4306-4314.
- KUBELOVA M, MAZANCOVA J, AND ŠIROKÝ P, “*Theileria*, *Babesia*, and *Anaplasma* Detected by PCR in Ruminant Herds at Bié Province, Angola.” *Parasite*, 2016, 19(4):417-22.
- KUTTLER K.L. *Anaplasma* infections in wild and domestic ruminants: a review. *Journal of Wildlife*, 1984, 20 (1), 12–20.
- L’HOSTIS M., SEEGER H. Tick-borne parasitic diseases in cattle: current knowledge and prospective risk analysis related to the ongoing evolution in French cattle farming systems. *Vet. Res.*, 2002, 33, 599–611.
- LEE, H.C., KIOI, M., HAN, J., PURI, R.K., AND GOODMAN, J.L. *Anaplasma phagocytophilum*-induced gene expression in both human neutrophils and HL-60 cells. *Genomics* (2008) 92: 144–151.
- LEE, SH, BY JUNG, AND D KWAK. “Evidence of *Anaplasma* Spp. Exposure in Native Korean Goats (*Capra Hircus Coreanae*).” *Veterinárni Medicína* 60, no. 05 (2015): 248–52. doi:10.17221/8176-VETMED.
- LEGER E, VOUREH G, VIAL L, CHEVILLON C, MCCOY KD: Changing distributions of ticks: causes and

consequences. *Experimental and Applied Acarology* (2013) 59, 219–244.

LESTO GUARD, F. Deuxieme note sur les piroplasmoses du mouton en Algerie. L'Anaplasmose : *Anaplasma ovis* nov. sp. *Bul. Soc. Pathol. Exot.* 1924. 17:784-787.

LI, HAO, YUAN-CHUN ZHENG, LAN MA, NA JIA, BAO-GUI JIANG, RUI-RUO JIANG, QIU-BO HUO, "Human Infection with a Novel Tick-Borne *Anaplasma* Species in China: A Surveillance Study." *The Lancet Infectious Diseases* 15, no. 6 (June 2015): 663–70. doi:10.1016/S1473-3099(15)70051-4.

LIMA, M.L.F., SOARES, P.T., RAMOS, C.A.N., ARAUJO, F.R., RAMOS, R.A.N., SOUZA, I.I.F., FAUSTINO, M.A.G., ALVES, L.C.A., Molecular detection of *Anaplasma platys* in a naturally-infected cat in Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 2010. 41, 381–385.

LIN M., RIKIHISA Y. *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophilum* lack genes for lipid A biosynthesis and incorporate cholesterol for their survival. *Infect Immun.*, 2003, 71, 5324-5331.

LIU XIANG-YE, XIANG-YAO GONG, CHEN ZHENG, QI-YUAN SONG, TING CHEN, JING WANG, JIE ZHENG, HONG-KUAN DENG, KUI-YANG ZHENG. Molecular epidemiological survey of bacterial and parasitic pathogens in hard ticks from eastern China, *Acta Trop.* 2016, 13;167:26-30.

Liu, Z., M. Ma, Z. Wang, J. Wang, Y. Peng, Y. Li, G. Guan, J. Luo, and H. Yin. "Molecular Survey and Genetic Identification of *Anaplasma* Species in Goats from Central and Southern China." *Applied and Environmental Microbiology* 78, no. 2 (2012): 464–70. doi:10.1128/AEM.06848-11

MAMA M., LIU Z<sup>1</sup>, WANG Z, WANG J, PENG Y, LI Y, GUAN G, LUO J, YIN H. Molecular survey and genetic identification of *Anaplasma* species in goats from central and southern China. 2012 *Appl Environ Microbiol.* 78(2):464-70.

MAGGI, R.G., MASCARELLI, P.E., HAVENGA, L.N., NAIDOO, V., BREITSCHWERDT, E.B., Co-infection with *Anaplasma platys*, *Bartonella henselae* and *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* in a veterinarian. *Parasit. Vectors*, 2013.

MAKALA L.H., MANGANI P., FUJISAKI K. & NAGASAWA H. The current status of major tick borne diseases in Zambia. *Veterinary Research*, 2003, 34, 27–45.

MANICKAM, R. Epidemiological and clinical observations of acute Anaplasmosis in sheep. *Indian. J. Vet. Med.* 1987. 7:159-160.

MCDADE J.E., STAKEBAKE J.R., GERONE P.J. Plaque assay system for several species of *Rickettsia*. *J. Bacteriol.* 1969, 99, 910-912.

