



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida



Université Saad
Dahlab-Blida 1-

Projet de fin d'études en vue de l'obtention du

Diplôme de Docteur Vétérinaire

L'anaplasmosse chez les ruminants :

Synthèse bibliographique

Présenté par

BADJI AHMED

GHERBI ABDERAHMANE

Devant le jury :

Président(e) :	Besbaci Mohamed	Grade	Maitre assistant classe A
Examineur :	Salhi Omar	Grade	Maitre assistant classe A
Promoteur :	Haddoum Mira Rima	Grade	Maitre assistante classe B

Année : 2016/2017

Remerciement

Au terme de ce modeste travail :

Nous tenons à remercier, avant tout, Dieu le tout puissant pour

Nous avoir donné la santé et la patience pour pouvoir

Achever ce travail.

Nous tenons à présenter nos vifs remerciements à notre promotrice

Dr Haddoum Mira Rima pour avoir accepté d'encadrer ce travail

Et aussi pour sa patience et son sérieux.

Nos remerciements les plus sincères à **Dr Besbaci Mohamed**

pour avoir accepté la présidence du jury de notre mémoire.

Nos remerciements sont également adressé à **Dr Salhi Omar**

pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous adressons nos vifs remerciements A toute personne ayant contribué de

près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail

BADJI AHMED

DEDICECES

Je dédie ce modeste travail avec un grand plaisir, spécialement à ceux qui ont été mes guides dans la vie :

A mes très chers parent .mon père et ma mère qui ont le droit de recevoir mes chaleureux remerciements pour le courage et le sacrifice qu'ils ont consenti pendant la durée de mes études en leurs souhaitant une longue vie pleine de joie et de santé. **Que le dieu vous protège.**

A ceux qui toujours su être présent à vous mes cher frères.

A mes deux adorables sœurs

A tous mes amis en souvenir les plus agréables pour tous les bons moments partagés.

Pourtant de gentillesse et de disponibilité. Grace auxquels ces années ont été ponctuées de moment d'évasion.

A tous (tes) les enseignants (es) qui ont contribué à notre formation.

A toutes personnes qui ont participé de près ou loin à l'élaboration de ce travail, l'expression de notre profonde gratitude

AHMED

Résumé

L'anaplasmose est une maladie infectieuse, inoculable et pouvant être transmise par les tiques dont la plus importante est *Ixodes ricinus*. Cette maladie est due à une bactérie du genre *Anaplasma* appartenant à l'ordre des Rickettsiales et à la famille des Anaplasmataceae. Cette maladie peut se manifester sous deux formes, une forme asymptomatique, les animaux restent alors (en l'absence de traitement) porteurs à vie, et une forme aiguë. L'anaplasmose est endémique dans de nombreuses régions du monde.

Notre étude a porté sur des données bibliographiques générales dans le monde. Nous avons dans un premier temps étudié la taxonomie et le cycle évolutif de la bactérie et de son vecteur, dans un deuxième temps nous avons tenté de détailler l'épidémiologie de la maladie. Nous avons par la suite consacré un chapitre à l'étude de la maladie chez les bovins et les ovins et enfin nous avons détaillé les différentes techniques de diagnostic, les traitements existants ainsi que la prophylaxie de la maladie.

Summary

Anaplasmosis is an infectious, inoculable disease that can be transmitted by ticks, the most important of which is *Ixodes ricinus*. This disease is due to a bacterium of the genus *Anaplasma* belonging to the Rickettsial order and to the Anaplasmataceae family. This disease can manifest itself in two forms, an asymptomatic form, the animals then remain (in the absence of treatment) bearers with screws, and an acute form. Anaplasmosis is endemic in many parts of the world.

Our study focused on general bibliographic data in the world. We first studied the taxonomy and the evolutionary cycle of the bacterium and its vector, and then attempted to detail the epidemiology of the disease. We then devoted a chapter to the study of the disease in cattle and sheep and finally we detail the different diagnostic techniques, the existing treatments as well as the prophylaxis of the disease.

المخلص

أنابلازموس هو مرض معد يمكن أن ينتقل عن طريق القراد والأكثر أهمية هو الخروج اللبود. وينتج هذا المرض عن طريق بكتيريا ومن الأنابلازما جنس ينتمون لأمر ريكتسيات وأسرة الأنابلازوماتاسي. هذا المرض يمكن أن يظهر في شكلين، شكل لا عرضي والحيوانات تبقى(في غياب العلاج) حاملة للمرض مدى الحياة وشكل حاد.والأنابلازموس متوطن في أجزاء كثيرة من العالم.

ركزنا دراستنا على البيانات الوبلوجرافية العامة في جميع أنحاء العالم. ونحن في البداية درسنا تصنيف ودورة الحياة للبكتيريا وناقلات لها، وثانيا حاولنا تفصيل وبائيات المرض. و بعد ذلك كرسنا فصلا لدراسة المرض في الأبقار والأغنام وأخيرا قمنا بتفصيل تقنيات مختلفة للتشخيص والعلاجات الحالية والوقاية من المرض.

SOMMAIRE

Introduction1

Chapitre 1 : Généralités

1.Définition.....3

2.Etude du parasite.....3

2.1. Taxonomie.....3

2.2. Morphologie6

2.3.Cycle évolutif.....8

3. Etude du vecteur.....10

Chapitre 2 : Epidémiologie

1.Epidémiologie descriptive.....14

2. Epidémiologie analytique15

2.1. Source du parasite15

2.2. Mode de transmission.....16

2.3. Espèces sensibles et réservoirs.....16

3. Facteurs qui favorisent la transmission.....19

4. Importance économique et zoonotique20

Chapitre 3 : l'anaplasmose chez les ruminants

1.L'anaplasmose bovine.....22

1.1.Symptomatologie.....22

1.2.Epidémiologie.....25

1.2.1.Répartition géographique25

1.2.2.Transmission.....25

1.2.3.Animaux atteints	25
2.L'anaplasmosse chez les petits ruminants	26
2.1.L'anaplasmosse à AnaplasmaOvis.....	26
2.1.1.Symptomatologie.....	26
2.1.2.Epidémiologie.....	27
2.1.2.1.Répartition géographique	27
2.1.2.2.Transmission.....	27
2.1.2.3.Animaux atteints	28
2.2.Ehrlichiose à AnaplasmaPhagocytophilum.....	28
2.2.1.Symptomatologie.....	28
2.2.2.Epidémiologie.....	30
2.2.2.1.Répartition géographique	30
2.2.2.2.Transmission.....	30
2.2.2.3.Animaux atteints	30

Chapitre 4 : Diagnostic, traitement et prophylaxie

1.Diagnostic.....	32
1.1.Diagnostic épidémiologique.....	32
1.2.Diagnostic clinique	33
1.2.1.Diagnostic de laboratoire.....	33
1.2.1.1.Numération et formule sanguine	34
1.2.1.2.Identification de l'agent pathogène ou bactérioscopie	34
1.2.1.3.La sérologie.....	37
1.2.1.3.1.La fixation du complément	37
1.2.1.3.2.Immunofluorescence indirecte.....	38
1.2.1.3.3.Amplification en chaine par polymérase PCR.....	38

1.2.1.3.4.Méthodeimmuno-enzymatique.....	39
1.2.1.3.4.1.Méthodeimmuno-enzymatique indirect	39
1.2.1.3.4.2.Méthodeimmuno-enzymatique par dépôt	39
1.2.1.3.5.Épreuve d'agglutination sur carte.....	39
1.3.Diagnostic différentiel	40
1.3.1.Maladies transmises par les tiques	40
1.3.2.Affections respiratoires et avortements.....	41
2.Traitement.....	42
3.Prophylaxie.....	43
3.1.Prophylaxie médicale.....	44
3.1.1.Vaccins vivants.....	44
3.1.2.Vaccins tués.....	44
Conclusion	46

Listes des figures

Figure 1 : Anaplasma Phagocytophilum.....	7
Figure 2 : A-Inclusions de Anaplasma marginale visibles sur un frottis sanguin de bovin atteint d'anaplasmose	
B-Inclusion d'Anaplasma marginale contenant trois sous-unités au microscope électronique.....	8
Figure 3 : Cycle de transmission d'Anaplasma phagocytophilum.....	9
Figure 4 : cycle ixodes ricinus.....	12

Liste des abréviations

- **ADN** = **Acide desoxyribonucleique**
- **EDTA** = **Ethylène diamine tétra-acétique (anticoagulant)**
- **EGB** = **ehrlichiose granulocytaire bovine**
- **EGH** = **ehrlichiose granulocytaire humaine**
- **ELISA** = **Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (technique immuno-enzymatique de détection)**
- **i-ELISA** = **Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (technique immuno-enzymatique de détection) indirect**
- **IFI** = **Immunofluorescence indirecte**
- **IgG** = **Immunoglobuline G**
- **IgM** = **Immunoglobuline M**
- **IL-8** = **interleukine 8**
- **P.C.R** = **Polymerase chain reaction**
- **TBF** = **tick-borne fever ou fièvre à tique**

Introduction

L'anaplasmose est une maladie des ruminants, transmise par des arthropodes piqueurs qui inoculent à l'animal une bactérie du genre *Anaplasma* (**Ganière, 2004**). L'anaplasmose est due à *Anaplasma marginale* et *Anaplasma centrale* (**Inokuma et al., 2001**). Ces deux bactéries appartiennent à la famille des *Anaplasmataceae*.

Les *Anaplasmataceae* sont des bactéries intracellulaires appartenant au sous-groupe des alpha-protéobactéries et incluses dans l'ordre des *Rickettsiales*. La famille des *Anaplasmataceae* comprend les genres *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Wolbachia* spp. et *Neorickettsia* spp. À l'exception des *Wolbachia* spp. qui sont des endosymbiotes, notamment des filaires, les autres genres sont impliqués dans des maladies communes à l'homme et à l'animal (**Tête et al. 2013**).

L'impact mondial des infections dues aux *Anaplasmataceae* est illustré par les cas humains et animaux rapportés depuis un siècle et par l'identification de nouvelles espèces pathogènes. Ainsi, durant les deux dernières décennies, de nombreuses études rapportent l'émergence de ces agents pathogènes chez l'homme et les animaux domestiques (**Doudier et al. 2010**).

Chez les animaux, *A. marginale* est agent causal de l'anaplasmose bovine, l'anaplasmose ovine est due elle à *A. ovis*. L'adaptation à de nouveaux hôtes constitue une stratégie pour trouver des réservoirs alternatifs en l'absence de réservoir principal à la suite de changements écologiques (**Kocan et al. 2004**). Par exemple, les moutons, dans certains contextes, peuvent servir de réservoir principal d'*A. phagocytophilum* en l'absence d'autres hôtes importants comme les rongeurs ou les cerfs (**Ogden et al. 2002**).

L'anaplasmose est une maladie vectorielle, les principaux arthropodes porteurs de la bactérie sont les tiques de la famille des *Ixodidae*, principalement *I. ricinus*

L'anaplasmose se manifeste cliniquement par une anémie intense et de l'hyperthermie (**Labrunie, 1986**), par une perte de poids, des avortements et parfois la mort (**Ganière, 2004, Lew et al., 2002**).

Le diagnostic de cette maladie peut être épidémiologique et clinique mais le diagnostic de laboratoire reste le meilleur moyen pour confirmer la maladie et aussi pour pouvoir la différencier des autres maladies ayant les mêmes signes symptomatiques.

Introduction

Le traitement de l'anaplasmose passe par l'utilisation des antibiotiques, des traitements symptomatiques sont aussi envisageable mais ils sont réservés aux animaux de grande valeur économique car même guérit les animaux restent des réservoirs de la bactérie et peuvent être des vecteurs.

Le traitement de l'environnement (élimination des tiques) et des animaux atteints reste le meilleur moyen de lutte contre l'anaplasmose.

Chapitre I : Généralités

1. Définition

L'anaplasmose est une maladie des ruminants, transmise par des arthropodes piqueurs qui inoculent à l'animal une bactérie du genre *Anaplasma* (**Ganière, 2004**).

