

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE-ALGER

PROJET DE FIN D'ETUDE

Pour l'obtention du

DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

THEME

CONTRIBUTION A L'ETUDE
D'EHRlichiose EQUINE

Présentés par :

Mr A. CHAOUI

Mr Y. AGUIDA

Soutenu le : 12/11/2009

Membres de jury:

PRESIDENT

Mme BOUKHARSS

Maitre de conférence

EXAMINATEUR

Mr BENTCHIKOU

Chargé de cours ENSV

EXAMINATEUR

Mme SAHRAOUI

Chargé de cours ENSV

PROMOTRICE

Mme AZZAG

Chargé de cours ENSV

Année universitaire : 2008-2009

Remerciement

Nous remercions sincèrement et très chaleureusement notre encadreur M^{me} AZZAG, pour son soutien permanent et sans relâche, son aide, sa compréhension, ses conseils et orientations fructueuses.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Dr. BOUKHARSSE qui nous a fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.

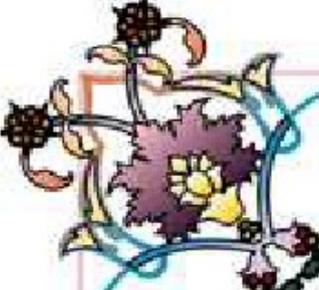
Nos remerciements vont également à Dr. BENCHIKOU .T. qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail.

Nos remerciements vont également à Dr. Sahraoui qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail.

Nos remerciements et notre reconnaissance vont à tous ceux ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Finalement, nous remercions tous nos enseignants qui nous ont suivi le long de nos études. Merci de votre aide chaleureux et vos conseils, veuillez trouver ici l'expression de notre profond reconnaissance et de notre vive gratitude.

Merci...



Dédicaces

Avec l'aide de ALLAH le tout puissant, nous avons pu achever ce modeste travail que
Je dédie:

A mon cher père, à qui je ne saurais jamais comment remercier assez de m'avoir donné le
meilleur de lui même. Que ALLAH nous le protégé et nous le garde.

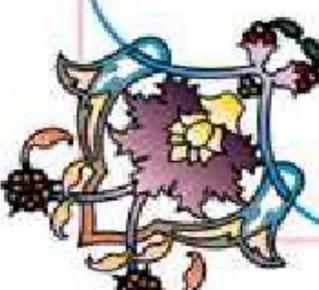
A ma très chère mère, en témoignage de son amour, sa grande tendresse ainsi que l'aide
qu'elle ma porté pour me facilité la tache ; elle est assurée de ma tendre reconnaissance. Que
ALLAH nous la protège et nous la garde.

À mes sœurs et mes frères.
À toute ma famille

A mes amis: Sofiane, Younes, Khalifa, Ilyes, Kamel, Abd sitir, djandar, Pedro, Toufik tata, la
famille
Bel arbi, halal, Bachir Sans oublier mon binôme Youcef que je remercie pour sa patience avec
moi durant ce mémoire

A tous ceux qui un jour ont compté dans ma vie.

Ahmed





Dédicace

Au nom D ALLAH le tout puissant et le très miséricordieux par la grâce duquel
j'ai pu réaliser ce travail que je dédie à :

Mes chers parents, mes frères, mes sœurs
Ma grande mère

Mes amis : HAMZA, FAYCAL, ABDOU, LAHSEN, YOUNESE
ILYES, AHMED, SOFIANE, TABLATI, AMI MASOUDE.

Yousef



Table des matières

Chapitre I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Introduction.....	2
II. Historique.....	3
III. Définition.....	3
IV. Taxonomie.....	4
IV.1 Classification moderne.....	4
IV.2 Classification actuelle.....	5
V. Caractères morphologique et propriétés physico-chimiques.....	6
VI. Caractères cultureux.....	7
IIV. Facteurs de virulence.....	8
IIIV. Transmission.....	9
IX. Pathogénie.....	10
X. Etude clinique de l'infection.....	10
X.1 Symptômes observés chez le cheval.....	10
X.1.1 Syndrome fébrile.....	11
X.1.2 Œdème.....	11
X.1.3 Pétéchies et ictère.....	12
X.1.4 Ataxie et signes neurologiques.....	12
X.2 Infection subclinique.....	12
X.3 signes biologiques.....	13
X.3.1 Modification de la lignée blanche.....	13
X.3.2 Thrombopénie.....	13

Table des matières

X.3.3 Anémie.....	14
X.3.4 Augmentation de la bilirubinémie.....	14
X.3.5 Inclusions intra cytoplasmiques.....	14
XI. Diagnostic.....	14
XI.1 Epidémiologie – clinique.....	14
XI.2 Diagnostic de laboratoire.....	15
XI.2.1 Le frottis sanguin.....	15
XI.2.2 Diagnostic sérologique.....	15
XI.2.3 Diagnostic différentiel.....	16
XII. Traitement et mesures de prophylaxie.....	17
XII.1 Traitement.....	17
XII.2 Mesures de prophylaxie.....	18

Chapitre II : MATERIEL & METHODES

I. Matériel.....	20
II. Méthodes.....	20
II .1 Analyse Morphologique.....	20
II.1.1 Préparation du frottis sanguin.....	20
II.1.1.1Prélèvement.....	20
II.1.1.2 Frottis.....	21
II.1.1.3 Dessiccation.....	22
II.1.1.4 Coloration au MGG.....	22

Table des matières

II.1.1.5 Examen.....	24
II.1.1.6 Conservation des frottis.....	24
II.2 Analyse sérologique	25
II.2.1 Immunofluorescence indirecte (IFI).....	25
Chapitre III : RESULTATS & DISCUSSION	
III .1 Résultats.....	28
III .3 Discussion.....	29
Conclusion.....	30

Liste des Figures

Chapitre I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

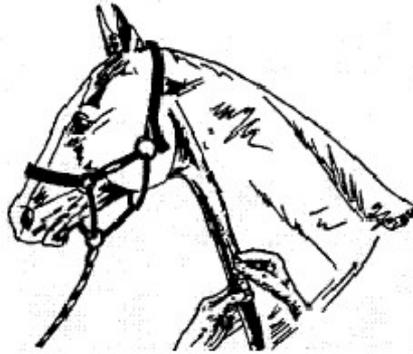
Figure 1 : Aspect d'E. à qui en microscope optique.....	6
Figure 2 : Genre Ixodes.....	9

Chapitre II : MATERIEL & METHODES

Figure 3 : Réalisation du frottis sanguin.....	23
Figure 4 : Vue au microscope de morulas dans des granulocytes après coloration au MGG.....	24
Figure 5 : Principe de l'immunofluorescence indirecte.....	25

Chapitre III : RESULTATS & DISCUSSIONS

Figure6 : pourcentage des chevaux atteints dilution à 1/50.....	28
Figure7 : pourcentage des chevaux atteints dilution à 1/200.....	28



SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

I. INTRODUCTION.

L'EHRLICHIOSES EQUINE est une maladie infectieuse provoquée par une bactérie *Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi* et transmise par les tiques. Encore assez mal connue dans nos régions, elle est souvent confondue avec la piroplasmose équine en raison de la similitude de leur expression clinique. Le caractère zoonotique supposé ou avéré de cette maladie donne à son étude une importance toute particulière.