MEADA KG, GORMLEY E, DOYLE MB, FITZSIMONS T, O'FARRELLY C, COSTELLO E, Innate gene repression associated with *Mycobacterium bovis* infection in cattle: toward a gene signature of disease. *BMCGenomics* 2007;8:400.

MEDDOUR-BOUDERDA K., MEDDOUR A. Clés d'identification des Ixodina (Acarina) d'Algérie. *Scienc.et Techno.* 2006, 24, 32- 42.

MIN K.W., REED J.A., WELCH D.F., SLATER L.N. Morphologically variable bacilli of cat scratch disease are identified by immunocytochemical labeling with antibodies to *Rochalimaea henselae*; *Am. J. Clin. Pathol.* ; 1992 ; Vol. 101 ; p.607-610

MOREL P.C. Maladies à tiques en Afrique. In: Chartier C., Itard J., Morel P.C., Troncy P.M. (Eds), Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Editions Médicales internationales, Cachan, Editions TEC et DOC, Paris, 2000, 452-761.

MOREL P.C. Maladies à tiques en Afrique. In: Chartier C., Itard J., Morel P.C., Troncy P.M. (Eds), Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Editions Médicales internationales,

Cachan, Editions TEC et DOC, Paris, 2000, 452-761.

MOSQUEDA J., OLVERA-RAMÍREZ A., AGUILAR-TIPACAMÚ G., CANTÓ G.J. Current Advances in Detection and Treatment of Babesiosis. *Current Medicinal Chemistry*, 2012, 19, 1504-1518.

MOUMENE Amel, Caractérisation de déterminants moléculaires du pouvoir pathogène d'*Ehrlichia ruminantium* : rôle du système des sécrétions de type IV et des protéines de la membrane externe, thèse de doctorat, *UNIVERSITE DES ANTILLES ET DE LA GUYANE*, DISCIPLINE : Microbiologie 2015.

MOULOUDI, H., 2006: Anaplasmoses des ruminants: étude épidémiologique et détermination de la prévalence dans différentes régions du Maroc (Thèse de doctorat vétérinaire).

IAV Hassan II, Rabat, Morocco.

MUNDERLOH U.G., MADIGAN J.E., DUMLER J.S., GOODMAN J.L., HAYES S.F., BARLOUGH J.E. et al. Isolation of the equine granulocytic ehrlichiosis agent, *Ehrlichia equi*, in tick cell culture. *J. Clin. Microbiol.*, 1996, 34, 664-670.

MUSOKE A.J., PALMER G.H., MCELWAIN T.F., NENE V., MCKEEVER D. Prospects subunits vaccines against tick-borne diseases. *Br. Vet. J.*, 1996, 152, 621-639.

NAYEL M., EL-DAKHLY KH.M. ABOULAILA M., ELSIFY A., HASSAN H., IBRAHIM E., SALAMA A., YANAI T. The use of different diagnostic tools for *Babesia* and *Theileria* Parasites in cattle in Menofia, Egypt. *Parasitol Res*, 2012, 111, 1019-1024.

NEITZ, W. O. 1968. *Anaplasma ovis* infection. *Bull. Off. Int. Epiz.* 70:359-365.

NDUNG'U LEAH W., CARMEN AGUIRRE, FRED R. RURANGIRWA, TERRY F. MCELWAIN, TRAVIS C. MCGUIRE, DONALD P. KNOWLES, AND

GUY H. PALMER Detection of *Anaplasma ovis* Infection in Goats by Major Surface Protein 5 Competitive Inhibition Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. 1995, *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 675-679.

NELSON C.M., HERRON M.J., FELSHEIM R.F., SCHLOEDER B.R., GRINDLE S.M., CHAVEZ A.O., KURTTI T.J., MUNDERLOH U.G. Whole genome transcription profiling of *Anaplasma phagocytophilum* in human and tick host cells by tiling array analysis. *BMC Genomics* 2008, 9 (364), 1-16.

NGERANWA, J. J. N., S. P. SHOMPOLE, E. H. VENTER, A. WAMBUGU, J. E. CRAFFORD, AND B. L. PENZHORN. "Detection of Anaplasma Antibodies in Wildlife and Domestic Species in Wildlife-Livestock Interface Areas of Kenya by Major Surface Protein 5 Competitive Inhibition Enzyme-Linked Immunosorbent Assay." *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 75, no. 3 (2008): 199.

NICHOLSON, W.L., ALLEN, K.E., MCQUISTON, J.H., BREITSCHWERDT, E.B., LITTLE, S.E. The increasing recognition of rickettsial pathogens in dogs and people. *Trends Parasitol.* 2010. 26, 205-212.