L'anaplasmose est due à *Anaplasma marginale* et *Anaplasma centrale* (**Inokuma et al., 2001**). Ces deux bactéries appartiennent à l'ordre des *Rickettsiales* et à la famille des *Anaplasmataceae*. La première a un fort pouvoir pathogène alors que la deuxième n'entraîne qu'une infection bénigne chez les bovins (**Camus et Uilenberg, 2003 ; Inokuma et al., 2001 ; Lew et al., 2002**). Ces deux bactéries ont un tropisme érythrocytaire (**De La Fuente et al., 2004 ; Inokuma et al., 2001 ; Sauger, 2005**).

L'anaplasmose se manifeste cliniquement par une anémie intense et de l'hyperthermie (**Labrunie, 1986**), par une perte de poids, des avortements et parfois la mort (**Ganière, 2004 ; Lew et al., 2002**).

L'anaplasmose fut découverte en 1910 en Afrique du Sud par Arnold Theiler (**Camus et Uilenberg, 2003 ; Goureau, 1994 ; Labrunie, 1986**). Elle a depuis été observée en Algérie, au Zimbabwe, en Italie, ...

Seule *A. marginale* est présente en Europe du sud, en particulier au Portugal, et dans les pays du pourtour méditerranéen (**Camus et Uilenberg, 2003 ; Ganière, 2004 ; Labrunie, 1986**).

C'est une enzootie dans la Manche et le Calvados, en 1929, provoque la promulgation d'un décret qui qualifie la maladie de « contagieuse » (**Labrunie, 1986**).

2. Etude du parasite

2.1. Taxonomie

L'anaplasmose granulocytaire a été observée pour la première fois en 1932 dans un troupeau de moutons en Ecosse (**Macleod et Gordon, 1933**). Cette maladie était caractérisée par une forte fièvre coïncidant avec la présence de tiques. Elle fut ainsi longtemps nommée la « tick-borne fever » (TBF ou fièvre à tique). Depuis sa découverte, des cas de TBF ont été rapportés dans tout le reste de l'Europe, principalement chez les ovins et les bovins. L'agent pathogène responsable de cette maladie a été identifié par Foggie en 1951 comme étant une

bactérie de la famille des rickettsies, infectant les granulocytes, qu'il nomma alors *Rickettsia phagocytophila* (Foggie, 1951).

La maladie a ensuite été décrite aux USA chez le cheval en 1969 (Gribble, 1969), chez le chien en 1982 (Madewell et Gribble, 1982) et chez l'homme en 1994 (Chen, Dumler et al., 1994) sous trois appellations différentes : l'ehrlichiose granulocytaire équine, canine et humaine respectivement.

Pendant longtemps le genre *Anaplasma* a été placé parmi les protozoaires notamment par analogie avec les babesies. Depuis 1957 il a été rattaché à l'ordre des Rickettsiales du fait de ses propriétés métaboliques, morphologiques et sérologiques (Durrani et Goyal, 2012).

Avant 1993 l'ordre des Rickettsiales était subdivisé en trois familles : celle des Rickettsiaceae, celle des Anaplasmataceae et celle des Bartonellaceae. La famille des Rickettsiaceae était divisée en trois tribus : celle des Rickettsiinae, celle des Ehrlichieae, et celle des Wolbachieae.

La classification alors admise était la suivante :

Ordre des Rickettsiales

- **Famille des Rickettsiaceae**
 - **Tribu des Rickettsiinae**
 - **Genre des Rickettsia**
 - **Genre des Rochalimaea**
 - **Genre des Coxiella**
 - **Tribu des Ehrlichieae**
 - **Genre Ehrlichia**
 - **Genre Cowdria**
 - **Genre Neorickettsia**
 - **Tribu des Wolbachieae**
 - **Genre Wolbachia**
 - **Genre Rickettsiella**
- **Famille des Anaplasmataceae**
 - **Genre Anaplasma**
 - **Genre Aegyptianella**
 - **Genre Haemobartonella**
 - **Genre Eperythrozoon**

- **Famille des Bartonellaceae**
 - **Genre Bartonella**
 - **Genre Grahamella**

Cette classification a été plusieurs fois remodifiée depuis, notamment avec l'exclusion de la famille des Bartonellaceae (**Brenner et al., 1993 ; Birtles et al., 1995**) et des genres Coxiella (**Roux et al., 1997**) Eperythrozoon et Haemobartonelle (**Neimar et Kocan, 1997 ; Rikihisay, 1997**).

Ce n'est qu'en 2001, lors de l'étude phylogénétique visant à réorganiser la classification de l'ordre des Rickettsiales (**Dumler, Barbet et al., 2001**), qu'il a été prouvé que les trois ehrlichioses granulocytaires étaient dûes à une seule espèce bactérienne appartenant aux Anaplasmataceae et la bactérie a été renommée *Anaplasma phagocytophilum*

La classification proposée par Dumler et al. est basée sur l'analyse des séquences de l'ARN 16S, des gènes de l'opéron GroESL, et des gènes codants pour des protéines de surface (**Dumler, Barbet et al. 2001 ; Yu et al., 2001**). Elle a été validée en 2004 et apparait actuellement dans le Bergey's manual of Systemic Bacteriology (**Brenner et al., 2005**).

Cette nouvelle classification est la suivante :

Ordre des Rickettsiales

- **Famille des Rickettsiaceae**
 - Genre Rickettsia
 - Genre Orienta
- **Famille des Anaplasmataceae**
 - **Genre Anaplasma**
 - Anaplasma phagocytophilum
 - Anaplasma marginale
 - Anaplasma ovis
 - Anaplasma bovis
 - Anaplasma platys
 - **Genre Ehrlichia**
 - Ehrlichia chaffeensis
 - Ehrlichia ruminantium
 - Ehrlichia ewingii
 - Ehrlichia ovis
 - Ehrlichia canis

Ehrlichia muris

- **Genre Neorickettsia**

Neorickettsia helminthoeca

Neorickettsia risticii

Neorickettsia sennetsu

- **Genre Wolbachia**

Wolbachia pipientis

2.2. Morphologie

La famille des Anaplasmataceae regroupe des bactéries intracellulaires obligatoires se répliquant dans des vacuoles présentes dans le cytoplasme de cellules hôtes eucaryotes. Celle des Rickettsiaceae regroupe des bactéries intracellulaires obligatoires qui se croissent directement dans le cytoplasme de cellules hôtes eucaryotes (**Kocan et al., 2004**).

Les bactéries du genre Anaplasma sont des bactéries Gram négatif, de petite taille, polymorphes (ellipsoïdes ou rondes), qui se multiplient dans des vacuoles à l'intérieur du cytoplasme de leurs cellules hôtes sous forme de morula (contenant plusieurs bactéries). Leurs cellules hôtes sont des cellules hématopoïétiques matures ou immatures (neutrophiles, érythrocytes, plaquettes...). Ces bactéries infectent des mammifères (humains, bovins, petits ruminants, chien, chevaux...) et ont pour vecteur diverses espèces de tiques (**Dumler, Barbet et al. 2001**).

A. phagocytophilum est une bactérie intracellulaire stricte, gram négative, qui infecte les granulocytes neutrophiles. Elle vit et se réplique au sein de vacuoles, appelées morula, formées par les membranes des cellules infectées. Cette bactérie mesure entre 0,4 et 1,3 µm et présente deux morphotypes : réticulé (RC) et noyau dense (« dense core » ou DC). Le morphotype réticulé est la forme répliquative non infectieuse du cycle de développement d'*A. phagocytophilum*, alors que le morphotype en noyau dense est la forme infectieuse, résistant aux changements environnementaux, qui peut sortir de la cellule de l'hôte pour en infecter une autre (**Woldehiwet and Scott 1982 ; Troese, Kahlon et al. 2011**).

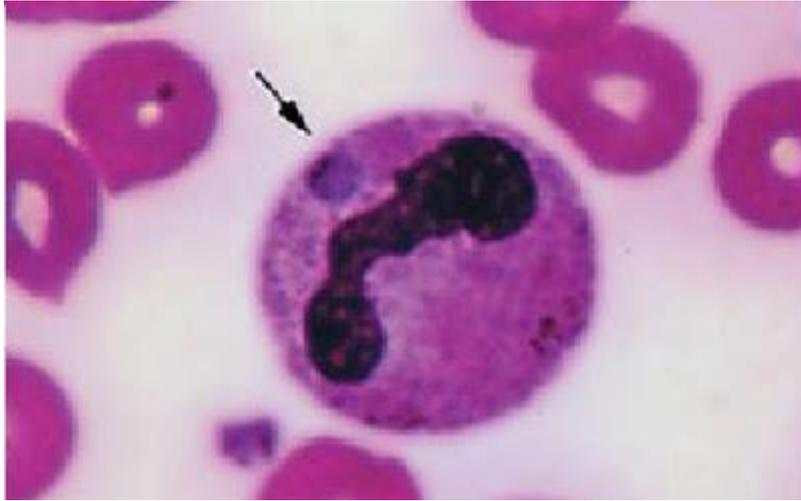


Figure 1 : Anaplasma Phagocytophilum
(<http://www.infectionlandscapes.org/2011/06/ehrlichiosis.html>)

En ce qui concerne *Anaplasma marginale*, elle est visible sur frottis sanguin coloré au Giemsa sous forme d'inclusions rondes, denses, pourpre foncé, de 0,3 à 0,8 microns de diamètre, accolées à la membrane des érythrocytes et aux contours légèrement irréguliers. Ces inclusions contiennent 4 à 8 sous-unités appelées « corps initiaux » et constitués chacun d'une bactérie (**Kocan et al, 2010 ; Lefevre et Blancou, 2003**).

Au microscope électronique, ces corps initiaux contiennent une membrane externe et une membrane interne, qui entourent une matière filamenteuse dense comme on peut le voir sur les figures 2 (**Kocan et al, 2010 ; Lefevre et Blancou, 2003**)