L'étude épidémiologique de cette affection effectuée depuis plusieurs années sur un échantillon relativement important de chevaux permet de se faire une certaine idée de la prévalence de l'infection dans cette région. Cependant, la connaissance plus approfondie de l'épidémiologie de cette maladie vectorielle passe évidemment également par l'étude de son vecteur, or il est apparu que celui-ci n'était pas connu avec certitude.

Nous allons dans un premier temps décrire les connaissances actuelles sur l'infection à *Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi* chez le cheval. Nous traiterons tout d'abord la classification (récentement modifiée), l'épidémiologie, la pathogénie et le diagnostic et enfin le traitement.

II. HISTORIQUE

En 1935 DONATIEN et LESTOQUARD découvrent en Algérie à l'institut Pasteur l'agent pathogène responsable d'une maladie fébrile du chien transmise par les tiques:

E. canis et cette découverte a conduit plus tard à de nombreuses recherches sur

les EHRLICHIOSES.

En 1969 aux Etats-Unis d'Amérique, STANNARD ET AL RELATENT décrit le premier cas de l'EHRLICHIOSE granulocytaire chez le cheval dû à *E. equi* et en 1982 aux Etats-Unis une EHRLICHIOSE granulocytaire chez le chien dû à *E. equi* est découverte par MADEWELL et GRIBBLE.

III. DEFINITION

L'EHRLICHIOSE est une maladie émergente, infectieuse mais non contagieuse. Cette maladie est présente dans toutes les régions du monde. En Europe on la retrouve principalement dans les pays du sud. En Afrique dans les pays du Maghreb.

L'EHRLICHIOSE EQUINE est une maladie infectieuse, non contagieuse, causée par la bactérie *Anaplasma phagocytophilum* boivar *equi*. Il a été établi récemment qu'elle est transmise par les tiques du genre *Ixodes* ssp. Elle sévit donc au printemps et en automne surtout.

Anaplasmosse granulocytaire équine ou Ehrlichiose granulocytaire équine des Equidés ne doit pas être confondue avec l'EHRLICHIOSE monocytaire équine due à *E. risticii* est cause chez le cheval un syndrome colique ou forte fièvre ou une diarrhée suivant le cas.

En 2001 WALKER propose que espèces *E. equi* ou *phagocytophila* et l'agent granulocytaire humaine soient réunis seule et même espèce appelée *Anaplasma phagocytophila*.

IV. TAXONOMIE

Cette classification est fondée sur :

Les caractéristiques pathogéniques de ces bactéries qui sont intracellulaires strictes et qui ont un tropisme particulier pour les éléments figurés du sang mais jamais pour les érythrocytes.

Les caractéristiques morphologiques des *Anaplasma phagocytophilum* qui sont gram négatives.

Les caractéristiques épidémiologiques car toutes sont transmises par les tiques.

IV.1 Classification moderne

Elle se fonde sur l'analyse des séquences des gènes codant pour l'ARN 16S ribosomal qui place le germe au sein du groupe alpha des protobactéries. Trois groupes génomiques ont ainsi pu être constitués:

Le groupe I : comprend *E. canis* et *E. chaffeensis*.

Le groupe II : comprend *E. phagocytophila*, *E. equi* et l'agent de L'Ehrlichiose Granulocytaire Humaine (HGE, Human Granulocytic Ehrlichiosis).

Le groupe III : rassemble *E. risticii* et *E. sennetsu*.

Les barrières d'espèces ont été revues mais les trois groupes génomiques restent cohérents pour ce qui est de la spécificité d'hôte, des cibles cellulaires ainsi que pour les caractéristiques morphologiques et antigéniques.

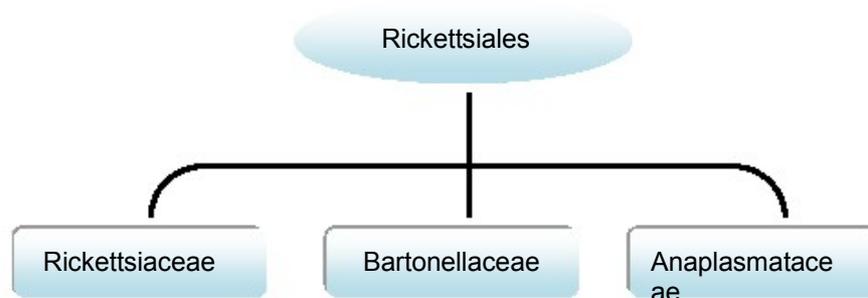
IV.2 Classification actuelle

Les dernières études génétiques ont à nouveau réorganisé l'ordre des Rickettsiales. En effet, l'examen des gènes des opérons groESL et de ceux codant pour des protéines de surface. A montré que les espèces *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia èqui* et l'agent de L'Ehrlichiose granulocytaire humaine n'avait plus leur place au sein du genre *Ehrlichia* Mais devaient être placées dans le genre *Anaplasma*. Ces études, menées par DUMLER et AL.

En novembre 2001, établissent que les trois espèces citées n'en forment, en réalité, qu'une et sont des variantes de celle-ci. *Ehrlichia phagocytophila* devient donc *Anaplasma phagocytophilum* biovar *phagocytophilum*, *Ehrlichia èqui* devient *Anaplasma phagocytophilum* biovar *èqui* et l'agent de l'Ehrlichiose Granulocytaire Humaine devient *Anaplasma phagocytophilum* biovar E.G.H.

D'une manière plus large, Ainsi que la dernière édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ne reconnaissent plus la notion de tribu. A la différence du Bergey's Manual qui prend en compte la famille des Ehrlichieae (dans laquelle il place les genres *Ehrlichia*, *Anaplasma* et *Neorickettsia*),. Ne reconnaissent pas cette famille et placent les trois genres dans la famille des Anaplasmataceae. DUMLER et AL

En ce qui nous concerne, notre étude s'intéresse à l'*Anaplasma phagocytophilum* biovar *èqui*. L'*Anaplasma phagocytophilum* biovar *èqui* appartient à l'ordre des Rickettsiales qui divisée en trois familles.



Anaplasma phagocytophilum biovar *èqui* appartient à :

Groupe II : *E. èqui*.

Famille : Anaplasmataceae.

Sous famille : Ehrlichieae.

Genre : *Anaplasma*.

Espèce : *Anaplasma phagocytophila*.

Sous Espèce : *Anaplasma phagocytophilum* biovar *èqui*. (J.P. Euzéby : Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire)

V. CARACTERES MORPHOLOGIQUE ET PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES

Anaplasma phagocytophilum biovar *èqui* présente les caractères du genre *Anaplasma*.

Les souches de *Anaplasma phagocytophilum* se présentent sous la forme de bactéries à gram négatif, de petite taille, souvent polymorphes (forme coccoïde ou ellipsoïdale), la bactérie est un germe intracellulaire stricte, infectant les cellules de la lignée myéloblastique des équidés, notamment les granulocytes neutrophiles et, dans une moindre mesure, les granulocytes déteruit eosinophiles. Les études de microscopie optique *E.èqui* apparait comme un microorganisme immobile dans produits pathogènes et dans les cultures à l'aide de coloration usuelles (Figure 1).



Figure 1 : ASPECT D' *E. EQUI* EN MICROSCOPIE OPTIQUE

Cette bactérie est gram négative et sa paroi analogue à toute les grams négative. Il existe tout de même une particularité chez les Ehrlichia un oligopolysaccharide dans leur paroi (RAOULT et BROUQUI 1998).