NIU, H., KOZJAK-PAVLOVIC, V., RUDEL, T., AND RIKIHISA, Y. (2010) *Anaplasma phagocytophilum* Ats-1 is imported into host cell mitochondria and interferes with apoptosis induction. *PLoS Pathog* (2010) 6 : e1000774.

NIU, H., XIONG, Q., YAMAMOTO, A., HAYASHI-NISHINO, M., AND RIKIHISA, Y. Autophagosomes induced by a bacterial Beclin 1 binding protein facilitate obligatory intracellular infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (2012) 109: 20800-20807.

NIU, H., YAMAGUCHI, M., AND RIKIHISA, Y. Subversion of cellular autophagy by *Anaplasma phagocytophilum*. *Cell Microbiol* (2008) 10: 593-605.

NOAMAN, V Identification of hard ticks collected from sheep naturally infected with *Anaplasma ovis* in Isfahan province, central Iran. *Comp. Clin. Pathol.*, (2012). 21: 367-369.

**O**AKS S.C., OSTERMAN J.V., HETRICK F.M. Plaque assay and cloning of scrub typhus rickettsia in irradiated L-929 cells. *J. Clin. Microbiol.*, 1977, 6, 76-80.

OGDEN N.H., BOWN K., HORROCKS B.K., WOLDEHIWET Z., BENNETT M. Granulocytic Ehrlichia infection in Ixodid ticks and mammals in woodlands and uplands of the U.K. *Med. Vet. Entomol.*, 1998, 12, 423-429.

OHASHI, N., UNVER, A., ZHI, N., RIKIHISA, Y., Cloning and characterization of multigenes encoding the immunodominant 30-kilodalton major outer membrane proteins of Ehrlichia canis and application of the recombinant protein for serodiagnosis. *J. Clin. Microbiol.*, 1998. **36**(9): p. 2671-2680.

OIE. Anaplasmosse bovine, In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, Chapter 2.4.1., 2008.

OIE. Bovine anaplasmosis, In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, Chapter 2.4.1., 2012.

OKUTHE O.S., BUYU G.E. Prevalence and incidence of tickborne diseases in smallholder farming systems in the western-Kenya highlands. *Veterinary Parasitology*, 2006, 141, 307-312.

OLIVEIRA J.B., MONTOYA J., ROMERO J.J., URBINA A., SOTO-BARRIENTOS N., MELO E.S.P., RAMOS C.A.N., ARAÚJO F.R. Epidemiology of bovine anaplasmosis in dairy herds from Costa Rica. *Veterinary Parasitology*, 2011, 177, 359-365.

OMACAP. Colostrume et transfert d'immunité chez les caprins, édition Mars 2015.

OOSHIRO, M., ZAKIMI, S., MATSUKAWA, Y., KATAGIRI, Y., INOKUMA, H., Detection of Anaplasma bovis and Anaplasma phagocytophilum from cattle on Yonaguni island, Okinawa. Japan. *Vet. Parasitol.* 2008. 154, 360-364.

**P**ALMER G., MCGUIRE T. Immune serum against Anaplasma marginale initial bodies neutralizes infectivity for cattle. *Immunology*, 1984, 133, 1010-1015.

PAROLA, P., D. RAOULT. Tick-borne bacterial diseases emerging in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2001. 7: 80.

PASCALE M, The world's number one vector of animal diseases, INRA 2016,

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

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

PEREZ, M., RIKIHISA, Y., WEN, B, Ehrlichia canis-like agent isolated from a man in Venezuela : antigenic and genetic characterization. *J. Clin. Microbiol.*, 1996. **34**(9): p. 2133-2139.

PICHON S. Syst\_eme de s\_ecretion de type IV et prot\_eines \_a domaines ankyrines dans les interactions wolbachia-arthropodes. 2009, pour l'obtention du grade de docteur de l'universite de poitiers faculte des sciences fondamentales et appliquees Ecole doctorale : Gay-Lussac Secteur de Recherche : Biologie de l'environnement, Biologie des Populations, Ecologie. P253

PITEL PH., LEGRAND L., JONCOUR G., MAILLARD R., HARY C., FORTIER G. L'ehrlichiose granulocytaire bovine. *JVN-Recueil des interventions* -, 2008, 1-6.

PRUNEAU L, MOUMENE A, MEYER DF, MARCELINO I, LEFRANÇOIS T, VACHIERY N, Understanding Anaplasmataceae pathogenesis using "Omics"

approaches, *Front Cell Infect Microbiol.* 2014. doi: 10.3389.