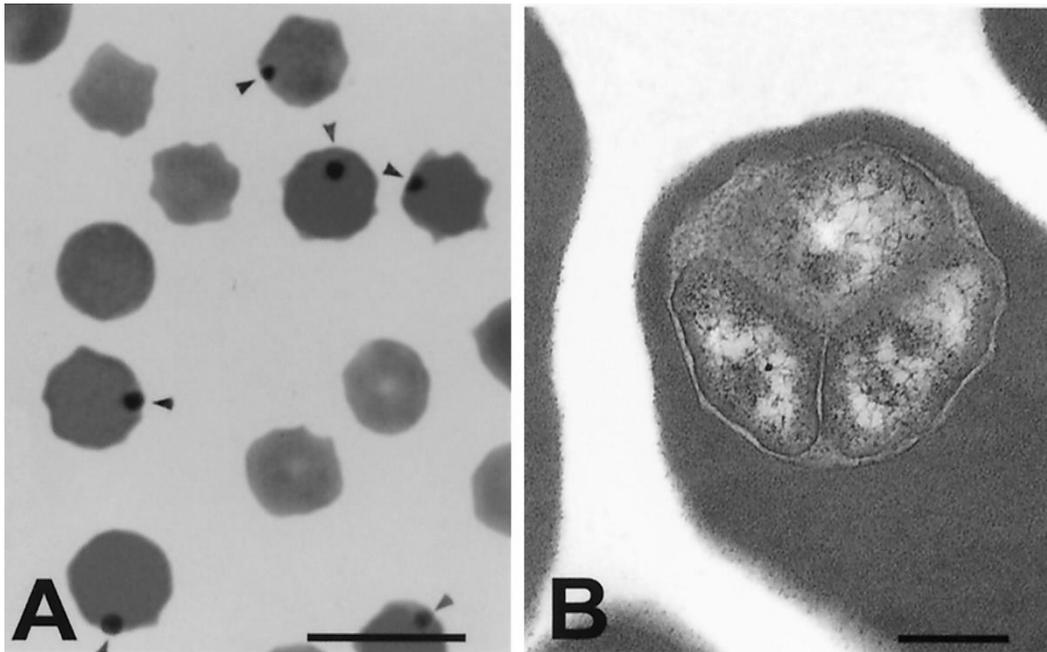
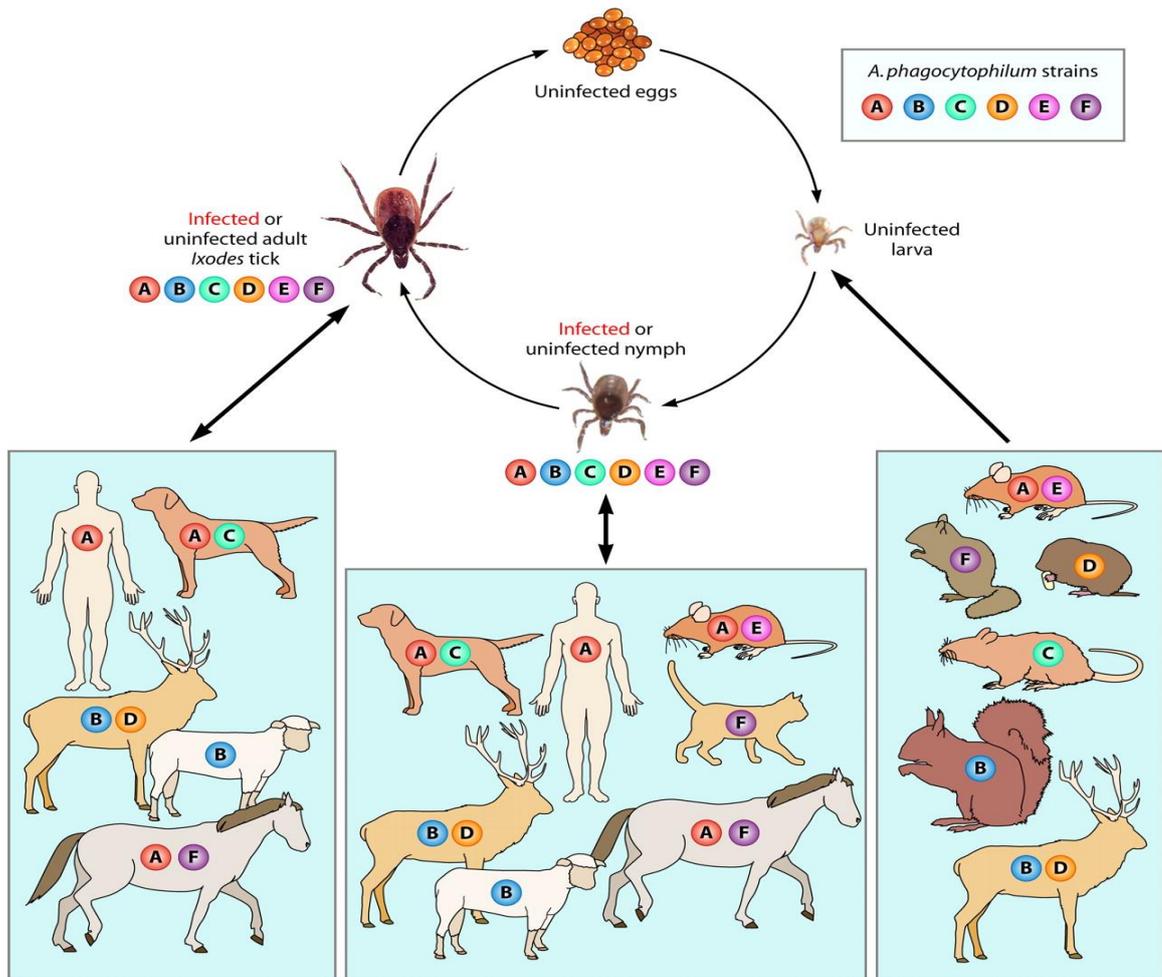


Figure 2 : A-Inclusions de *Anaplasma marginale* visibles sur un frottis sanguin de bovin atteint d'anaplasmose
B-Inclusion d'*Anaplasma marginale* contenant trois sous-unités au microscope électronique (Kacan et al, 2003).

2.Cycle évolutif

A. phagocytophilum circule entre les différents hôtes par l'intermédiaire des tiques (Figure 3). La tique acquiert la bactérie en prenant un repas de sang sur un hôte vertébré infecté, puis elle transmet la bactérie à un hôte vertébré sain lors du repas suivant. Le cycle de vie d'*A. phagocytophilum* dépend donc de l'efficacité des transmissions de la tique vers l'hôte vertébré et *vice-versa*, mais également de sa survie dans la tique entre les différents repas et dans les cellules de l'hôte vertébré.



**Figure 3 : Cycle de transmission d'*Anaplasma phagocytophilum*.
Figure extraite de Rikihisa (2011)**

A. phagocytophilum met en place de nombreux mécanismes pour survivre et éviter le système immunitaire des hôtes et augmenter sa probabilité de transmission, elle manipule les cellules hôtes pour survivre et se propager.

Dans un premier temps, elle recrute les granulocytes en augmentant la transcription des IL-8 (Akkoyunlu, Malawista et al., 2001), puis elle détourne le système immunitaire en réduisant notamment la production d'anion superoxide, la fusion des lysosomes, l'autophagie et les signaux IFN- γ , qui permettent aux neutrophiles d'éliminer les bactéries intracellulaires (Woldehiwet, 2008). Enfin, *A. phagocytophilum* augmente sa survie en contrôlant et retardant les mécanismes de l'apoptose (Yoshiie, Kim et al., 2000).

Pour détourner le système immunitaire et exploiter les cellules de l'hôte, *A. phagocytophilum* utilise un système de sécrétion de type IV. Deux molécules effectrices sécrétées par ce système ont été identifiées comme étant essentielles pour l'infection, ankA et

Ats-1. ankA facilite l'infection intracellulaire par l'activation de la voie de signalisation Abl-1 (Lin, Den Dulk-Ras et al., 2007) et par la manipulation des processus de la cellule hôte en interagissant avec la protéine Ats-1 qui intervient notamment dans le blocage de l'apoptose (Niu, Kozjak Pavlovic et al., 2010 ; Rikihisa, Lin et al., 2010). En outre, ankA interagit avec d'autres régions régulatrices du génome de l'hôte pour diminuer l'expression de gènes clés dans la défense de l'hôte comme CYBB (gp91phox) (Garcia-Garcia, Rennoll-Bankert et al., 2009).

Le génome d'*A. phagocytophilum* est composé de nombreux gènes impliqués dans les interactions avec les cellules hôtes. Il possède plus de 110 gènes codants des protéines majeures de surface permettant de reconnaître et d'adhérer aux cellules cibles, et de contrer les anticorps produits par l'hôte (Rikihisa, 2010 ; Rejmanek, Foley et al., 2012a). Parmi ces gènes se trouvent les gènes msp2/p44 dont l'expression évolue rapidement pour limiter la reconnaissance de la bactérie par les anticorps de l'hôte. Les études in vitro ont permis d'évaluer le taux d'évolution du site d'expression de msp2 entre 1 et 2% par semaine chez la souris (Rejmanek, Foley et al., 2012b).

3. Etude du vecteur

A. phagocytophilum est transmise entre les hôtes de façon indirecte par l'intermédiaire d'un vecteur. La participation d'une espèce donnée en tant que vecteur dans un cycle épidémiologique est définie par sa compétence et sa capacité vectorielle.

La compétence vectorielle est déterminée par l'aptitude à s'infecter, à assurer le développement de l'agent infectieux et à le transmettre à un hôte réceptif. Elle ne peut être testée qu'expérimentalement. Pour les arthropodes qui transmettent les agents pathogènes par pique ou morsure, tels que les tiques, la compétence vectorielle peut être testée par xénodiagnose.

La xénodiagnose consiste à mettre les arthropodes sains en contact avec des hôtes infectés pour vérifier leur capacité à s'infecter, puis de les mettre en contact avec des hôtes sains pour vérifier leur capacité à transmettre.

La capacité vectorielle est la résultante de la compétence vectorielle et de l'écologie du vecteur (abondance, longévité, préférences trophiques, etc.). La capacité vectorielle permet d'évaluer la contribution d'une espèce à la propagation de l'agent pathogène. A défaut de pouvoir déterminer expérimentalement la compétence et la capacité vectorielle, l'implication

potentielle d'un invertébré comme vecteur est le plus souvent évaluée par la prévalence l'agent pathogène chez celui-ci (**Chastagner., 2014**).

Pour *A. phagocytophilum* les principaux arthropodes porteurs de la bactérie sont les tiques de la famille des *Ixodidae*. Principalement *I. ricinus* de l'Europe de l'Ouest jusqu'en Asie centrale ; les autres espèces impliquées sont *I. persulcatus* en Europe de l'Est et en Asie, *I. scapularis* et *I. pacificus* aux Etats-Unis (**Parola et Raoult, 2001 ; Courtney et al., 2003 ; Dumler et Brouqui, 2004 ; Ereemeeva et al., 2006**).

I. ricinus est une tique sauvage qui vit en milieu humide, en prairie près des bois ou en forêt. Elle est sensible à la sécheresse. Son activité commence à 9°C ; elle est maximale à 12°C, elle semble survivre difficilement lorsque l'altitude excède 1000m (**Liz et al., 2002**).

I. ricinus est une tique triphasique : chaque stade se fixe sur un hôte différent et y effectue un unique repas sanguin. Les mâles font exception et ne prennent pas de repas sanguin. La tique se contamine au cours de son repas sur un hôte porteur d'*A. phagocytophilum* ; elle transmet la bactérie au stade suivant (de larve à nymphe, puis adulte : transmission transstadiale) mais ne peut la transmettre à ses œufs (**Bussiéras et Chermette, 1991 ; Woldehiwet, 2006**) (**Figure 3**). En conséquence de l'absence de transmission transovarienne, les hôtes d'*I. ricinus* réceptifs à *A. phagocytophilum* ont un rôle majeur dans la constitution d'un réservoir (défini comme l'ensemble des espèces réceptives mais peu sensibles à l'agent bactérien, dans lesquelles celui-ci persiste ;(**Toma et al., 2001**).

I. ricinus est télotrope : son tropisme est très peu spécifique (**Bussiéras et Chermette, 1991**). Son large spectre d'hôtes comprend l'homme, pour lequel elle a une affinité forte (**Parola et Raoult, 2001**) ; elle se fixe également sur des mammifères domestiques, comme le chien, le cheval, les bovins, mais aussi sur de nombreux animaux sauvages : mammifères, reptiles et oiseaux. Les larves et nymphes se fixent plutôt sur les animaux de petite taille, tandis que les adultes ont tendance à mordre les grands mammifères (**Bussiéras et Chermette, 1991**).