En microscopie électronique, E.èqui appaite se forme morula contiennent chacune de 20 à 40 corps élémentaires et sont limitées par double membrane interne et externe et ayant des ribosomes et de ADN. Ensemble est renferme dans une vacuole dans membrane est issue de la cellule hôte. Un cellule infectée contient soit un organisme seul soit un amas d'organismes à l'intérieur de vacuoles délimites par une membrane et reparties au hasard dans les cytoplasme de neutrophiles et éosinophiles.

Cette bactérie est aérobie stricte. Elle très fragiles dans milieu extérieur et son cycle de transmission nécessite obligatoirement un arthropode vecteur elle détruite par chauffage à 35C° pendant 30 minutes et sensible au désinfectant usuels formol, phénol sa résistance est meilleure, pH neutre et en milieu hypertonique.

VI. CARACTERES CULTURAUX

Une analyses détaillée de la biologie d' Anaplasma phagocytophilum biovar èqui necessite la possibilite d'une culture *in vitro* de cette bacterie. elle reste longtemps impossible à realiser techniquement pour les chercheurs .

Anaplasma Phagocytophilum biovar èqui est un parasite intracellulaire strict. les tentatives de culture sur milieux inertes ou sur œufs embryonnes ont échoue.

A.phagocytophilum biovar èqui se développe également sur culture de cellules de tiques, sur des granulocytes obtenus a partir de sang contaminede, en utilisant des cultures de sang total ou des leucocytes du sang périphérique séparees des autres composants.

IIV. FACTEURS DE VIRULENCE

Le terme de pouvoir pathogène est employé lorsqu'un microorganisme par sa présence ou ses effets à une action nocif sur son hôte. Ce pouvoir pathogène résulte de l'équilibre dynamique entre des facteurs extrinsèques au microorganisme, les défenses de l'hôte et des facteurs intrinsèques, la virulence de cette bactérie. Si cet équilibre se casse la maladie se développe. La virulence se définit comme la capacité de la bactérie à se multiplier activement dans l'organisme de son hôte.

Peu de données sont disponibles sur la virulence *Anaplasma phagocytophilum* biovar *èqui* ainsi que sur les défenses de l'hôte, en l'occurrence le cheval, quand il y a infection. Mais des données plus générales sur le pouvoir pathogène des bactéries intracellulaires strictes auxquelles appartient *Anaplasma phagocytophilum* biovar *èqui* existent.

Ces bactéries phagocytées le plus souvent à l'abri de l'action des anticorps et du complément, doivent alors résister à une attaque enzymatique des macrophages et à une destruction oxydative, en présence de divers radicaux libres et autres substances très réactives générées par ces cellules, surtout lorsqu'elles sont activées (RAOULT et BROUQUI 1998).

Elles peuvent le faire soit en empêchant la fusion phagosome-lysosome, déversant les enzymes qui attaquent la bactérie, soit en résistant à celles-ci. Ces bactéries qui survivent dans les cellules de défense, peuvent utiliser celles-ci comme véhicules pour une diffusion par voie lymphatique ou sanguine, permettant l'extension de l'infection. Certaines peuvent même s'y multiplier en lysant la paroi du phagosome et se retrouvent libres dans le cytoplasme, riche en éléments nutritifs (RAOULT et BROUQUI 1998).

IIIV. TRANSMISSION

Anaplasma phagocytophilum biovar *equi* est un parasite strict des tiques et des équidés. Cette bactérie est transmise aux mammifères sains par des tiques du genre *Ixodes* (Figure 2) notamment, *Ixodes scapularis* et *Ixodes pacificus* aux USA et *Ixodes ricinus* en Europe. Chez les tiques il n'existe pas de transmission transovariale mais en revanche il existe une transmission transstadiale. L'infection des tiques nécessite un repas sanguin qui doit durer au minimum 24 Heures et le nombre de bactéries présentes chez ces arthropodes est lié à la durée d'attachement. *Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi* se multiplie chez les tiques contaminés, notamment au moment de la mue larvaire et lors de l'engorgement de la tique au stade larvaire, nymphal et adulte. Si les tiques ne peuvent pas constituer un réservoir de germes (absence de transmission transovariale) elles jouent un rôle important d'amplification en permettant la multiplication des bactéries ingérées. (Tilliette 2008).

Chez les tiques infectées, *Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi* est localisé principalement dans les glandes salivaires si bien que la transmission de l'infection aux équidés ne nécessite pas un attachement de longue durée et peut se réaliser en une trentaine d'heures.



Figure 2 : GENRE IXODES. (Bourdeau p).

IX. PATHOGENIE

Le facteur déclenchant l'apparition de la maladie pourrait être le stress ou une autre infection causant des conditions favorables à la multiplication *Anaplasma Phagocytophilum* biovar *èqui*.

Pour certains auteurs, les manifestations de l'ehrlichiose équine seraient dues à une vascularite (GRIBBLE 1969, MADIGAN 1993). Mais pour d'autres (RAOULT et BROUQUI 1998), il n'y aurait pas de vascularite dans l'ehrlichiose quelle qu'elle soit, contrairement aux rickettsioses éruptives.

D'autre part l'origine de la thrombocytopénie observée en phase clinique de la maladie est encore à déterminer. Il existe deux hypothèses. Pour les uns, elle ne paraît pas être le résultat d'une consommation de plaquettes associée à la vascularite.

En effet lors d'une infection expérimentale, les manifestations de la vascularite peuvent être prévenues par l'administration de corticoïdes, alors que la thrombocytopénie se développe toujours (MADIGAN 1993) suggère qu'il y aurait une suppression de la libération de plaquettes ou de leur maturation directement sur la moelle osseuse lors d'une infection par *Anaplasma Phagocytophilum* biovar *èqui* pour les autres la déplétion des plaquettes observée dans l'ehrlichiose équine s'explique par une durée de vie raccourcie, peut-être en rapport avec une activité autoanticorps (RAOULT et BROUQUI 1998).

X. ETUDE CLINIQUE DE L'INFECTION

X.1 Symptômes observés chez le cheval

Les symptômes ont été décrits pour la première fois par GRIBBLE en 1969. Son étude portait sur 40 chevaux et trois ânes inoculés expérimentalement et examinés une à deux fois par jour.

La période d'incubation réelle n'est pas connue avec précision, dans les conditions expérimentales de l'étude de GRIBBLE, celle-ci a varié entre un et neuf jours (GRIBBLE 1969).

Dans une autre étude portant sur des chevaux inoculés à partir de sang contaminé la période d'incubation observée variait de six à neuf jours et elle semblait liée à la dose infectante puisque le cheval qui avait reçu la dose infectante la plus importante a eut la période d'incubation la plus courte (FRANZEN, ASPAN et AL. 2005).

X.1.1 Syndrome fébrile

Le premier signe clinique de l'infection est constitué par une brusque augmentation de température.

La durée de la période fébrile varie entre un et douze jours mais elle est habituellement de cinq ou six jours. Le pic de température est le plus souvent observé le deuxième jour de fièvre avec des valeurs comprises entre 39,2°C et 42,7°C (moyenne de 41,8°C). La température reste généralement élevée mais présente des fluctuations ; un ou deux pics de température en plus du premier peuvent être observés mais ils sont d'intensité et de durée moindres.