PSAROULAKI A, CHOCHLAKIS D, SANDALAKIS V, VRANAKIS I, IOANNOU I, TSELENTIS Y Phylogentic analysis of *Anaplasma ovis* strains isolated from sheep and goats using groEL and mps4 genes. *Vet Microbiol* (2009) 138(3–4):394–400

QIU H. , P.J. KELLY, J. ZHANG, Q LUO, YIYANG,Y. MAO, Z. YANG, J. LI. H. WU,CH. WANG. Molecular Detection of *Anaplasma* spp. and *Ehrlichia* spp. in Ruminants from Twelve Provinces of China. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology* Volume 2016 (2016), Article ID 9183861, 9 pages.

RADOSTITS, 8ème éd. *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses* -- by D.C. Blood, O. M. Radostits, C. C. Gay and K. W. Hinchcliff 2000.

RAFYI, AET MAGHAMI.G 1961. *Bull. Off. INT. Epid.* 65: 1769-1783.

RAJASOKKAPPAN, S., G. SELVARAJU. "PREVALENCE OF ANAPLASMOSIS IN GOATS IN RAMANATHAPURAM DISTRICT OF TAMIL NADU." Accessed May 28, 2016.

RAMOS RA, LATROFA MS, GIANNELLI A, LACASELLA V, CAMPBELL BE, DANTAS-TORRES F, Detection of *Anaplasma platys* in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* group ticks by a quantitative real-time PCR. *Vet Parasitol.* 2014 ; 205(1–2):285–8.

RANDOLPH, S. E., L. GERN, AND P. A. NUTTALL. Co-feeding ticks: Epidemiological significance for tick-borne pathogen transmission. *Parasitology today* 1996. 12: 472-479.

RAR V, GOLOVLJOVA I. *Anaplasma*, *Ehrlichia*, and "Candidatus *Neoehrlichia*" bacteria: pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. *Infect. Genet. Evol.* 2011. 11:1842–1861.

RASTEGAIEFF, E.F., Un nouveau vecteur dans la transmission des hémoparasites des animaux domestiques : *Ornithodoros lahorensis*, Neumann 1908. *Annales de l'institut Pasteur*, 1935. 54, 250-258.

RAZMI, G.R, K DASTJERDI, H HOSSIENI, A NAGHIBI, F BARATI, AND M.R ASLANI. "An Epidemiological Study on *Anaplasma* Infection in Cattle, Sheep, and Goats in Mashhad Suburb, Khorasan Province, Iran." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1078, no. 1 (October 1, 2006): 479–81. doi:10.1196/annals.1374.089.

REBAUDET S., BROUQUI P. Ehrlichioses et anaplasmoses humaines. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), *Maladies infectieuses*, 2008, 8-037-I-25.

RENEER, D.V., KEARNS, S.A., YAGO, T., SIMS, J., CUMMINGS, R.D., MCEVER, R.P., AND CARLYON, J.A. (2006) Characterization of a sialic acid- and P-selectin glycoprotein ligand-1-independent adhesin activity in the granulocytotropic bacterium *Anaplasma phagocytophilum*. *Cell Microbiol* 8: 1972–1984.

RENNEKER S., J. ABDO, D. E. A. SALIH, T. KARAGENC, H. BILGIC, A. TORINA5, A. G. OLIVA, J. CAMPOS6, B. KULLMANN, J. AHMED AND U. SEITZER. Can *Anaplasma ovis* in Small Ruminants be Neglected any Longer?. *Transboundary and Emerging Diseases* : 60 (Suppl. 2) (2013) 105–112

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

RIKIHISA, Y. *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis*: subversive

manipulators of host cells. *Nature*. 2010, Publishing Group **8**: 328–339.

RIKIHISA Y. Mechanisms of Obligatory Intracellular Infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2011, 24 (3), 469–489.

RIKIHISA Y. The tribe Ehrlichieae and ehrlichial diseases. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1991, 4, 286-308.

RODRIGUEZ S.D., ORTIZ M.A.G., OCAMPO R.J., VEGA Y MURGUIA C.A. Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in Mexico. *Infection, Genetics and Evolution*, 2009, 9, 1092–1101.

RODRIGUEZ S.D., ORTIZ M.A.G., OCAMPO R.J., VEGA Y MURGUIA C.A. Molecular epidemiology of bovine anaplasmosis with a particular focus in Mexico. *Infection, Genetics and Evolution*, 2009, 9, 1092–1101.