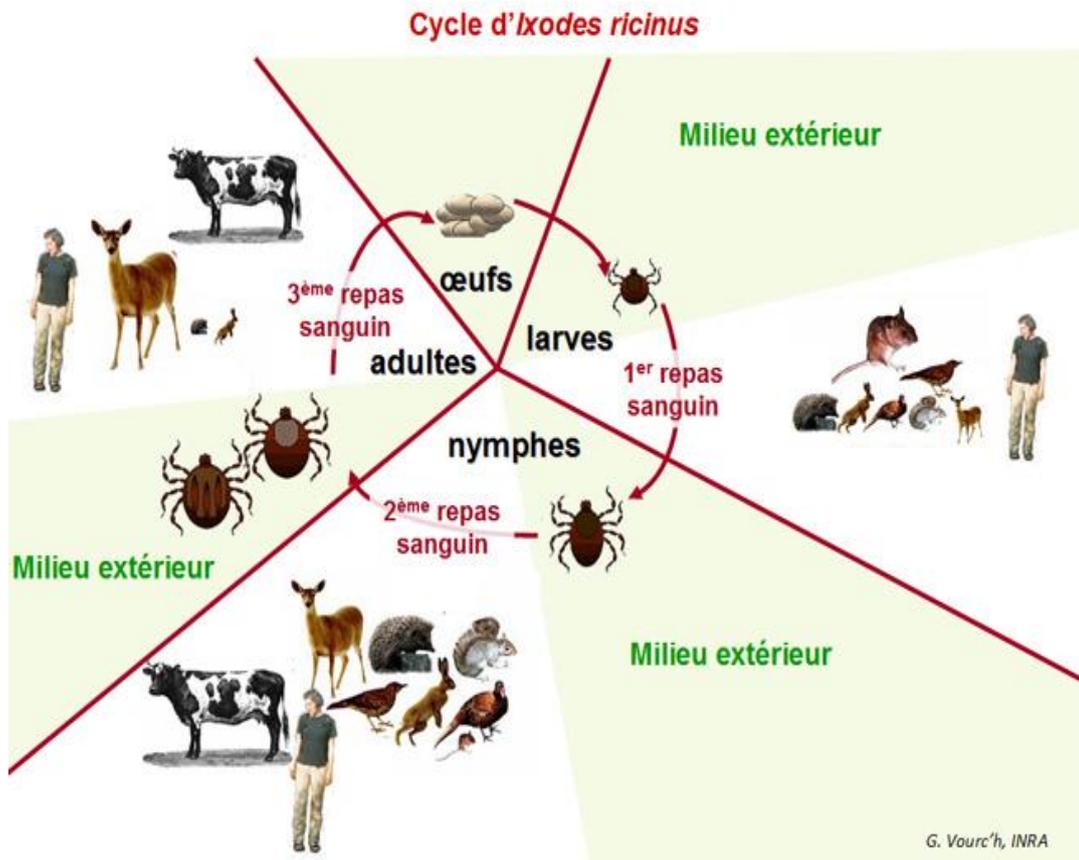


Figure 4 : cycle *ixodes ricinus*

<http://www.pharmaciadignacmilletlacombepharmactiv.com/article/les-tiques-et-la-maladie-de-lyme-pour-les-nuls-article-redige-par-la-pharmacie-millet-lacombe-38577/article>

La compétence vectorielle a été prouvée pour *I. scapularis* et *I. pacificus* aux Etats-Unis (Telford, Dawson et al., 1996 ; Teglas et Foley, 2006), *I. ricinus* et prévalences déterminées chez les tiques par détection d'ADN bactérien sont très variables selon les zones échantillonnées, le stade de développement de la tique et l'espèce testée. Par exemple, les taux d'infections observés chez les nymphes d'*I. ricinus* sont compris entre moins de 1% et 24%, chez *I. scapularis* de moins de 1% à 50% et chez *I. pacificus* de moins de 1% à 10% (Stuen, Granquist et al., 2013).

La bactérie a été détectée chez d'autres espèces de tiques pour lesquelles la compétence vectorielle n'a pas été testée, en particulier chez des tiques du genre *Ixodes* (*I.*

dentatus, *I. ovatus*, *I. nipponensis*, *I. ventalloi*), mais aussi chez des espèces du genre *Dermacentor* (*D. variabilis*, *D. occidentalis*, *D. silvarum*, *D. reticulatus*, *D. albipictus*), *Amblyomma* (*Amblyomma americanum*) ou *Haemaphysalis* (*H. megaspinosa*, *H. douglasii*, *H. longicornis*, *H. japonica*, *H. concinna*) (Stuen, Granquist et al., 2013). Peu d'études ont été menées sur d'autres arthropodes, cependant la présence d'*A. phagocytophilum* a été montrée chez les aoutats (Fernández-Soto, Perez-Sanchez et al., 2001) et chez un acarien qui vit dans le plumage des oiseaux, *Dermoglyphus passerinus* (Skoracki et Michaliket, 2006).

La diversité des espèces vectrices potentielles peut avoir des conséquences sur les cycles épidémiologiques de la bactérie, et peut expliquer en partie la diversité de souches d'*A. phagocytophilum* et de cycles observés. En effet, certaines tiques ont des niches écologiques spécifiques avec des préférences trophiques strictes. Ces préférences trophiques peuvent induire un cycle bactérien spécifique à l'espèce vectrice et à certains hôtes. De plus, les différences de prévalence au sein des vecteurs et la différence d'efficacité de transmission peuvent favoriser la propagation de certaines souches. Ce phénomène a été démontré pour *I. scapularis* et *I. pacificus* pour lesquelles le différentiel de capacité vectorielle favorise une ségrégation Est Ouest des souches d'*A. phagocytophilum* aux Etats-Unis (Teglas et Foley, 2006) ; et pour *I. ricinus* et *I. trianguliceps* pour lesquelles le différentiel a conduit à la coexistence de souches spécifiques à chacune des espèces (Bown, Lambin et al., 2008).

Chapitre II : Epidémiologie

1. Epidémiologie descriptive

A. phagocytophilum est l'agent d'une fièvre des pâtures ou « fièvre à tiques » (tick borne fever) chez les ovins, les bovins, les caprins et les autres cervidés (**Brouqui et Raoult, 1998**). La transmission de la maladie s'effectuant essentiellement par les tiques, les animaux concernés sont ceux qui pâturent (**Scott, 1990**).

Les jeunes individus sont sensibles dès les premières semaines de vie (**Stuen et al., 1992 ; Stuen, 1993**) et les adultes restent cibles en l'absence d'immunité protectrice. Il faut noter que l'isolement du parasite a eu lieu chez de nombreuses espèces sauvages tels que le cerf Élaphe, le daim et le chevreuil (**Woldehiwet et Scott, 1982**).

La fièvre à tiques est présente dans de nombreux pays européens, dans les zones tempérées. Elle fut découverte en Écosse, puis décrite dans d'autres parties de Grande-Bretagne (Hudson, 1950). La maladie fut ensuite décrite en Norvège (Overas, 1959), en Hollande (Boel et Reinders, 1964), en Finlande (Tusmi, 1966), en Irlande (Collins et coll., 1970) et en Autriche (Hinaidy, 1973). En France, quelques cas ont été récemment décrits (**Argente et al., 1992 ; Joncour et al., 2000**).

L'incubation de la maladie étant courte, les cas cliniques apparaissent pendant la saison de pâture, en relation avec l'activité saisonnière des tiques. Une prévalence maximale est rencontrée d'avril à octobre (**Gilot et Perez-eid, 1998**). En fonction de la zone climatique, on note des pics de transmission de printemps et d'automne si le climat est plutôt continental, alors que la transmission peut rester élevée en été si le climat est océanique (températures maximales modérées) (**Fivaz et al., 1991 ; Pusterla et al., 1997 ; Woldehiwet, 1983**).

L'anaplasmose granulocytaire des ruminants en Europe est une maladie non contagieuse, transmissible par la tique *Ixodes ricinus* (**Alberdi et al., 1998**) (**Baumgarten et al., 1999 ; Cinco, 1997**). Elle évolue de manière endémique (**Pusterla et al., 1998**) et saisonnière. *A. phagocytophilum* est un parasite des ruminants domestiques et sauvages sous les climats tempérés.

2. Epidémiologie analytique

2.1. Source du parasite

Le cycle de la maladie est trixène, composé de son vecteur, son réservoir et son hôte définitif. Chacun d'eux peut être source du parasite.

MacLeod et Gordon ont établi en 1933 que le vecteur d'*A. phagocytophilum* était la tique *Ixodes ricinus*, un acarien de la famille des Ixodidés.

La tique *Ixodes ricinus* est une espèce exophile qui attend son hôte dans la végétation, avec cependant des séjours réguliers dans la litière végétale. C'est une espèce ubiquiste qui montre malgré tout un tropisme pour les mammifères de grande taille au stade adulte (dite télotige) (**Gilot et Perez-eid, 1998**).

Les Ixodidés connaissent trois stades au cours de leur développement, les faisant passer de larve à nymphe puis adulte. Dans cette famille, les repas sont uniques à chaque stade (**Perez-eid, Gilot, 1998**). L'isolement d'*A. phagocytophilum* a eu lieu aux stades de nymphe et d'adulte, mais jamais au stade larvaire en l'absence de repas sanguin. Cela semble montrer l'absence de transmission transovarienne du parasite chez *Ixodes ricinus*. En revanche, la présence d'*A. phagocytophilum* chez des adultes à jeun prouve une transmission trans-stadiale (**Webster et Mitchell, 1989**).

Les méthodes de détection sont fondées sur les mêmes techniques applicables à la recherche chez les ruminants. Nous détaillerons ces méthodes lors du diagnostic de laboratoire.

La première méthode consiste à laisser des tiques potentiellement infectées effectuer un repas complet sur des chèvres naïves. Le suivi clinique des chèvres post-inoculation permet de mettre en évidence la maladie (**Alberdi et al., 1998**).

La seconde est la coloration par la méthode de Feulger des glandes salivaires et l'examen direct au microscope optique (**Alberdi et al., 1998 ; Webster et Mitchell, 1989**). On peut également mettre en évidence *A. phagocytophilum* dans les glandes salivaires par immunofluorescence indirecte (**Alberdi et al., 1998**), par microscopie électronique (**Webster et Mitchell, 1989**) et enfin par Polymerase Chain Reaction (**Baumgarten et al., 1999 ; Cinco, 1997, Pusterla et al., 1999 ; Pusterla et Huder et al., 1998**). La P.C.R. est la méthode la plus sensible et la plus spécifique, mais aussi la plus coûteuse et la plus lourde.

Grâce à ces méthodes on obtient une prévalence d'*A. phagocytophilum* très variable en fonction des études, des régions, des origines et méthodes de collecte.

2.2. Mode de transmission

Chaque stade nécessite un repas sanguin pour muer. Durant chaque repas la tique a la possibilité d'échanger des germes avec son hôte, c'est à dire de s'infecter, de transmettre un agent infectieux, ou les deux à la fois.

La transmission d'*A. phagocytophilum* se fait par la salive ; elle y est présente en grande quantité (**Webster et Mitchell, 1989**). Le temps de fixation nécessaire à cette transmission est de 30 à 36 heures (**Munderloh et al., 1999**) sachant qu'un repas dure en moyenne huit jours (**Bourdeau, 1993**).

Le nombre maximal de bactéries dans les cellules des glandes salivaires est obtenu en 5 à 7 jours (**Munderloh et al., 1999**). Deux stades, la nymphe et l'adulte, permettent l'infection chez les bovins (**Stuen et al., 1998**).

2.3. Espèces sensibles et réservoirs

A la différence des autres agents Ehrlichia, *A. phagocytophilum* n'a pas une grande spécificité d'hôte, de nombreux mammifères sont sensibles aux bactéries des différents biovars.

Ainsi, *Anaplasma phagocytophilum* biovar *phagocytophilum* affecte plus particulièrement les ovins chez qui il entraîne la Fièvre à tiques ou Tick Born Fever, et les bovins, la maladie est alors appelée fièvre des pâturages ou encore ehrlichiose granulocytaire bovine (EGB). Ce biovar affecte aussi les caprins, les rongeurs et les cervidés sauvages.

Anaplasma phagocytophilum biovar EGH est responsable quand à lui de l'Ehrlichiose granulocytaire humaine ou EGH. Les grands mammifères (cerfs, biches, chevreuils, sangliers et renards), les micromammifères (mulots, campagnols), les animaux domestiques et les oiseaux sauvages peuvent néanmoins aussi être infectés (**Amiel, Abadia et al. 2003**).

Enfin, *Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi* affecte naturellement les équidés mais des études montrent que d'autres espèces sont sensibles et réceptives à l'infection de façon naturelle ou expérimentale :

Commençons par les ovins, caprins (et bovins) : Gribble en 1969 a inoculé du sang issu d'un cheval atteint de façon certaine d'anaplasmosse équine à 2 veaux, 3 brebis, 3 agneaux et 1 chèvre.

Les veaux et les brebis n'ont pas présenté de fièvre, ni d'inclusion dans leurs neutrophiles, alors que la chèvre et les agneaux ont eu quelques neutrophiles contenant des inclusions mais pas de fièvre non plus. Les ovins et caprins sont donc réceptifs à une infection expérimentale par *A. phagocytophilum* biovar equi (**Gribble 1969**).

Mais **Stuen et al. (1998)** montrent que les veaux présentent en fait une infection subclinique après inoculation d'un isolat d'*A. phagocytophilum* biovar equi. En effet, bien que lors de cette expérience les animaux n'avaient pas présenté de signe clinique, des neutrophiles infectés sont observés dans le sang de tous les veaux inoculés (n=7) (**Stuen, Artursson et al. 1998**).