Une période d'abattement et de dépression est également rapportée mais de façon non systématique, celle-ci varie en intensité et en durée.

Elle commence en général au deuxième ou troisième jour de la période fébrile et s'achève après un à dix jours. Typiquement, les chevaux atteints présentent une indifférence à leur environnement et une dysorexie voire une anorexie totale. De façon concomitante à la fièvre, une augmentation des fréquences Cardiaque et respiratoire peut également être observée. (Gribble 1969).

Un souffle systolique basal gauche de grade II/V a parfois été entendu durant la phase fébrile, ce souffle est probablement provoqué par des turbulences physiologiques. (Franzen, Aspan et al. 2005)

X.1.2 Œdème

Un œdème sous-cutané qui varie en intensité et en durée apparaît entre le deuxième et le sixième jour de la période fébrile et se résorbe en un à quinze jours. Dans la majorité des cas l'œdème est limité aux membres bien que l'abdomen ventral et le prépuce puissent être atteints chez certains animaux.

Quand il concerne les membres, L'œdème se développe de façon rapide et ascendante et peut parfois s'étendre jusqu'à quinze-vingt centimètres au dessus du jarret ou de la moitié du radius.

Chez les chevaux présentant un œdème transitoire de un ou deux jours, Celui-ci est souvent limité aux boulets et aux parties distales des membres. Dans la plupart des cas tous les Membres étaient atteints mais le gonflement était généralement plus étendu et plus intense sur Les postérieurs. (Gribble 1969).

X.1.3 Pétéchies et ictère

La présence d'ictère et de pétéchies a été rapportée sur certains chevaux atteints d'EHRlichioses mais pas de façon systématique. (Madigan and Gribble 1987; Artursson, Gunnarsson et al. 1999)

X.1.4 Ataxie et signes neurologiques

Une réticence à la marche est associée à cet état général le débilite et quand les chevaux sont contraints de marcher ou de trotter, ils le font avec divers degrés d'incoordination. Le cas d'une jument présentant des œdèmes, un état fébrile, une ataxie sévère puis une impossibilité de se lever a été rapporté. Le diagnostic d'une infection à *Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi* à été établi suite à l'observation de corps d'inclusion typiques dans les neutrophiles. (Gribble 1969).

X.2 Infection subclinique

La prévalence en anticorps à *A.phagocytophilum* biovar *equi* dans certaines régions du nord de la Californie laisse supposer que l'infection par cet agent pathogène puisse être subclinique. En effet, dans certaines fermes de ces régions, près de la moitié des chevaux possédaient des anticorps contre *A.phagocytophilum* biovar *equi* alors qu'ils apparaissaient cliniquement sains de plus, une étude à été menée sur trois chevaux infectés expérimentalement à partir des tiques *Ixodes* pacifiques prélevées dans des zones endémiques situées dans le nord de la Californie.

Le premier cheval est resté cliniquement normal pendant trois semaines puis au 21^{ème} jour, le cheval s'est montré léthargique et a présenté de la fièvre pendant environ cinq jours, un léger œdème des Membres postérieurs a également été observé pendant quelques jours.

Le deuxième cheval n'a pas montré de signe clinique pendant 17 Jours puis il est apparu fiévreux pendant deux jours. Le troisième cheval n'a jamais montré de signes cliniques malgré une positivité au test PCR pendant quelques jours. Cette étude qui se rapprocherait le plus de l'infection naturelle met donc en évidence l'existence de cas subcliniques ou avec une clinique très frustrée.

X.3 signes biologiques

Les troubles hématologiques sont quasi systématiques mais peu spécifiques. Ils se caractérisent par une leucopénie, une thrombopénie, une augmentation de la bilirubinémie, une anémie modérée ainsi que par la présence dans le cytoplasme des neutrophiles ou parfois des éosinophiles d'inclusions granulaires basophiles caractéristiques.

X.3.1 Modification de la lignée blanche

Plus précisément, une lymphopénie brutale débutant le premier ou le deuxième jour de la période fébrile est persistant cinq à six jours est communément observée, avec moins de 1000 lymphocytes/cm³. La neutropénie est plus progressive atteignant son plus bas niveau, le plus souvent, le quatrième, cinquième ou sixième jour avec moins de 25 neutrophiles/cm³.

La leucopénie peut néanmoins dans certains cas être masquée par la réponse inflammatoire d'une inflammation secondaire. (GRIBBLE 1969).

X.3.2 Thrombopénie

La thrombopénie apparaît entre le quatorzième et le douzième jour avec moins de 50 000 plaquettes/cm³. L'apparition de la thrombopénie précède souvent de un jour celle de l'œdème et la régression de l'œdème se fait souvent un jour avant le retour à la normale du nombre de plaquettes. (GRIBBLE 1969).

X.3.3 Anémie

L'anémie reste modérée, la diminution de concentration en hémoglobine circulante semble maximale neuf jours après inoculation.

X.3.4 Augmentation de la bilirubinémie

L'élévation de la bilirubinémie est habituellement maximale à partir du troisième au sixième jour et revient à la normale après le neuvième jour.

X.3.5 Inclusions intra cytoplasmiques

Dans l'étude menée par GRIBBLE, l'apparition des inclusions intracytoplasmiques semble fortement corrélée à la période fébrile, elles restent présentes en moyenne de 9,4 jours et leur nombre augmente rapidement pour être maximal du troisième au cinquième jour (GRIBBLE 1969). Dans l'étude de (FRANZEN et AL 2005) bien que la méthode de détection semble identique à celle de GRIBBLE, la détection des inclusions se fait en moyenne 2,6 jours après l'apparition des premiers signes cliniques (FRANZEN, ASPAN et AL. 2005).

XI. DIAGNOSTIC

XI.1 Epidémiologie – clinique

Il est basé sur la reconnaissance des principaux signes cliniques (Hyperthermie, tachycardie, polypnée, abattement, dysorexie, œdème des membres et ataxie). Le diagnostic peut également être appuyé par les signes paracliniques leucopénie, thrombocytopénie, augmentation de la bilirubinémie et anémie modérée.

L'évolution de la maladie caractérisée par une phase clinique qui dure de sept à quatorze jours avec le plus souvent guérison spontanée permet également au clinicien de s'orienter vers cette maladie. Il faut de plus être informé de La répartition géographique des zones endémiques et de la saison de la maladie.

Cependant le diagnostic clinique de l'est difficile à établir étant donné le non spécificité des signes cliniques ainsi, les tests de laboratoire sont nécessaires pour la confirmation d'infections.

XI.2 Diagnostic de laboratoire

XI.2.1 Le frottis sanguin

Il consiste en une analyse morphologique des cellules sanguines, préalablement étalées sur une lame en verre et colorées. L'intérêt de cet examen réside dans l'observation des leucocytes par microscopie optique et la détermination de morula dans le cytoplasme des polynucléaires neutrophiles, voire éosinophiles à la phase aiguë de la maladie.

La morula peuvent varier par leur forme ou leur taille, mais la structure des inclusions est souvent nette, plus pointillée et de coloration bleue foncée par rapport à la chromatine adjacente. (Amiel, Abadia et al. 2003).