RYEF, J.F., WEIBEL, J.I. ET THOMAS, G.M., Relationship of ovine to bovine anaplasmosis. *Carnell veterinarian*, 1964. 54, 407-414.

RYMASZEWSKA A. PCR for detection of tick-borne *Anaplasma phagocytophilum* pathogens: a review. *Veterinari Medicina*, 2011, 56 (11), 529–536.

**S**ALIH D.A., ABDEL RAHMANI M.B., MOHAMMED A.S., AHMED R., KAMAL S., EL HUSSAEIN A.M. (2009). Seroprevalence of tick-borne diseases among cattle in the Sudan. *Parasitol Res*, 2009, 104, 845–850.

SARKAR, A., HELLBERG, L., BHATTACHARYYA, A., BEHNEN, M., WANG, K., LORD, J.M., ET AL. Infection with *Anaplasma phagocytophilum* activates the phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt and NF- $\kappa$ B survival pathways in neutrophil granulocytes. *Infect. Immun.* (2012)**80**: 1615–1623.

SEONG GIYONG, YU-JUNG HAN, JEONG-BYOUNG CHAE, JOON-SEOK CHAE, DO-HYEON YU, YOUNG-SUNG LEE, JINHO PARK, BAE-KEUN PARK, JAE-GYU YOO, KYOUNG-SEONG CHOI: Detection of *Anaplasma* sp. in Korean Native Goats (*Capra aegagrus hircus*) on Jeju Island, Korea, *J Parasitol*, 2015, 53(6): 765-769

SERGENT E., DONATIEN A., PARROT L., LESTOQUARD F. Études sur les piroplasmoses bovines. *Arch. Inst. Pasteur Algérie*, 1945, 816 p.

SEVERO M.S., STEPHENS K.D., KOTSYFAKIS M., PEDRA J.H.F. *Anaplasma phagocytophilum*: deceptively simple or simply deceptive?. *Future Microbiol*, 2012, 7, 719–731.

SCHAFF, U.Y., TROTT, K.A., CHASE, S., TAM, K., JOHNS, J.L., CARLYON, J.A., Neutrophils exposed to *A. phagocytophilum* under shear stress fail to fully activate, polarize, and transmigrate across inflamed endothelium. *Am. J. Physiol., Cell Physiol.* (2010) **299**: C87–96.

SCOLES GA, GOFF WL, LYSYK TJ, LEWIS GS, KNOWLES DP. Validation of an *Anaplasma marginale* cELISA for use in the diagnosis of *A. ovis* infections in domestic sheep and *Anaplasma* spp. in wild ungulates. 2008 *Vet Microbiol.* (1989). 27;130 (1-2):184-90.

SHOMPOLE, S; WAGHELA, SD; RURANGIRWA, FR AND MCGUIRE, TC Cloned DNA probes identify *Anaplasma ovis* in goats and reveal a high prevalence of infection. *J. Clin. Microbiol.*, 27: 2730-2735.

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

SONENSHINE, D. E. 1991. *Biology of ticks*. New York: Oxford University Press 1.

SONENSHINE D.E., LANE R.S., NICHOLSON W.L. *Ticks (Ixodida)*. Medical

and Veterinary Entomology, 2002, 24, 517-558.

SPLITTER, E.J, ANTHONY, H.B. ET TWIEHAUS, M.J., *Anaplasma ovis* in the United States. Experimental studies with sheep and goats. American Journal of veterinary Research, 1956. 17, 487-491.

SPLITEUR, E.J, TWIEHAUS M.J., ET CASTRO, E.R , *Anaplasmosis* in sheep in the United States. Journal of American Veterinary Medical Association, 1955. 127, 244-245.

STICH R.W., SCHAEFER J.J., BREMER W.G., NEEDHAM G.R., JITTAPALAPONG S. Host surveys, ixodid tick biology and transmission scenarios as related to the tick-borne pathogen, *Ehrlichia canis*. Veterinary Parasitology, 2008, 158, 256–273.

STOLTSZ,W.H. Ovine and Caprine anaplasmosis Coatzer, J.A.W ; Thomson, G.E; Tustin , R.C, eds , Infectious disease of livestock, Vol .In 1.Oxford University Press,Cape Town, Oxford, New York. 1994. pp 431-438.

STUEN S.A., CASEY A.N., WOLDEHIWET Z., FRENCH N.P., OGDEN N.H. Detection by the polymerase chain reaction of *Anaplasma phagocytophilum* in tissues of persistently infected sheep. J. Comp. Pathol. 2006, 134, 101-104.