Pusterla et al. en 2001 inoculent à 2 bœufs des leucocytes infectés par *A. phagocytophilum* et à 2 autres des cellules HL60 infectées par l'agent de l'EGH. Aucun signe clinique, ni aucune inclusion dans les granulocytes ne sont détectés. De même, aucun fragment d'ADN d'*Anaplasma* n'est amplifié. Par contre, une faible réponse en anticorps est observée chez les 4 bovins (**Pusterla, Anderson et al. 2001**). Même si l'échantillon est faible, l'hypothèse serait que les bovins ne seraient pas sensibles à *Anaplasma phagocytophilum* biovar equi ni à l'agent responsable de l'éhrlichiose granulocytaire humaine mais présenteraient seulement une séroconversion asymptomatique.

Pour les Chats, chiens et primates non humains : **Lewis et al. en 1975** ont étudié le spectre d'hôtes expérimentaux d'*A. phagocytophilum* biovar equi. Ils ont considéré dans cette étude qu'un animal inoculé est infecté par la bactérie si et seulement si, les morulas typiques sont observées dans le cytoplasme des neutrophiles ou des éosinophiles de cet animal.

Après inoculation par du sang de cheval infecté par *A. phagocytophilum* biovar equi en phase clinique, des morulas ont été observées dans les éosinophiles des chats, les neutrophiles des primates non humains (Macaques Rhésus et Babouins) et dans les neutrophiles et éosinophiles des chiens entre 3 et 7 jours post-inoculation. On a donc démontré la transmission expérimentale d'*A. phagocytophilum* biovar equi entre le cheval et le chien, le chat et les primates non humains. Aucun signe clinique n'a été noté chez les chats et les singes infectés dans cette étude.

Lewis et al. ont ensuite collecté le sang de ces singes infectés et l'ont inoculé à un cheval sain qui a développé une anaplasnose équine typique. Puis ils ont récolté le sang de ce cheval en phase clinique et l'ont inoculé à d'autres singes sains. Ces derniers ont développé de la fièvre et une légère anémie et des morulas typiques ont été observées.

La transmission expérimentale d'*A. phagocytophilum* biovar equi est donc démontrée entre les primates non humains et le cheval. Les chercheurs ont alors commencé à prendre en considération une possible transmission de la bactérie à l'Homme. Dans cette étude, aucune lésion macroscopique ou microscopique attribuable à l'infection par *A. phagocytophilum* biovar equi n'a été notée à l'autopsie des chiens, chats et singes inoculés (**Lewis, Huxsoll et al., 1975**).

En ce qui concerne les rongeurs, **Lewis et al. (1975)** ont souligné qu'aucune morula n'a été observée dans les granulocytes des rats, souris, cochons d'Inde, hamsters et lapins inoculés par plusieurs voies (intraveineuse, intra péritonéale et sous-cutanée). Les auteurs n'ont pas considéré ces espèces comme réceptives à *A. phagocytophilum* biovar equi. (Lewis, Huxsoll et al. 1975)

Cependant, si les rongeurs ne semblent pas réceptifs à la bactérie, les petits mammifères, hôtes communs des stades immatures des tiques, sont suspectés d'être les réservoirs naturels d'*A. phagocytophilum*.

Lors d'une étude menée en Suisse en 2000, des chercheurs ont pu mettre en évidence l'ADN d'*A. phagocytophilum* dans différents tissus (rate, foie, sang, oreille) de petits mammifères notamment *C. glareolus* (espèce de campagnol) ainsi que dans leurs tiques parasites (**Liz, Anderes et al., 2000**). Aux Etats-Unis, c'est une espèce de souris à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*), hôte principal d'*Ixodes Scapularis*, qui semble être le réservoir principal d'*A. Phagocytophilum* (**Telford, Dawson et al., 1996**). Par ailleurs, les grands cervidés sauvages (hôtes privilégiés des tiques adultes du genre *Ixodes*) et notamment, le cerf de virginie (*Odocoileus virginianus*) aux Etats-Unis, semblent aussi être des réservoirs. Une étude suggère d'ailleurs que le taux d'incidence annuel de l'EGH aux Etats-Unis est directement influencé par la coexistence simultanée de mammifères et de leurs sources alimentaires potentielles dans une région. Ce serait l'augmentation de la population de cervidés en Europe qui serait à l'origine de l'accroissement de l'incidence des infections transmises par les tiques.

D'autre part, plusieurs études se sont intéressées aux possibilités d'expansion de la maladie et notamment au rôle des oiseaux migrateurs en tant que vecteurs de tiques. Lors d'une étude réalisée en Suède durant le printemps 1996, des scientifiques ont cherché à déterminer la fréquence des tiques infectées par des bactéries du groupe *Ehrlichia* sur les oiseaux migrateurs ceci, afin d'estimer le nombre de tiques infectées importées ou exportées par ces oiseaux dans le pays. Des séquences d'ADN appartenant au groupe ont été détectées sur environ 8% des

nymphes et des larves récoltées. Les séquences ADN trouvées chez ces tiques étaient identiques de celles de l'ehrlichiose granulocytaire retrouvée chez les animaux et les humains en Suède. Environ 100 million d'oiseaux migrent à travers la Suède chaque année, si la fréquence des larves infectées est réellement semblable à celle de cette étude on peut estimer que chaque année 580 000 tiques infectées sont importées dans ce pays (**Bjoersdorff et Bergstrom et al., 2001**). Par ailleurs, une étude réalisée en Camargue en 2004 a montré que la présence d'hirondelles à proximité des chevaux multipliait par plus de 5 le risque pour une écurie d'être positive vis-à-vis d'*Anaplasma phagocytophilum* (écurie avec au moins un cheval séropositif vis-à-vis d'*Anaplasma phagocytophilum*) (**Leblond, Pradier et al., 2005**).

3. Facteurs qui favorisent la transmission :

L'ehrlichiose bovine est une arborickettsiose transmise en Europe par *I. ricinus*, elle est ainsi présente lors des saisons favorables à la présence de tiques. Cependant tous les animaux en pâture dans ces régions infestées de tiques ne sont pas atteints.

La réceptivité des animaux varie en fonction de facteurs intrinsèques tel que leur âge et extrinsèques tel que leur statut immunitaire.

Les facteurs intrinsèques ne sont pas essentiels. L'ehrlichiose bovine concerne le bétail quel que soit son sexe et son état physiologique. Cependant les jeunes semblent posséder un certain degré de résistance (**Woldehiwet et Ristic, 1993**).

McEwen (1947) montre dès 1947 que l'ehrlichiose est une maladie bénigne chez le jeune. Il place environ 60 agneaux de moins de 5 jours avec leur mère, dans deux pâtures contaminées, pendant trois mois. Il suit alors la température des agneaux et réalise des frottis pour observer les inclusions d'*A. phagocytophilum* dans les granulocytes. Les signes cliniques remarqués chez les agneaux sont uniquement des phases d'hyperthermie de 4 à 5 jours. Ils semblent moins sensibles à l'ehrlichiose. Cependant les signes cliniques observés chez les adultes ne sont pas fournis. Or, dans certains cas diagnostiqués d'ehrlichiose chez l'adulte, l'hyperthermie est le seul signe clinique.

En 1992, **Stuen et al.**, comparent la température, les frottis et la prise de poids de deux lots d'agneaux âgés d'environ 2 et 6 semaines. Les signes cliniques sont plus graves chez les agneaux de 6 semaines. Les plus jeunes apparaissent plus résistants.

Pusterla et al (Pusterla et al.,1998) le démontrent également lors de leur étude sur les variations de la séroconversion vis à vis d'*A. phagocytophilum* chez les bovins au cours d'une année. Contrairement aux vaches et aux primipares, aucun signe clinique n'est observé chez les veaux lors de leur première saison de pâture sur des prés endémiques.

De plus, **McEwen (McEwen, 1947)** a observé des inclusions sur les frottis d'agneaux n'ayant pas eu de signes cliniques. Il suggère la mise en place d'une immunité colostrale. Cependant aucune étude mesurant les taux d'anticorps n'est connue.

Les jeunes bovins, génisses laitières de moins de 15 mois et allaitantes de moins de 21 mois semblent posséder un certain degré de résistance (**Joncour et Collin, 2003**).

Les facteurs extrinsèques sont bien plus importants. L'ehrlichiose peut s'exprimer de manière beaucoup plus marquée et même être, à elle seule, cause de mortalité chez des animaux vivant dans un environnement difficile et par conséquent stressant (froid, vent, humidité) (**Brodie et al., 1986**). Un épisode clinique d'ehrlichiose chez des moutons contaminés 6 mois auparavant, a été entraîné par une injection de corticoïdes (**Woldehiwet et Scott, 1982**). Les facteurs de stress et de baisse de l'immunité favorisent l'expression de l'ehrlichiose.

4. Importance économique et zoonotique :

L'impact économique de l'anaplasmose est très important dans les pays où cette maladie est endémique. Ainsi, au Etats-Unis, des pertes estimées à 300 millions de dollars par an sont engendrées par les conséquences de la maladie chez les animaux (mortalités, chutes de production, avortements, infertilité), mais aussi par le coût des traitements, de la prévention et de la limitation des mouvements d'animaux pour éviter l'extension de la maladie (**Kocan et al., 2003**).

Dans les régions où *A. phagocytophilum* est présent, la maladie se déclare rarement par des cas isolés (**Juste et al., 1989**), mais touche plutôt des troupeaux entiers. Malgré une morbidité importante, le diagnostic de groupe est compliqué par la non-contagiosité de la maladie. La transmission lente de la maladie provoque un étalement dans le temps de l'apparition des cas (**Argente et al., 1992 ; Joncour et al., 2000 ; Jones et Davies, 1995**).

Lorsque les conditions évoquées sont présentes, la suspicion épidémiologique de l'anaplasmose granulocytaire doit tenir compte de l'immunosuppression induite. La présence, au sein d'un troupeau, des différentes complications de l'anaplasmose granulocytaire, ou autrement dit,

Chapitre II : Epidémiologie

l'évolution aggravée de pathologies habituellement de bon pronostic doit faire penser à la présence d'un germe sous-jacent, *A. phagocytophilum* entre autres (**Christian, 2002**).

Chapitre 3 : L'anaplasmosse chez les ruminants

1. L'anaplasmosse bovine

Les épisodes d'anaplasmoses bovines sont principalement dus à *Anaplasma marginale*. *Anaplasma centrale* est capable de provoquer à des degrés modérés de l'anémie mais les épisodes cliniques sur le terrain sont extrêmement rares. **(Kreier et Ristic, 1963)**

Anaplasma marginale existe dans certains pays tropicaux et subtropicaux et dans certaines régions aux climats tempérés.

Anaplasma centrale a été elle décrit à l'origine, en Afrique du Sud. L'organisme a depuis été importé dans d'autres pays (incluant l'Australie, et certains pays d'Amérique du Sud, d'Asie du Sud Est et du centre est) pour l'utilisation comme vaccin contre *A. marginale*. **(Ristic et Kreier, 1984)**

1.1. Symptomatologie

A. marginale se multiplie dans les érythrocytes matures en provoquant une anémie hémolytique, une perte de poids, des avortements et parfois la mort **(De La Fuente et al., 2004, Lew et al., 2002)**.

La maladie peut s'exprimer sous deux formes : une forme aiguë et une forme bénigne.

La forme aiguë débute par une hyperthermie importante (40 à 41°C) pendant 24 à 48 heures **(Ganière, 2004)**. Pendant la phase d'état, la fièvre est moins élevée mais d'autres symptômes apparaissent : de l'anorexie, une rumination irrégulière voire arrêtée, une tachypnée **(Labrunie, 1986, Goureau, 1994)**, une chute de la production laitière et un amaigrissement rapide. La constipation est un signe quasiment constant **(Camus et Uilenberg, 2003 ; Labrunie, 1986)**.

De nombreuses femelles gravides avortent deux à trois semaines après le début des symptômes **(Labrunie, 1986)**.

Une anémie intense, due à la phagocytose et à la lyse des érythrocytes parasités est un signe d'appel (les érythrocytes infectés sont phagocytés par des cellules réticulo-épithéliales provoquant une anémie sévère à modérée et un ictère). Le nombre d'hématies peut chuter

Chapitre III : L'anaplasmose chez les ruminants

vertigineusement (jusqu'à 60 %). Des modifications érythrocytaires révélatrices de l'anémie sont associées : anisocytose, polychromatophilie, poïkilocytose, hématies nucléées, érythroblastes signant une hématopoïèse intense et la libération massive de formes jeunes (**Labrunie, 1986**), une leucocytose est présente. Il n'y a pas d'hémoglobinurie (**Kocan et al., 2003**). Un ictère est régulièrement observé en phase terminale de la maladie.