Le frottis est une méthode simple, de réalisation rapide et peu coûteuse, qui peut apporter une aide précieuse dans l'orientation du diagnostic lorsqu'il est positif. Cependant, l'identification des morulas varie directement en fonction de l'expérience du biologiste et de la durée de la maladie, sachant que leur détection est moins fréquente après la première semaine de la maladie.

Ainsi, l'absence de détection de morula dans les neutrophiles ne permet pas d'exclure le diagnostic d'EHRlichiose EQUINE.

En raison des nombreuses erreurs possibles par excès (confusion avec divers artefacts), MADIGAN et GRIBBLE 1987 ont considéré que le diagnostic définitif de l'ehrlichiose était positif si au moins trois cellules contenant des inclusions étaient identifiées à partir de frottis sanguins colorés par la méthode de Giemsa.

XI.2.2 Diagnostic sérologique

Les tests les plus couramment utilisés sont des réactions d'immunofluorescence indirecte (IFI) avec utilisation d'antigènes d'*Anaplasma phagocytophilum* biovar equi. L'IFI consiste à faire réagir le sérum du patient, après différentes dilutions, sur une préparation de cellules infectées par *Anaplasma phagocytophilum* biovar equi. La fixation des anticorps spécifiques sur ces cellules est révélée par un conjugué marqué avec un fluorochrome. Celui-ci émet de la fluorescence sous un microscope adapté.

On peut également utiliser la technique ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). L'ELISA consiste à révéler la liaison antigène-anticorps en y attachant un marqueur, enzyme capable d'induire une réaction colorée. Le diagnostic nécessite deux voire trois sérums prélevés à 0, 4 et 8 semaines après apparition des premiers symptômes, afin de mettre en évidence une séroconversion. (MADIGAN et al. 1990).

En effet, étant donné le nombre important de chevaux séropositifs asymptomatiques dans certaines régions endémiques (jusqu'à 50%), des titres élevés et une augmentation des titres en anticorps semble nécessaire pour affirmer l'infection clinique.

Le pic en anticorps étant observé après un mois, il faut espacer les prélèvements d'au moins 3 semaines pour éliminer au maximum les faux négatifs. Cependant, ces tests manquent de sensibilité et un résultat négatif ne permet d'exclure une infection par *A. phagocytophilum* biovar équi. (ARTURSSON et al. 1999).

Les tests sérologiques souffrent également d'un manque de spécificité. En effet, des réactions croisées sont observées parmi les agents appartenant au même génogroupe.

Les résultats des tests sérologiques peuvent donc aider le clinicien dans son diagnostic, mais ils doivent toujours être interprétés avec précaution et doivent dans tous les cas être comparés à la clinique et aux considérations épidémiologiques. (AMIEL et al. 2003).

XI.2.3 Diagnostic différentiel

En raison des signes neurologiques, l'ehrlichiose doit être différenciée des encéphalites virales qui montrent quand à elles, une progression rapide de la maladie associée à une forte mortalité.

L'hypothèse d'une affection hépatique doit également être écartée par la mesure de la concentration sanguine des enzymes hépatiques, de la bilirubine et des acides biliaires qui seront la plupart du temps augmentés en cas d'atteinte du foie. Le diagnostic différentiel doit aussi inclure le purpura hémorragique, dans ce cas il n'y a généralement pas de thrombopénie mais l'historique d'une exposition à *Streptococcus* équi ou à d'autres pathogènes respiratoires. Quand des infections bactériennes secondaires viennent affecter le tractus respiratoire, l'ehrlichiose équine doit être différenciée de la grippe équine ou de toute autre affection respiratoire primaire. (MADIGAN AND GRIBBLE 1987).

Enfin et surtout, le diagnostic doit être établi par rapport à toutes les affections faisant parties du syndrome « piro-like ». Ce syndrome, défini comme l'existence d'une fièvre apparemment isolée, englobe les maladies infectieuses qui sont associées à un tableau clinique de fièvre récurrente d'origine inconnue, sans symptôme caractéristique. Il peut parfois être accompagné d'ictère, d'anémie ou d'œdèmes périphériques (AMORY et PITEL 2007). Ainsi, nous devons différencier l'EHRlichiose de la piroplasmose causée par *Babesia caballi* ou *Theileria equi*. Étant donné la fréquence beaucoup plus importante en France de cette infection par rapport à l'ehrlichiose et le rapport des expressions cliniques (hyperthermie, anorexie, abattement, perte de poids, ictère et œdèmes déclives).

Le plus souvent, le vétérinaire va instaurer en première intention un traitement à base d'imidocarbe qui, dans le cas d'une infection à *Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi*, ne sera pas suivie d'amélioration.

La borréliose (maladie de Lyme) causée par *Borrelia burgdorferi* entre aussi dans le diagnostic différentiel des fièvres apparemment isolées. Cette maladie inclut des signes variés tels qu'une fièvre modérée, de la léthargie, de l'anorexie, de la raideur, de la myosite, des arthrites avec distensions articulaires, une uvéite antérieure des avortements et une méningo-encéphalite.

Enfin, l'ehrlichiose doit aussi être distinguée de l'anémie infectieuse des équidés, maladie virale causée par un lentivirus de la famille des retroviridés. Bien qu'elle soit habituellement rencontrée dans des régions chaudes et humides, des foyers sporadiques sont régulièrement observés en Europe. Les symptômes incluent une forte fièvre, de la dépression et de l'anorexie accompagnée d'une thrombopénie, une évolution chronique débilitante peut également être observée. A noter que l'anémie infectieuse des équidés est une maladie à déclaration obligatoire. (AMORY et PITEL 2007).

XII. TRAITEMENT ET MESURES DE PROPHYLAXIE

XII.1 Traitement

Devant une forte suspicion d'infection d'Ehrlichiose basée sur des éléments cliniques et épidémiologiques, le traitement antibiotique doit être commencé immédiatement d'autant plus si l'état général est fortement altéré. Les vétérinaires ne doivent pas attendre la confirmation d'infection via les résultats des tests complémentaires.

Les antibiotiques de la classe des Tétracyclines constituent le traitement de choix.

Dans une étude rétrospective menée par MADIGAN et GRIBBLE en 1987, un traitement adéquat à la dose de 7 mg/kg d'oxytétracycline par voie intraveineuse a permis une diminution rapide de la température, qui s'est normalisée dans les 12 à 24 Heures suivantes, chez tous les chevaux traités (MADIGAN et GRIBBLE 1987).

Des tests montrant l'activité de plusieurs antibiotiques ont été menés en utilisant des cellules HL60 infectées par *A. phagocytophilum* biovar *equi*, ceux-ci ont confirmé que la tétracycline (Bactériostatique) est l'antibiotique de choix à utiliser. Mais il y a d'autres antibiotiques bactériostatiques qui peuvent être utilisés : Rifampin, Levofloxacin et Chloramphénicol.

D'autres mesures de soutien peuvent également être mises en place dans certains cas selon les symptômes observés. Le cheval peut ainsi être placé sous fluidothérapie, mettre en place des bandes de soutien sur les membres pour limiter l'œdème.

Dans le cas d'ataxie sévère, il convient de placer le cheval dans un endroit confiné pour éviter au maximum les risques de blessures traumatiques secondaires.