STUEN S. *Anaplasma phagocytophilum* –the Most Widespread Tick-Borne Infection in Animals in Europe. Veterinary Research Communications, 2007, 31 (Suppl.1), 79–84.

SUAREZ C.E., NOH S. Emerging perspectives in the research of bovine babesiosis and anaplasmosis. Veterinary Parasitology, 2011, 180, 109-125.

SUKUMARAN, B., MASTRONUNZIO, J.E., NARASIMHAN, S., FANKHAUSER, S., UCHIL, P.D., LEVY, R., *Anaplasma phagocytophilum* AptA modulates Erk1/2 signalling. *Cell Microbiol* (2011) 13: 47–61.

SWAI E.S., FRENCH N.P., BEAUCHAMP G., FITZPATRICK J.L., BRYANT M.J.,

KAMBARAGE D., OGDEN N. A longitudinal study of sero-conversion to tick-borne pathogens in smallholder dairy young stock in Tanzania. *Vet. Parasitol.*, 2005, 131,129–137.

SWANSON S.J., NEITZEL D., REED K.D., BELONGIA E.A. Coinfections Acquired from Ixodes Ticks. *Clinical Microbiology Reviews*, 2006, 19 (4), 708–72.

TISSOT DUPONT H., RAOULT D. Maladies transmises par les tiques. *Rev Med Interne* 1993, 14, 300-06.

THOMAS, V. AND FIKRIG, E. *Anaplasma phagocytophilum* specifically induces tyrosine phosphorylation of ROCK1 during infection. *Cell Microbiol* 9: 1730–1737.

Troese, M.J. and Carlyon, J.A. (2009) *Anaplasma phagocytophilum* dense-cored organisms mediate cellular adherence through recognition of human P-selectin glycoprotein ligand 1. *Infect. Immun.* (2007) 77: 4018–4027.

TORINA, A., A. ALONGI, V. NARANJO, S. SCIMECA, S. NICOSIA, V. DI MARCO, S. CARACAPPA, K. M. KOCAN, AND J. DE LA FUENTE. “Characterization of *Anaplasma* Infections in Sicily, Italy.” *Annals of the New York Academy of Sciences* 1149, no. 1 (December 2008): 90–93. doi:10.1196/annals.1428.065.

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

UILENBERG, C., C. J. A. H. V. VAN VORSTENBOSCH, N. M. PERIE. Blood parasites of sheep in the Netherlands I: *Anaplasma mesaeterum* (Rickettsiales anaplasmataceae). *Vet. Q.* 1979. 1: 14-22.

UMEMIYA-SHIRAFUJI R., TANAKA T., BOLDBAATAR D., TANAKA T., FUJISAKI K. Akt is an essential player in regulating cell/organ growth that the adult stage in the hard tick *Haemaphysalis longicornis*.

Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2012, 42, 164-173.

**V**ELUSAMY, R., RANI, N., PONNUDURAI, G., HARIKRISHNAN, T.J., ANNA, T., ARUNACHALAM, K., SENTHILVEL, K. ANBARASI, P. Influence of season, age and breed on prevalence of haemoprotozoan diseases in cattle of Tamil Nadu, India, *Veterinary World* 2014. 7(8): 574-578.

VERSCHOOR CP, PANT SD, YOU Q, KELTON DF, KARROW NA. Gene expression profiling of PBMCs from Holstein and Jersey cows subclinically infected with *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*. *Vet Immunol Immunopathol* 2010 ; 137:1–11.

VISSER, E.S., McGUIRE, T.C., PALMER, G.H., DAVIS, W.C., SHKAP, V., PIPANO, E. & KNOWLES, J.R. 1992. The *Anaplasma marginale* *msp5* gene encodes a 19-kilodalton protein conserved in all recognised *Anaplasma* species. *Infection and Immunity*, 60:5139–5144.

**W**ALKER A.R., BOUATTOUR A., CAMICAS J.-L., ESTRADA-PEÑA A., HORAK I.G., LATIF A.A., PEGRAM R.G. PRESTON P.M. *Ticks of Domestic Animals in Africa: a Guide to Identification of Species*. Ed. Bioscience Reports, Scotland, 2003, 222 p.

WERNERY U, KAADEN OR. *Infectious diseases of camelids*. Berlin: Blackwell Science; 2002. pages 23, 33, 87, 137, 181, 276, 285, 373.