Sur le plan biochimique, une hyperbilirubinémie, d'autant plus accusée que la maladie est grave, est à noter. Elle peut atteindre 25 mg/L pour la bilirubine non conjuguée. L'urémie est également augmentée, elle est comprise entre 0,60 et 1,50 g/L. Bien qu'il n'y ait pas d'hémoglobinurie, une hyperalbuminurie nette est fréquente (**Labrunie, 1986**).

D'autres symptômes ont été observés : de l'oedème des membres postérieurs et une démarche. Chez un veau infecté expérimentalement *in utero*, **Pusterla et al. (1997b)** ont observé, en plus de difficultés respiratoires marquées, l'hypertrophie des nœuds lymphatiques pré scapulaires.

Des troubles nerveux peuvent apparaître (ataxie, parésie du train postérieur, agressivité) (**Labrunie, 1986, Ganière, 2004**). Le niveau de rickettsiémie excède les 109 érythrocytes infectés par millilitre de sang, il n'est donc pas étonnant de constater les symptômes cités précédemment (**Torioni De Echaide et al., 1998**).

Si la guérison survient, elle est très longue et l'animal devient la plupart du temps une non-valeur économique. Les animaux survivant développent une infection qualifiée de persistante et caractérisée par des niveaux de rickettsiémie faibles (**Lew et al., 2002**). Ils ne manifestent pas de symptômes cliniques de la maladie et sont des réservoirs pour le reste du troupeau (transmission biologique et mécanique par l'intermédiaire des tiques) (**De La Fuente et al., 2004 ; Goureau, 1994 ; Kocan et al., 2003**).

La sévérité de la maladie est variable. Dans certains cas, un traitement est requis pour l'arrêt des symptômes (**Argenté et al. 1992**). Dans d'autres cas, les signes cliniques disparaissent spontanément (**Brun-Hansen et al. 1996 ; Pusterla et Braun, 1997a**).

L'évolution est généralement fatale en quelques jours (**Labrunie, 1986**), le plus souvent pour des animaux de plus de deux ans (**Kocan et al., 2003**).

Pour la forme bénigne, une fièvre discrète durant deux à trois jours et une anémie modérée sont les seuls signes cliniques (**Sauger, 2005**). La rickettsiémie est de l'ordre de 102,5

Chapitre III : L'anaplasmosse chez les ruminants

à 107 érythrocytes infectés par millilitre de sang (**Torioni De Echaide et al., 1998**). Chez les ruminants sauvages, l'infection est toujours subclinique (**Sauger, 2005**).

Une inoculation expérimentale, chez des vaches en lactation et des vaches tarées gravides depuis 7 mois, toutes naïves vis-à-vis d'*A. phagocytophilum*, a été réalisée en **1997** (a) par **Pusterla et Braun** pour étudier la fièvre des pâtures chez les vaches adultes.

Les auteurs ont observé une hyperthermie chez toutes les vaches ainsi qu'une baisse de la production laitière (de 38% en moyenne) chez les 5 vaches en lactation, le développement de mammites (à coques Gram positifs) chez 2 animaux infectés, ainsi que la généralisation des troubles respiratoires. Tous les animaux présentaient en effet du jetage (dans neuf cas séromuqueux, dans un cas mucopurulent) et des bruits pulmonaires anormaux ; la majorité des animaux toussaient et leurs fréquences cardiaques et respiratoires étaient augmentées. Ces troubles respiratoires étaient plus marqués chez les vaches tarées. Au bout de deux semaines, les symptômes ont rétrogradé sans traitement.

Les troubles respiratoires observés pourraient avoir résulté d'une infection secondaire (**Pusterla et Braun, 1997a**) ou du moins avoir été aggravés par celle-ci. Ils ont déjà été relevés, sous une forme plus modérée, sur des cas confirmés d'infection naturelle de vaches laitières par *A. phagocytophilum* (**Argenté et al. 1992**). Les vaches gravides semblent plus sensibles que les autres à l'infection par *A. phagocytophilum*, probablement à cause de leur immunodépression physiologique ; toutefois dans l'étude de **Pusterla et Brau (1997a)** aucun avortement n'a été observé. Pourtant, une série d'avortements et de morts-nés d'allure épizootique due à la fièvre des pâtures a été relatée dans un troupeau bovin écossais (**Wilson et al. 1964**). Les fœtus ou les mort-nés dataient de 8 à 9 mois de gestation. Les mères n'avaient pas été exposées à *A. phagocytophilum* auparavant. Dans ce même troupeau, deux cas de morts subites chez les adultes ont été observés, mais le diagnostic de fièvre des pâtures n'a pas pu être établi pour ces deux cas.

La sévérité de la maladie est variable. Dans certains cas, un traitement est requis pour l'arrêt des symptômes (**Argenté et al. 1992**). Dans d'autres cas, les signes cliniques disparaissent spontanément (**Brun-Hansen et al. 1996 ; Pusterla et Braun, 1997a**). La durée de la période fébrile varie également selon les études (**Brun-Hansen et al. 1996**).

Ces différences pourraient s'expliquer par l'existence de variants cliniques d'*A. phagocytophilum* qui différeraient dans l'intensité de leur virulence (**Brun-Hansen et al. 1996**).

1.2. Epidémiologie

1.2.1. Répartition géographique

La maladie montre une répartition dans toute l'Europe mais elle n'est, a priori, présente que dans les zones tempérées, les zones d'altitude en étant dépourvues.

Au niveau local, les pâtures les plus susceptibles d'accueillir *Ixodes ricinus* sont celles bordées de bois. L'évolution de la maladie nécessite le pâturage des animaux et l'activité de la tique, et connaît donc deux pics, au printemps et en automne, des cas pouvant également être rencontrés au cours de l'été.

Les différentes études, portant sur les épisodes d'anaplasmose granulocytaire au sein de troupeaux, montrent que les véritables endémies ont lieu lorsque des animaux qui n'ont jamais pâture sur des parcelles infestées par les tiques y sont introduits pour la première fois.

Au sein d'une exploitation, les mouvements d'animaux sortant, aussi bien que les achats d'animaux ou que l'achat de nouvelles parcelles, peuvent permettre l'infection d'animaux naïfs particulièrement sensibles à la maladie.

1.2.2. Transmission

Ixodes ricinus est le vecteur de plusieurs pathogènes pour les ruminants, en particulier *S. aureus*, chez les ovins (**Woldehiwet et Ristic, 1993**), et d'*Anaplasma phagocytophilum* chez les bovins (**Brun-Hansen et al., 1997 ; Purnell et al., 1977**). Ces deux germes provoquent des maladies au tableau clinique évocateur et mettent en évidence l'activité d'*Ixodes ricinus* dans l'environnement des animaux atteints. Les tiques peuvent être, de surcroît, porteuses de ces germes au même moment. La présence de cas de pyohémie à tiques ou d'anaplasmose bovine est donc des indices permettant de suspecter la présence d'*A. phagocytophilum*.

1.2.3. Animaux atteints

Dans les régions où *A. phagocytophilum* est présent, la maladie se déclare rarement par des cas isolés (**Stuen et Bergstrom, 2001 b**), mais touche plutôt des troupeaux entiers de bovins. Malgré une morbidité importante, le diagnostic de groupe est compliqué par la non-contagiosité de la maladie. La transmission lente de la maladie provoque un étalement dans le temps de l'apparition des cas.

Lorsque les conditions évoquées sont présentes, la suspicion épidémiologique d'anaplasmose granulocytaire doit tenir compte de l'immunosuppression induite. La présence,

au sein d'un troupeau, des différentes complications de l'anaplasmose granulocytaire, ou autrement dit, l'évolution aggravée de pathologies habituellement de bon pronostic doit faire penser à la présence d'un germe sous-jacent, *A. phagocytophilum* entre autres.

2. L'anaplasmose chez les petits ruminants

2.1. L'anaplasmose à *Anaplasma Ovis*

La bactérie se multiplie au rythme d'un doublement du nombre d'érythrocytes infectés, toutes les 24 à 48 heures. Ainsi, il faudra 2 à 6 semaines avant que la maladie n'apparaisse, sur le plan clinique (**Radostits, 2000**), le taux de globules rouges infectés étant alors supérieur à 15%. Cependant, chez la plupart des animaux, ce taux n'est jamais atteint et la maladie reste silencieuse.

Les hématies parasitées sont par la suite phagocytées, ce qui entraîne leur destruction et la libération de molécules inflammatoires. L'anémie et la fièvre en sont les principales conséquences (**Radostits, 2000**).

2.1.1. Symptomatologie

L'anaplasmose ovine est, dans la plupart des cas, une infection subclinique. Son impact économique, relativement faible, est lié à une réduction du gain de poids quotidien par rapport à des animaux non infectés (**Kimberling., 1988**).

Par ailleurs, en dehors de la sensibilité individuelle, plusieurs facteurs peuvent favoriser l'apparition d'un épisode clinique d'anaplasmose, comme par exemple une maladie intercurrente ou un stress important (**Kimberling., 1988**).

La bactérie se multiplie au rythme d'un doublement du nombre d'érythrocytes infectés, toutes les 24 à 48 heures. Ainsi, il faudra 2 à 6 semaines avant que la maladie n'apparaisse, sur le plan clinique (**Radostits, 2000**), le taux de globules rouges infectés étant alors supérieur à 15%. Cependant, chez la plupart des animaux, ce taux n'est jamais atteint et la maladie reste silencieuse. Les hématies parasitées sont par la suite phagocytées, ce qui entraîne leur destruction et la libération de molécules inflammatoires. L'anémie et la fièvre en sont les principales conséquences (**Radostits, 2000**).

Cet épisode, qui dure de 1 à 2 semaines, est le plus souvent caractérisé par une hyperthermie modérée (autour de 40°C), de l'anorexie, de l'anémie (d'où des muqueuses pâles)

et parfois même de l'ictère, des modifications de consistance fécale (constipation suivie de diarrhée), une importante fatigabilité à l'effort, ainsi que des fréquences cardiaque et respiratoire augmentées (**Friedhoff, 1997 ; Martin et Aitken, 2000**). La rémission de l'anémie peut durer jusqu'à 3 à 4 mois.

L'anaplasmose peut être à l'origine de troubles de la reproduction chez les béliers. Ces troubles seraient dus à une dégradation de la fonction testiculaire qui commencerait 7 à 8 semaines après l'infection par *Anaplasma ovis* (**Kumi-Diaka et al., 1988**). Ces troubles du sperme seraient dus à l'hyperthermie associée à une hypoxie des tissus (les fonctions gonadiques des mammifères mâles sont sensibles à des augmentations de température). Suite à un traitement adéquat, près de 5 mois ont été nécessaires avant de retrouver la qualité du sperme antérieure à l'infection.

L'anaplasmose ne semble pas avoir de conséquences sur la reproduction des brebis. Ainsi, contrairement aux Bovins, cette maladie ne serait pas responsable d'avortements (sauf cas de mort du fœtus in utero).

2.1.2. Epidémiologie

2.1.2.1. Répartition géographique

Sous les climats tempérés, l'anaplasmose se déclare essentiellement sous la forme de cas sporadiques. Des cas récents ont été décrits en Europe Occidentale (**Radostits, 2000**). *A. ovis* est très présent en milieu tropical où le climat est fortement favorable à ses vecteurs et où l'incidence de la maladie peut être élevée (**Radostits, 2000**).

2.1.2.2. 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 tels que des tiques ou encore des mouches piqueuses comme les Tabanidés, la transmission iatrogène est également possible.

Chez les tiques, *A. ovis* peut être transmis 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 sanguin.

La transmission verticale intrautérine 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**). Les fœtus ainsi infectés sont capables de

transmettre la maladie à des agneaux splénectomisés (seuls capables d'exprimer la maladie suite à une faible exposition à *A. ovis*). Ces fœtus peuvent également s'anémier, et dans certains cas mourir in utero (**Friedhoff, 1997**).