L'administration de dexaméthasone pendant 2 à 3 jours peut être envisagée dans les premiers temps face à une infection sévère afin de diminuer à la fois les œdèmes et l'ataxie via l'effet anti-inflammatoire des corticoïdes.

Dans la plupart des cas, la guérison est observée dans les 24 à 48 heures suivant la mise en place du traitement, l'échec thérapeutique suite à un traitement bien mené, suggère une erreur de diagnostic.

XII.2 Mesures de prophylaxie

Etant donné qu'il n'existe à l'heure actuelle aucun vaccin contre l'EHRLICHIOSE des équidés, les mesures prophylactiques consistent à éviter ou au moins réduire l'exposition aux tiques aussi bien pour les chevaux.

Beaucoup d'organophosphorés ou de pyréthrinoïdes sont efficaces contre les tiques. Mais celles-ci peuvent parfois développer des résistances contre certains composés.

Deux acaricides ont une autorisation de mise sur le marché pour le cheval, il s'agit de : ACADREX® 60%, SEBACIL® 50 %.



**MATERIEL
&
METHODES**

Prélèvement :

- 128 Prélèvement de sang sur cheval ont été réalisés au club hippique de la wilaya de Tiaret.

II.1.1.2 Frottis

Le frottis peut se pratiquer sur lame ou sur lamelle.

A. Frottis sur lame

- Déposer une goutte de sang de taille moyenne à 1.5 cm du bord droit d'une lame dégraissée.
- Étaler par capillarité la goutte au contact de l'arête d'une deuxième lame rodée tenue à 45 degrés.
- Pousser rapidement la deuxième lame vers la gauche de la première lame en entraînant le sang qui s'étale en une couche mono cellulaire (Frottis).

Si la goutte de sang est de taille convenable, le frottis doit se terminer à 1 cm environ du bord gauche de la lame.

- Variante: on peut remplacer la deuxième lame par une lamelle couvre objet.

II.1.1.3 Dessiccation

Le frottis sèche rapidement à l'air à l'abri des poussières.

II.1.1.4 Coloration au MGG

A. Coloration sur lame :

Déposer 10 à 15 gouttes de May-Grünwald sur le frottis et couvrir pour éviter l'évaporation. Pendant 3 mn. C'est la Fixation.

Déposer 10 à 15 gouttes d'eau tamponnée et mélanger par rotation de la lame. 1 mn

Égoutter

Recouvrir de Giemsa dilué 15 mn. C'est la coloration.

Égoutter

Laver à l'eau neutre.

Sécher au papier Joseph.

B. Coloration sur lamelles :

La coloration est identique à la coloration sur lame mais on dispose les lamelles dans un verre de montre.

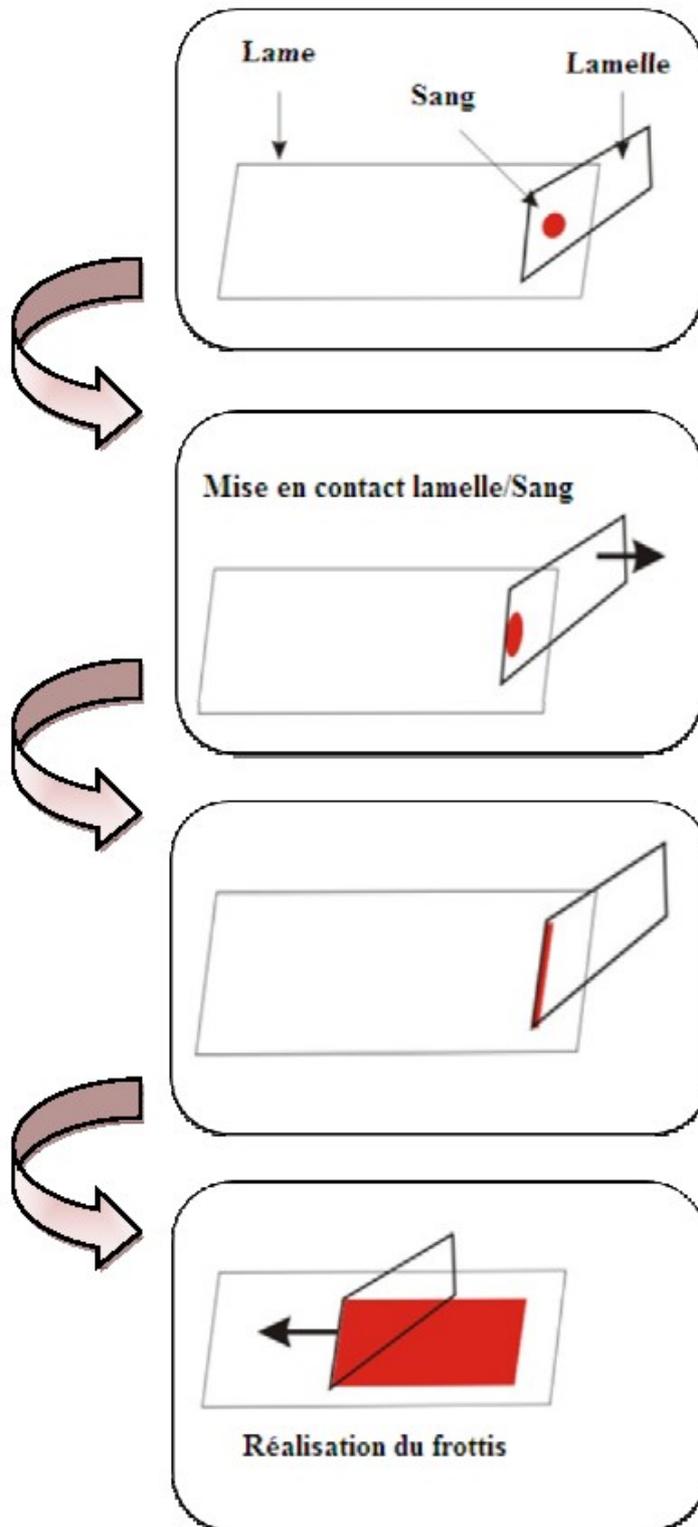


Figure 3 : REALISATION DU FROTTIS SANGUIN

II.1.1.5 Examen

Examen à l'objectif 40 X à hématologie ou ;

Examiner à l'immersion 100 X et oculaires faibles.

Déplacer la lame en faisant des "créneaux" pour ne pas repasser au même endroit.

Compter 100 leucocytes (ou mieux 200) ce qui donne immédiatement le résultat.

II.1.1.6 Conservation des frottis

Les frottis après examen à l'immersion sont couverts d'huile qui a tendance d'abord à ramasser poussières et fibres puis à sécher. De ce fait un réexamen ultérieur de la lame est rendu difficile. Son nettoyage au xylène n'est pas satisfaisant.

Une bonne habitude consiste à déposer une grosse goutte d'huile de cèdre sur le frottis et de poser par dessus une ou deux grosses lamelles contiguës.

Au bout de quelques jours le frottis est transformé en préparation permanente qui se conserve indéfiniment. La présence de lamelle malgré son épaisseur ne nuit pas la mise au point lors d'un futur examen à l'immersion.