WHIST, S.K., STORSET, A. K., JOHANSEN, G. M., LARSEN, H. J., Modulation of leukocyte populations and immune responses in sheep experimentally infected with *Anaplasma* (formerly *Ehrlichia*) *phagocytophilum*. *Vet Immunol Immunopathol*, 2003. 94(3-4): p. 163-75.

WOLDEHIWET Z., SCOTT G.R. In vitro propagation of *Cytoecetes phagocytophila*, the

causative agent of tick-borne fever. *Vet. Microbiol.* 1982, 7, 127-133.

WOLDEHIWET Z. The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. *Veterinary Parasitology*, 2010, 167, 108–122.

WOODFORD J.S., JONES T.W., RAE P.F., BOYD R., BELL-SAIKYI L. Sero-epidemiological studies of bovine Babesiosis on Pemba Island, Tanzania. *Vet. Parasitol.*, 1990, 37, 175-184.

**X**iong, Q., Lin, M., Rikihisa, Y. Cholesterol-dependent *Anaplasma phagocytophilum* exploits the low-density lipoprotein uptake pathway. *PLoS Pathog* 5: e1000329.

Xiong, Q. Rikihisa, Y. (2012) Subversion of NPC1 pathway of cholesterol transport by *Anaplasma phagocytophilum*. *Cell Microbiol* (2009) 14: 560–576.

**Y**IN H. ET LUO J. Ticks of small ruminants in china, *Parasitol Res* ; 2007 : 10.1007/s00436-007-0688-3.

YOUSFI MONOD R., AESCHLIMANN A. (1990). Recherches sur les tiques (Acarina, ixodidae) parasites de bovidés dans l'Ouest algérien. Inventaire systématique et dynamique saisonnière. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1986, 61, 341-358.

**Z**AUGG JL. Ovine anaplasmosis: In utero transmission as it relates to stage of gestation. *Am J Vet Res.* 1987 Jan;48(1):100-3.

ZEMZAMI, S., 2011: Contribution à l'étude des hémaparasitoses chez les races ovines au Maroc. (Thèse de doctorat vétérinaire).

IAV Hassan II, Rabat, Morocco.

ZHANG Y, LV Y, ZHANG F, ZHANG W, WANG J, CUI Y, WANG R, JIAN F, ZHANG L, NING C. Molecular and phylogenetic analysis of *Anaplasma* spp. in sheep and goats from six provinces of China. *J Vet Sci.* (2016): 523-529. doi: 10.4142.

ZHANG, J.-Z., POPOV, V.L., GAO, S., WALKER, D.H., AND YU, X.-J. The developmental cycle of *Ehrlichia chaffeensis* in vertebrate cells. *Cell Microbiol* (2007) 32 610–618.

ZHOU, MO, CAO, SHINUO, SEVINC, FERDA, SEVINC, MUTLU, CEYLAN, ONUR, EKICI, SEPIL, JIRAPATTHARASATE, CHAROONLUK, MOUMOUNI, PAUL FRANCK ADJOU, LIU, MINGMING, WANG, GUANBO, IGUCHI, AIKO, VUDRIKO, PATRICK, SUZUKI, HIROSHI, XUAN, XUENAN, Molecular detection and genetic characterization of Babesia, Theileria and Anaplasma amongst apparently healthy sheep and goats in the central region of Turkey. *Ticks and Tick-borne Diseases* <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.11.006>

ZIAM H, BENAOUF H. Prevalence of blood parasites in cattle from wilayates of Annaba and El Tarf east Algeria. *Arch Inst Pasteur Tunis*. 2004 ; 81(1-4):27-30.

ZOBBA R, ANFOSSI AG, PAPPAGLIA MLP, DORE GM, Molecular investigation and phylogeny of *Anaplasma* spp. in Mediterranean ruminants reveal the presence of neutrophilotropic strains closely related to *A. platys*. *Appl Environ Microbiol*. 2014; 80:271–280.

# *Annexes*

**ANEXE I : Fiche de renseignement sur l'animal prélevé**

**Fiche de renseignement sur l'animal prélevé (2016)**

Date : .....

Wilaya : .....

Commune : .....

N° d'élevage : .....

**Identification de l'animal et symptômes :**

Code de l'animale : .....

Race : .....

Sexe : .....

Age : .....

Couleur de la robe : .....

T° rectale : .....

Origine de l'animale :       acheté

natif

Gestation :                       oui

non

Avortement :                     oui

non

Couleur de muqueuses oculaire :     rose vif

peu pale

pale

**Pathologies antécédente** : .....

Traitements.....

**Pathologie actuelle** : .....

Traitements.....