2.1.2.3. Animaux atteints

A. ovis peut infecter les Ovins et les Caprins. Les Caprins sont plus sensibles et expriment fréquemment des symptômes, ce qui n'est observé chez les Ovins que sous certaines conditions (de stress ou d'immunodépression). Sans ces conditions, l'infection reste subclinique.

Comme chez les Bovins, les adultes sont plus sensibles à la maladie que les jeunes (**Radostits, 2000**). Un animal infecté est immunisé contre de nouvelles infections car il reste porteur à vie (**Radostits, 2000**), mais il sera également une source potentielle d'infection pour les autres animaux.

A notre connaissance, aucune espèce de ruminant sauvage d'Europe n'a été décrite comme réservoir possible pour *A. ovis*.

2.2. Ehrlichiose à *Anaplasma phagocytophilum*

2.2.1. Symptomatologie

La présence de la bactérie dans le sang circulant est responsable d'une hyperthermie élevée, symptôme principal lors de reproduction expérimentale de l'affection. Cette fièvre a d'ailleurs donné le nom anglais de la maladie, tick-borne fever (TBF), ou "fièvre transmise par les tiques". Cette maladie peut prendre différentes formes selon le type d'individu atteint.

Chez les ovins non gravides et non immunisés, suite à une primo-exposition naturelle aux tiques, la maladie se déclare généralement après 4 à 8 jours sous la forme d'un syndrome fébrile avec un pic d'intensité en tout début d'évolution clinique.

Le symptôme essentiel est une forte hyperthermie pouvant dépasser les 41°C et persistant une à deux semaines (**Radostits, 2000**). Dans cette phase, on peut également observer une baisse importante de l'appétit et de la production laitière, avec des animaux généralement apathiques, et une fréquence cardiaque et respiratoire élevées (**Martin et Aitken, 2000**). Une toux (**Martin et Aitken, 2000**), des tremblements et une légère diarrhée ont également été décrits (**Gokce et Woldehiwet, 1999**).

Chapitre III : L'anaplasmosse chez les ruminants

L'infection peut également se présenter sous une forme subclinique. Chez des agneaux pâturant sur une parcelle où aucun cas clinique de la maladie n'avait été détecté jusqu'alors, 60% d'entre eux ont été infectés par *A. phagocytophilum*. L'infection s'est soldée par une réduction du gain de poids moyen de 3,8 kg sur 4 mois environ (**Stuen et al., 2002**). Certains cas mortels sont dus à l'effet délétère d'*A. phagocytophilum* sur le système immunitaire de son hôte.

Chez les jeunes agneaux, la pyohémie à staphylocoque est une complication fréquente de l'ehrlichiose, responsable de polyarthrites. Les complications respiratoires sont également possibles (**Martin et Aitken, 2000**). L'ehrlichiose à *A. phagocytophilum* peut rendre les béliers temporairement infertiles (**Radostits, 2000**). Les raisons de cette infertilité pourraient être les mêmes que celles vues précédemment pour l'infection par *Anaplasma ovis*.

Chez les ovins gravides non immunisés, l'infection par *A. phagocytophilum* conduit fréquemment à un avortement et la létalité chez ces individus peut parfois être élevée (**Martin et Aitken, 2000**). Rappelons qu'une forte fièvre peut être à l'origine d'avortements.

Ainsi, en Espagne, depuis sa première description (**Juste et al., 1986**), *A. phagocytophilum* a été associé à des avortements dans certaines zones montagneuses du Pays Basque (**Garcia-Perez et al., 2003**). Sur 206 cas d'avortement dans 86 exploitations différentes, *A. phagocytophilum* a été détecté, par la lecture d'étalements sanguins, dans 16% de ces exploitations.

Le principal facteur de risque associé a été l'arrivée de femelles gravides non immunisées sur des pâtures infestées d'*I. ricinus*. L'agent pathogène était dans 25% des cas associé à un autre agent abortif, ce qui tend à confirmer l'action immunosuppressive d'*A. phagocytophilum* (**Garcia-Perez et al., 2003**).

Chez les animaux ayant déjà été infectés par *A. phagocytophilum* et par conséquent immunisés, en cas de réinfection, on pourra parfois observer de la fièvre ainsi que des signes cliniques atténués, malgré l'immunisation et le portage à vie (**Brodie et al., 1988**). Les avortements chez ces animaux restent extrêmement rares.

2.2.2. Epidémiologie

2.2.2.1. Répartition géographique

L'Ehrlichiose ovine à *A. phagocytophilum* a été répertoriée au Royaume-Uni, en Irlande, en Scandinavie, en Suisse, en Italie, et plus récemment en Espagne, notamment dans le Pays Basque espagnol (Juste et al., 1986, Radostits, 2000).

Il est vraisemblable que la zone de répartition est plus large que les pays dans lesquels elle a été répertoriée. Cet agent pathogène n'a jamais été identifié sur des ovins en France.

2.2.2.2. Transmission

Comme pour *A. ovis*, *A. phagocytophilum* ne peut être transmise que par l'intermédiaire d'un vecteur, mais dans ce cas, seules les tiques de l'espèce *Ixodes ricinus* semblent capables de transmettre la bactérie (Radostits, 2000).

La saisonnalité de la maladie coïncide avec la période d'activité de ce vecteur. Dans nos régions, les deux pics d'activité sont au printemps—début d'été, et en automne.

Comme pour l'anaplasmosse, il peut y avoir une transmission entre les stades de développement d'*I. ricinus*, mais pas d'une génération à l'autre. Une tique donnée doit donc préalablement s'infecter sur un animal hôte porteur pour être contaminant. Un très petit nombre de tiques suffisent à l'infection des Ovins. Cependant, plus les tiques sont nombreuses à se nourrir sur un même individu, plus la transmission d'*A. phagocytophilum* depuis l'animal infecté vers les tiques est efficace (Ogden et al., 2003). Ce phénomène est dû à la salive des tiques qui provoque un afflux de granulocytes neutrophiles (principales cellules hôtes de la bactérie) au niveau de la peau.

2.2.2.3. Animaux atteints

Les Ovins, les Bovins, les Cerfs, ainsi que les Chevaux et les Chiens peuvent être atteints. Certains d'entre eux, notamment les espèces sauvages, sont considérés comme un cul-de-sac épidémiologique pour *A. phagocytophilum*.

Les Ovins sont réceptifs quel que soit leur âge (Radostits, 2000), mais les jeunes le sont davantage. L'immunité maternelle passive transmise à l'agneau est insuffisante pour le protéger totalement de l'infection, bien qu'elle permette de diminuer l'intensité de la maladie (Stuen et Bergstrom, 2001) jusqu'à l'âge de 2 semaines. Après la disparition de cette immunité, les

Chapitre III : L'anaplasmose chez les ruminants

agneaux sont plus sensibles à l'infection, d'où une atteinte plus sévère (**Stuen, 1993**). Cependant, au-delà de la période couverte par l'immunité passive, plus ils sont âgés, moins ils sont sensibles à l'infection (**Brodie et al., 1988**).

Le principal facteur de risque est le mouvement d'animaux de zones saines vers des zones d'enzootie. Un animal infecté reste porteur à vie, et le cycle d'*I. ricinus* dure trois ans, ce qui participe à la pérennisation du cycle infectieux (**Radostits, 2000**).

Dans les zones d'enzootie, l'atteinte est généralement peu sévère, mais l'infection peut être à l'origine d'avortements et de perte importante de poids chez les agneaux. Les cas mortels sont peu nombreux (bien que plus élevés que chez les Bovins), et le plus souvent associés à une maladie intercurrente (**Radostits, 2000**). Une létalité directe élevée est néanmoins possible, qui serait expliquée par la différence de virulence entre les variants d'*A. phagocytophilum* (**Stuen et al., 2002b**).

Chapitre 4 : Diagnostic, Traitement et Prophylaxie

1. Diagnostic

Le diagnostic est d'une part épidémiologique. Il associe la saison (printemps, automne), une zone d'enzootie connue, des cas de piroplasmose avérés dans le troupeau.

Le diagnostic est d'autre part clinique. L'association hyperthermie (forte pour la forme aiguë), anémie (intense pour la forme aiguë), amaigrissement, constipation, ictère doivent orienter le diagnostic vers une anaplasmose (**Ganière, 2004 ; Labrunie, 1986 ; Sauger, 2005**).

Vient ensuite le diagnostic de laboratoire qui est déterminant pour la confirmation de la maladie.

1.1. Diagnostic épidémiologique

Le diagnostic épidémiologique est essentiel, car le tableau clinique de la maladie est très frustré. En revanche, l'épidémiologie est directement liée à la niche écologique et à l'activité de la tique *Ixodes ricinus*. C'est, avant tout, elle qui permet le diagnostic de suspicion.

L'évolution de la maladie nécessite le pâturage des animaux et l'activité de la tique, et connaît donc deux pics, au printemps et en automne, des cas pouvant également être rencontrés au cours de l'été.

Dans les régions où *A. phagocytophilum* est présent, la maladie se déclare rarement par des cas isolés (**Juste et al., 1989**), mais touche plutôt des troupeaux entiers. Malgré une morbidité importante, le diagnostic de groupe est compliqué par la non-contagiosité de la maladie. La transmission lente de la maladie provoque un étalement dans le temps de l'apparition des cas.

Lorsque les conditions évoquées sont présentes, la suspicion épidémiologique d'anaplasmose granulocytaire doit tenir compte de l'immunosuppression induite. La présence, au sein d'un troupeau, des différentes complications de l'anaplasmose granulocytaire, ou autrement dit, l'évolution aggravée de pathologies habituellement de bon pronostic doit faire penser à la présence d'un germe sous-jacent, *A. phagocytophilum* entre autres.

1.2. Diagnostic clinique

Le diagnostic clinique de l'anaplasmose granulocytaire est rendu difficile par un tableau peu évocateur. Malgré l'appellation de « maladie des gros paturons », ce signe est rarement présent et aucun autre signe n'est pathognomonique.

Le diagnostic de certitude de l'anaplasmose granulocytaire ne s'effectuera donc qu'au laboratoire. Les signes cliniques de suspicion ne peuvent être évocateurs qu'en zone d'endémie.

En phase aiguë, le principal signe d'alerte est la forte hyperthermie, toujours présente et accompagnée d'abattement et d'anorexie. Chez les femelles laitières, la baisse de production est souvent présente, rapide et marquée.

Les signes respiratoires : la toux sèche, la dyspnée, peuvent être discrets mais sont souvent décrits. Ces signes respiratoires prennent de l'importance au niveau du troupeau car ils peuvent apparaître au fur et à mesure des cas et donc étalés dans le temps, à la différence d'une enzootie de bronchopneumonies.

En phase chronique la maladie revêt un intérêt dans le diagnostic clinique par deux aspects. En premier lieu, la récupération des animaux, après l'épisode aigu de la maladie, peut être longue. Secondement, l'anaplasmose granulocytaire peut être suivie des différentes complications déjà évoquées. Le diagnostic envisagera une anaplasmose granulocytaire lorsque des animaux, ayant connus la phase aiguë, ne retrouveront de l'appétit, un dynamisme et une production laitière qu'après une période anormalement longue, le traitement mis en place au départ de l'atteinte ne donnant pas le résultat attendu.

L'apparition, dans le troupeau, des complications de l'anaplasmose granulocytaire doit aussi orienter le diagnostic. Les avortements enzootiques, en particulier chez les petits ruminants, ainsi que les atteintes respiratoires graves, mettent en évidence le rôle immunodépresseur d'*Anaplasma phagocytophilum*.

1.2.1. Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic de laboratoire consiste en l'étude des prélèvements sanguins et comporte deux aspects : d'une part, l'étude de la numération et de la formule sanguine, d'autre part, la recherche du parasite, ou des anticorps produits. On notera, en marge, l'apport de la biochimie.

Il existe classiquement en laboratoire trois « familles » de tests réalisables pour la Recherche d'une maladie :

Chapitre IV : Diagnostic, Traitement et Prophylaxie

D'une part, on considère les tests de bactérioscopie (coloration de frottis, immunofluorescence directe), comme des tests de certitude, puisqu'ils mettent en évidence le germe lui-même.