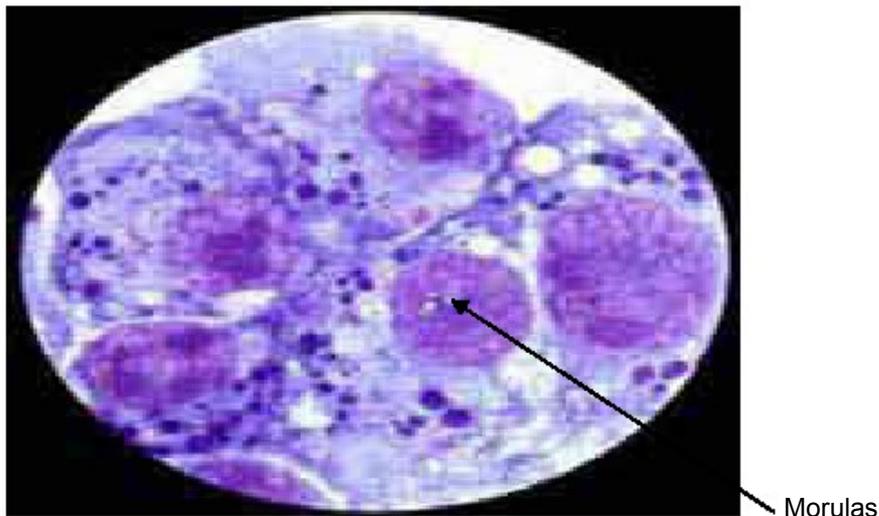


Figure 4: Vue au microscope de morulas dans des granulocytes après coloration au MGG

Tilliette, B. (2008).

II.2 ANALYSE SEROLOGIQUE

II.2.1 Immunofluorescence indirecte (IFI)

L'IFI consiste à faire réagir le sérum du patient après différentes dilutions sur une préparation de cellules infectées ; la fixation est révélée par un conjugué marqué par un fluorochrome qui émet une fluorescence sous un microscope adapté. La (figure 5) illustre le principe de l'IFI.

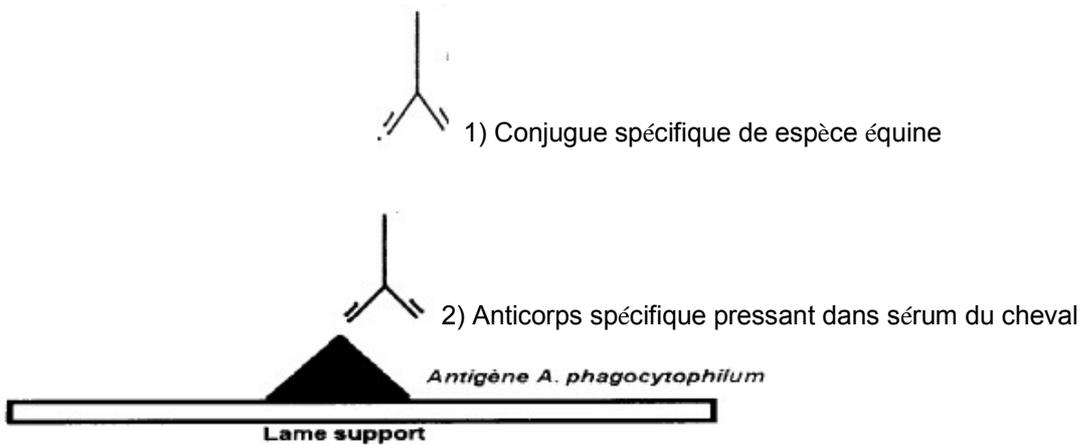
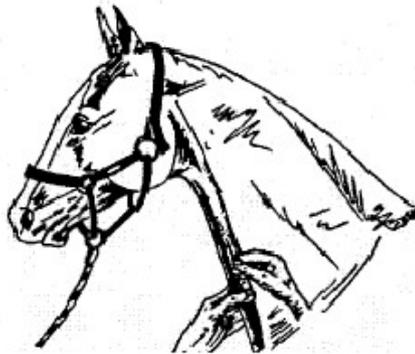


Figure 5 : PRINCIPE DE L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE



RESULTATS & DISCUSSION

I. RESULTATS

1) Frottis : tous les frottis sont avères

2) Analyse sérologique négatifs :

L'Analyse sérologique des prélèvements par immunofluorescence à la dilution au 1 /50 et 1/200 a révélé respectivement une positivité de 12% et 9%:

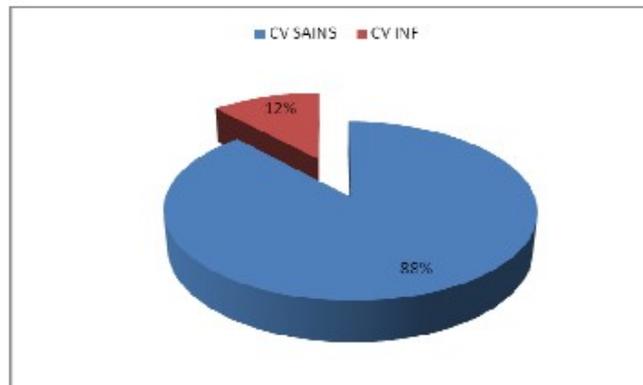


Figure6 : pourcentage des chevaux positif (dilution 1/50)

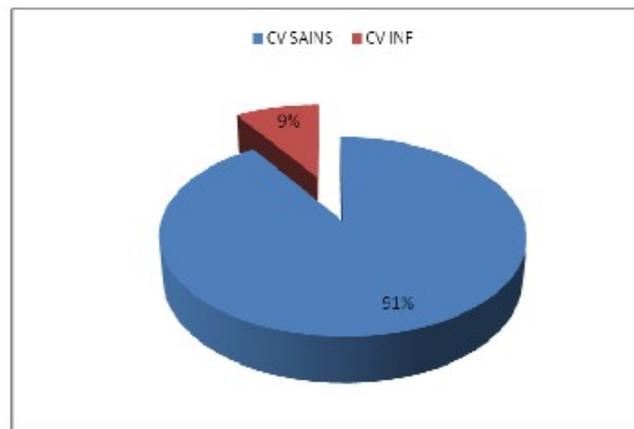


Figure7 : pourcentage des chevaux atteints à dilution 1/200

Frottis et coloration :

Aucun morula n'a pu être identifié ou caractérisé après Coloration de Giemsa.

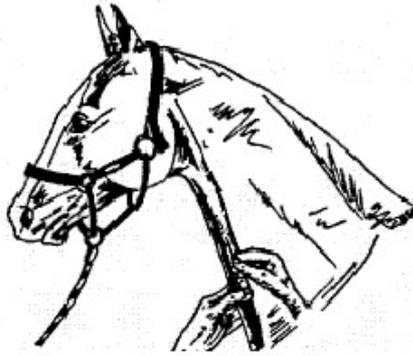
II. DISCUSSIONS

L'ehrlichiose granulocytaire équine est une maladie infectieuse, non contagieuse, due à *Anaplasma phagocytophilum* biovar équi, transmise par les tiques *Ixodes* spp. La période de transmission de la maladie est étroitement liée à l'activité de vecteur. L'examen du frottis sanguins permet de mettre en évidence des morulas. Ce test présente l'avantage d'être économique mais il manque de sensibilité et il ne peut donner une réponse positive qu'au stade aigu de l'infection.

Le test le plus couramment utilisé est des réactions d'immunofluorescence indirecte (IFI) avec utilisation d'antigènes d'*Anaplasma phagocytophilum* biovar équi.