**Infestation par les ectoparasites au moment du prélèvement :**

Présence des tiques

présence des poux

autres

absence des tiques

absence des poux

**ANEXE II : Questionnaire à l'intention des éleveurs**

**Questionnaire à l'intention des éleveurs**

Date : .....

Willaya : .....

Commune : .....

N° d'élevage : .....

Nom d'éleveur : ..... Adresse : .....

N° Tel : .....

**Description d'élevage :**

Type de production :     lactière             viande             mixte

Mode d'élevage :         intensif             extensif             semi intensif

Etat d'hygiène :         bonne                 moyenne             mauvaise

Traitement acaricide     régulier             occasionnel         pas de traitement

La cible                     animale             étable                 les deux

la durée..... Intervalle entre les traitements .....

Periodes des traitements.....

Résultats de traitement .....

## ANNEXE III : Examen microscopique des frottis sanguins

### 1. Réactifs

Méthanol absolue, Giemsa, Eau distillée, Huile à immersion.

### 2. Procédure (selon Itard, 2000) :

- 1) Réaliser un frottis sanguin mince selon la technique décrite dans la figure et laisser sécher à l'air.



lames identifiées



une goutte du sang sur la lame



réalisation d'un angle de 30° à 45

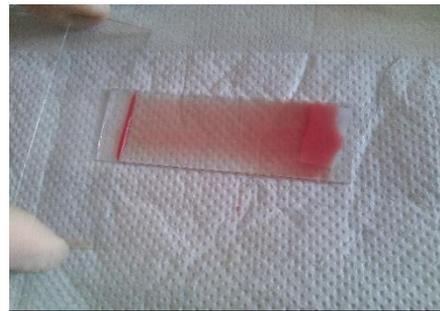


photo N°04: glissement de 2ème



une frottis mince

**Figure** : préparation des frottis sanguins.

- 2) Recouvrir les lames par le méthanol absolu pendant 10 min.
- 3) Ajouter le Giemsa sur chaque lame fixée par le méthanol absolue et laisser agir pendant 30 min.
- 4) Lavage et séchage de lames colorées.
- 5) Lecture sous microscope optique à huile à immersion.



Photo N° 6: microscope photomicroscopique OMAX utilisé pour l'examen des frottis sanguins

## ANNEXE IV : Examen sérologique par cELISA.

Test ELISA-c (Anaplasma Antibody Test Kit, cELISA, VMRD, Pullman, Washington, USA).

### - Réactifs du kit de diagnostic

Deux microplaques de 96-puits fixée avec l'antigène rMSP5,

100 × l'anticorps monoclonal et le conjugué couplé à la peroxydase,

Solution de lavage 10× et du tampon de dilution pour le conjugué prêt à l'emploi,

Substrat et solution stop prêt à l'emploi.

Témoins positif et négatif.



**Figure** : Réactifs de Kit cELISA, Anaplasma Antibody Test, VMRD.

### **Protocole**

- 1) ajouter 50 µl par puits de sérum non dilué à la plaque fixée avec l'antigène rMSP5 et incuber à température de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 60 min ;
- 3) Eliminer le sérum et laver la plaque 2 fois avec la solution de lavage diluée ;
- 4) Ajouter 50 µl/puits de l'anticorps monoclonal dilué et conjugué à la peroxydase à la plaque à laquelle a été fixée le rMSP5. Incuber à température de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 20 min ;
- 5) Eliminer l'anticorps monoclonal dilué et conjugué à la peroxydase et laver la plaque 4 fois avec la solution de lavage diluée ;
- 6) Ajouter 50 µl/puits de la solution substrat, couvrir la plaque avec une feuille et incuber 20 min à température de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  ;

7) Ajouter 50 µl/puits de solution stop à la solution substrat déjà dans les puits et tapoter le bord de la plaque pour mélanger doucement le mélange ;

8) Lire les plaques dans un lecteur à 620, 630 ou 650 nm.

### **Validation**

La moyenne de la densité optique (DO) du témoin négatif doit varier de 0,40 à 2,10 et Le pourcentage d'inhibition du témoin positif doit être supérieur ou égal à 30 %.

### **- Interprétation des résultats**

Le pourcentage d'inhibition est calculé comme suit :

$$\% I = 100 [1 - \text{DO de l'échantillon} \div \text{moyenne de la DO du témoin négatif}]$$

Les échantillons dont le pourcentage est inférieur à 30 % sont négatifs. Les échantillons dont le pourcentage est supérieur ou égal à 30 % sont positifs.