L'IFI consiste à faire réagir le sérum du patient, après différentes dilutions, sur une préparation de cellules infectées par *Anaplasma phagocytophilum* biovar équi. La fixation des anticorps spécifiques sur ces cellules est révélée par un conjugué marqué avec un fluorochrome. Celui-ci émet de la fluorescence sous un microscope adapté.

Notre étude a porté sur l'analyse sérologique par immunofluorescence de 128 chevaux. (Jumentrie de TIARET). Une positivité de 12% (dilution 1/50) et de 9% (dilution 1/200) ont été constatée chez les chevaux de plus de 3 ans. Ces résultats sont comparables à ceux décrit par Tilliette, (2008) qui a révélé une prévalence 8,6%.



CONCLUSION

GENERALE

Conclusion :

L'anaplasmose granulocytaire équine est une maladie infectieuse, non contagieuse, due à la bactérie *Anaplasma phagocytophilum* biovar équi et transmise par les tiques, le plus souvent du genre *Ixodes* ssp .

Chez le cheval, le tableau clinique de la maladie est généralement celui d'un syndrome fébrile avec peu des symptômes spécifiques hormis la présence d'oedème.

Depuis 2002, l'anaplasmose granulocytaire équine est décrite une maladie émergente (Pradier 2004, Tilliette 2008) .

Cette maladie est encore mal connue, au cours cette étude, nous avons aussi tenté de préciser les examens complémentaires à privilégier pour le diagnostic : la cytologie, appuyée par une analyses de numération-formule sanguine, IF et la PCR .

Même si aujourd'hui aucun personne ne peut affirmer que l'ehrlichiose équine est une zoonose, son étude reste très intéressante pour mieux comprendre la maladie chez l'homme .

LES REFERENCES

1. Amiel, C., G. Abadia, et al. (2003).L'ehrlichiose granulocytaire humaine en Europe. Medecine et maladies infectieuses 111-122.
2. Amory, H. and P.-H. Pitel (2007).Le syndrome piro-like: diagnostic différentiel du syndrome piro-like sur la base des symptômes et cas cliniques de cas de syndrome piro-like incluant les moyens de diagnostic. Congrès de l'AVEF, Deauville.
3. Artursson, K., A. Gunnarsson, et al. (1999).A serological and clinical follow-up in horses with confirmed equine granulocytic ehrlichiosis.
4. Bourdeau p. : Les tiques d'importance vétérinaire et médicale. 1ère partie, principales caractéristiques morphologiques et biologiques et leurs conséquences. Point Vét., 1993, 25 : 13-26.Equine Vet J : 473-7.
5. Dumler, J. S., K. M. Asanovich, et al. (1995).Serologic cross-reactions among Ehrlichia equi, Ehrlichia phagocytophila, and human granulocytic Ehrlichia.J Clin Microbiol: 1098-103.
6. DONATIEN A et LESTOQUARD F. 1935 Existence en Algérie d'une rickettsia du chien Bull soc path exot 28. 418 _ 419
7. Franzen, P., A. Aspan, et al. (2005).Acute Clinical, Hematologic, Serologic, and Polymerase Chain Reaction Findings in Horses Experimentally Infected with a European Strain of Anaplasma phagocytophilum, J Vet Intern Med 232-239.
8. GRIBBLE D. H. 1969 equine ehrlichiosis J Am Vet Med Assoc, 2, 155, 462_469.
9. Tilliette, B. (2008).Anaplasmosse granulocytaire équine: enquête séro-épidémiologique dans le Sud-Est de la France en 2007 Thèse de doctorat vétérinaire, Alfort: 98.
10. Madigan, J. E. and D. Gribble (1987).Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968-1981).J Am Vet Med Assoc 445-8.
11. MADEWELL B.R et GRIBBLE D.H.1982 infection in two dogs with an agent resembling ehrlichia equi, j Am Vet Med Assoc ,180,5,512-514 .
12. MADIGAN (J.E.) 1993: Equine ehrlichiosis. Vet. Clin. North Amer: Equine Pract. 423-428
13. Madigan, J. E., S. Hietala, et al. (1990).Seroepidemiological survey of antibodies to Ehrlichia equi in horses of Northern California.J Am Vet Med Assoc 196.
14. Munderloh, U. G., J. E. Madigan, (1996).Isolation of the equine granulocytic ehrlichiosis agent, Ehrlichia equi, in tick cell culture. J Clin Microbiol 664-70.
15. RAOULT et BROUQUI 1998. .Les rickettsioses Ed Elsevier, Paris, 190 p.

LES REFERENCES

16. WALKER DH 2001. Emergence of the ehrlichioses as health problems emerg
infects Dis, 2, 1, 18- 29.

Liste de sites d'internet

http://www.wrongdiagnosis.com/medical/ehrlichia_equi.htm

<http://www.rickettsioses-zoonoses.com>

<http://www.emc-consulte.com>

<http://www.followsite.com>

<http://www.cegep-rimouski.qc.ca/dep/biologie/humain/cardio/coeur1.html>

www.sci.sdsu.edu/histology/caol.htm

<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/B/Blood.html>

<http://www.maladies-a-tiques.com/ehrlichioses.htm>

<http://www.sante-animale.eu>

<http://www.microscopies.com>

<http://www.lyme.org/gallery/ehrlichia.htm>

<http://www.zoopole.com/utgtv2003.dx.doi.org>

<http://www.inrs.dev.optimedia.fr>

http://www.cdc.gov/epo/dphsi/casedef/ehrlichiosis_current.htm

<http://www.sciencedirect.com>

www.analyses-veterinaires.fr

<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/aa/phagocytophila.html>

<http://www.bacterio.cict.fr> (consulté le 20 Octobre 2008).

Résumé

L'ehrlichiose granulocytaire équine est une maladie infectieuse, non contagieuse qui touche les équidés, et dont l'agent pathogène est la bactérie Ehrlichia equi, nouvellement baptisée Anaplasma phagocytophila. Cette maladie est retrouvée principalement aux Etats-Unis. Parce que l'ehrlichiose est transmise par les tiques "Ixodes spp" qui sont actives toute l'année dans les régions à climat méditerranéen chaud, nous avons choisi le Haras national Chaouchaoua de Tiaret pour faire nos prélèvements sur 128 chevaux afin de formuler un diagnostic et ainsi contribuer à l'étude de cette maladie en Algérie.

Mots clés : L'ehrlichiose, Infectieuse, tiques, chevaux.

ا
را ز ض ا هول ض اوي ا را ا او ا
م.
اه ض اف ار ا ات اة ان ز ا ا قدا الا
او ا اس فو دوتر م وماع ا ارد ا وض ي
ا ر ا.
آ ات را:ح ز قدا, ا ض, ل.

Summary

Equine granulocytic ehrlichiosis is a non contagious, infectious disease that affects horses, and whose agent is the bacterium Ehrlichia equi which is newly renamed Anaplasma phagocytophila. This disease is found mainly in the United States. Since ehrlichiosis is transmitted by ticks Ixodes spp""that are active throughout the year in warm Mediterranean areas, we have chosen the National Stud Chaouchaoua in Tiaret as our study field. Blood samples were taken from 128 horses, and a diagnosis was carried out so as to contribute to the study of this disease in Algeria.

Key words: ehrlichiosis, infectious, ticks, horses.