Ensuite, vient la sérologie (fixation du complément, immunofluorescence indirecte), qui n'est considérée que comme un test de présomption, puisqu'elle ne détecte que la réaction de l'organisme cible.

Viennent enfin, les tests d'orientation constitués en particulier par les tests allergologiques, qui ne nous concernent pas pour l'étude d'*Anaplasma phagocytophilum*.

1.2.1.1. Numération et formule sanguine

Le comptage des cellules sanguines n'oriente pas vers un diagnostic de certitude, il a été décrit, néanmoins, que les modifications des populations cellulaires pouvaient être importante. La difficulté pour le diagnostic provient de la variation de ces effets dans le temps.

L'anaplasmose granulocytaire se caractérise par une sévère leucopénie, coïncidant avec le pic d'hyperthermie (**Woldehiwet, 1983**), mais la chute de la numération des globules blancs ne correspond pas à une formule stable. La chute transitoire des éosinophiles et des lymphocytes est, en effet, relayée en quelques jours par une neutropénie durable. La baisse des érythrocytes, ainsi que de l'hématocrite et des plaquettes prend une importance variable selon les auteurs.

L'étude de la composition sanguine ne présente un véritable intérêt diagnostique que dans la pathologie de groupe où des numérations leucocytaires anormalement basses, se manifestant avant tout par une neutropénie, peuvent aider.

1.2.1.2. Identification de l'agent pathogène ou bactérioscopie

Le diagnostic microscopique par mise en évidence des corps d'inclusion est difficile. Au moment où les signes cliniques sont les plus marqués, la plupart des érythrocytes infectés ont disparu de la circulation sanguine. La détection des inclusions ne peut se faire qu'à partir de 10⁶ érythrocytes infectés par millilitre de sang (**Torioni De Echaide et al., 1998**).

La recherche doit être effectuée dans les quinze premiers jours de la maladie (**Ganière, 2002 et 2004**). Les Anaplasmes sont colorés en bleu alors que les hématies sont roses. (**Labrunie, 1986**). Les inclusions ne doivent pas être confondues avec Babesia, *A. ovis* ou des corps de Howell-Jolly (**Labrunie, 1986, Sauger, 2005**).

Chapitre IV : Diagnostic, Traitement et Prophylaxie

Les échantillons à partir de bovins vivants sont des étalements de sang à partir de sang collecté sur anti-coagulant. Les étalements séchés à l'air libre peuvent être conservés correctement à température ambiante pendant au moins 1 semaine. L'échantillon de sang sur anti-coagulant doit être maintenu et transféré à 4°C, jusqu'à ce qu'il arrive au laboratoire en quelques heures. Cet échantillon est utile pour préparer des étalements frais si ceux qui sont fournis ne sont pas satisfaisants. Par ailleurs, un volume faible de cellules ou d'érythrocytes peut aider à impliquer *Anaplasma* quand seulement un petit nombre de parasites sont détectés dans les étalements, comme c'est souvent le cas dans la phase de rémission de la maladie.

Contrairement à *Babesia bovis*, *Anaplasma* ne s'accumule pas dans les capillaires, aussi du sang provenant de la jugulaire ou d'autres gros vaisseaux est nécessaire. Du fait de la difficulté à distinguer la morphologie d'*Anaplasma*, il est essentiel que les étalements soient bien préparés, exempts de matière étrangère comme des débris qui peuvent désorienter le diagnostic. Les étalements épais utilisés pour le diagnostic de la babésiose ne sont pas adaptés pour le diagnostic de l'anaplasmose car *Anaplasma* est difficile à identifier quand il se dissocie des érythrocytes.

Les échantillons d'animaux morts peuvent être : des étalements fins (séchés à l'air) de foie, de rein, de cœur, de poumons et à partir de sang veineux périphérique. Ce dernier est particulièrement recommandé s'il doit y avoir un délai avant l'examen post mortem. Dans ces circonstances, les contaminations bactériennes des étalements d'organes font que l'identification d'*Anaplasma* devient équivoque. Les étalements de cerveaux qui sont utiles pour le diagnostic de certaines formes de babésioses ne sont pas utilisés pour le diagnostic de l'anaplasmose (**Johnston et al., 1980**) mais peuvent être inclus pour un diagnostic différentiel quand c'est approprié.

Le sang d'organes, plutôt que les tissus d'organes, est requis pour la préparation des étalements, le but étant de pouvoir examiner des érythrocytes intacts pour évaluer la présence d'*Anaplasma*. Les étalements de sang à partir d'organes pourront être conservés à température ambiante pendant plusieurs jours (**Johnston et al., 1980**).

Les étalements de sang ou à partir d'organes sont fixés dans du méthanol absolu pendant 1 min et colorés au colorant de Giemsa à 10 % pendant 30 min. Après coloration, les étalements sont rincés 3 ou 4 fois à l'eau du robinet pour enlever le surplus de colorant et sont ensuite séchés à l'air libre. Les étalements sont examinés sous huile à immersion à un grossissement de x700 à x1 000.

Chapitre IV : Diagnostic, Traitement et Prophylaxie

Dans les étalements colorés au Giemsa, *A. marginale* apparaît dense, rond et fortement coloré dans les corps intra-érythrocytaires d'un diamètre d'environ 0,3 à 1,0 μm . La plupart de ces corps sont localisés sur ou proche du bord des érythrocytes. Cette caractéristique permet de distinguer *A. marginale* de *A. centrale*, puisque cette dernière a une localisation centrale dans l'érythrocyte. Des colorants commerciaux permettant une coloration rapide d'*Anaplasma* sont disponibles dans certains pays.

Le pourcentage d'érythrocytes infectés varie avec le stade et la sévérité de la maladie. Un maximum de parasitémie de 50 % peut se produire avec *A. marginale*. Des infections multiples d'érythrocytes individuels sont communes pendant la période où la parasitémie est la plus élevée.

Les auteurs observent entre 200 (Ogden *et al.*, 2003) et 500 (Pusterla *et al.*, 1997c) granulocytes neutrophiles par frottis pour assurer la sensibilité de la technique. *A. phagocytophilum* y apparaît sous forme d'inclusions rondes intra cytoplasmiques : ce sont la micro colonies bactériennes, surnommées « morulae ».

Le pourcentage de neutrophiles infectés varie selon les études : on reporte des maxima observés de 8% (Wilson *et al.*, 1964) à 68% (Brun-Hansen *et al.*, 1996) chez les bovins et de 27% (Wilson *et al.*, 1964) à 92% (Foggie et Allison, 1960) chez les ovins. Ces différences entre les études s'expliquent par des variations du taux d'infection des granulocytes neutrophiles au cours de l'infection (Stuen *et al.*, 1998b). Toutefois, il ne semble pas exister de relation entre l'intensité de la fièvre et le nombre de morulae observées dans le sang au même moment (Littlejohn, 1950). Les variations pourraient éventuellement découler de particularités des variants bactériens (Wilson *et al.*, 1964).

L'infection devient visible au microscope entre 2 et 6 semaines suivant la transmission. Pendant la phase clinique, la parasitémie double approximativement chaque jour jusqu'à environ 10 jours et ensuite diminue à un taux similaire. Une anémie assez sévère peut persister pendant quelques semaines après que les parasites soient devenus virtuellement indétectables dans les étalements sanguins. Après avoir récupéré de l'infection initiale, la plupart des bovins restent infectés de manière latente pour la vie.

Le gros avantage de cette méthode est son faible coût et sa simplicité de mise en œuvre, son inconvénient est qu'elle n'identifie pas avec certitude une espèce d'*Anaplasma*.

Chapitre IV : Diagnostic, Traitement et Prophylaxie

Avec la sérologie, l'examen du frottis sanguin reste la méthode de laboratoire utilisable en routine pour le diagnostic de l'anaplasmose granulocytaire des ruminants. De plus, la présence des morulas d'*Anaplasma* dans les leucocytes se prolongeant au-delà de deux semaines, cet examen peut être réalisé après la phase aiguë de la maladie.

1.2.1.3. La sérologie

La détection des anticorps spécifiques fait depuis longtemps l'objet de controverses. Les techniques mises en œuvre sont accusées par certains auteurs de manque de sensibilité et de spécificité.

Historiquement, trois techniques de détection des anticorps furent proposées : la fixation du complément (**Snodgrass et Ramachandran, 1971**), la contre-immunoelectrophorèse (**Webster et Mitchell, 1988**) et enfin l'immunofluorescence indirecte (**Paxton et Scott, 1989**).

Les différentes techniques de détection aujourd'hui employées sont dérivées de l'immunofluorescence indirecte.

La présence des anticorps spécifiques dans le sérum est rapportée à partir du 9ème jour après l'inoculation et persiste pendant plusieurs semaines (**Webster et Mitchell, 1988**). Cet aspect de la réaction immunitaire présente avantages et inconvénients. La lenteur d'apparition des anticorps ne donne pas d'intérêt diagnostique à la sérologie lors de l'étude clinique individuelle car l'épisode aigu de la maladie est passé avant la séroconversion. En revanche, la sérologie revêt un grand intérêt lors du diagnostic de groupe pour évaluer la prévalence de la maladie (**Joncour et al., 2000**).

Les différentes techniques immunologiques ont, en outre, permis l'étude du portage chronique de la maladie après une première infestation (**Webster et Mitchell, 1988**), ainsi que la mise en place de l'immunité et donc la résistance en cas de réinfestation.

1.2.1.3.1. La fixation du complément

Présentée par **Snodgrass et Ramachandran en 1971**, mais utilisant une mauvaise source d'antigènes, elle fût décrite ensuite par **Woldehiwet et Scott en 1982** et présente un intérêt dans l'étude du portage chronique car elle permet la visualisation du taux d'IgM et d'IgG sériques.

On obtient par cette méthode des résultats positifs en anticorps à des taux très bas et durant une longue période permettant d'évaluer le statut immunitaire de l'animal bien après l'épisode clinique, ceci restant applicable au mouton.

Chapitre IV : Diagnostic, Traitement et Prophylaxie

Des manuels détaillés pour la réalisation des techniques standards (**USDA, 1958**) et de microtechniques (**USDA, 1974**) pour le test de fixation du complément pour la détection de l'anaplasmoses ont été produits. Alors que cette épreuve par l'une ou l'autre des techniques a été utilisée pendant des années, des données récentes confirment qu'elle manque de spécificité et ne permet pas de détecter des proportions suffisantes de bovins porteurs

1.2.1.3.2. Immunofluorescence indirecte

L'immunofluorescence indirecte (IFI) permet de visualiser les anticorps marqueurs ; ils sont présents entre 21 et 120 jours après la primo-infection (**Joncour, 2003**). Elle constitue un bon outil pour les études épidémiologiques des populations, en permettant d'identifier les animaux qui ont été atteints et dont on n'a pas détecté la phase aiguë de la maladie.

La prévalence, évaluée dans un foyer par cette technique, est bien plus élevée que celle des cas cliniques – parfois inapparents –. L'interprétation des résultats d'une seule sérologie est délicate et doit amener à des conclusions prudentes (**Joncour et al., 2006**). En effet, le sérum d'un animal, prélevé dans les 15 jours suivant un cas clinique aigu, présente un résultat négatif, alors qu'il se révèle positif lorsqu'il est prélevé plus de trois semaines après cet épisode : la séroconversion signe avec certitude l'affection.

Du fait du nombre limité d'épreuves d'immunofluorescence indirecte (IFI) qui peuvent être réalisées chaque jour par un opérateur, d'autres épreuves sérologiques sont généralement préférées aux épreuves IFI.

1.2.1.3.3. Amplification en chaîne par polymérase PCR

La technique d'amplification par PCR (trousse de réactifs Adia-gène), appliquée à la fraction leucocytaire (*buffy coat*) du prélèvement sanguin sur EDTA ou à des leucocytes spléniques, permet d'identifier l'ADN de l'agent pathogène, qu'il soit actif ou non (**Sparagano**), avec une sensibilité de 91 % et une parfaite spécificité de 100% (**Joncour, 2003**).

La technique de détection par PCR est très sensible. Les porteurs chroniques peuvent ainsi être détectés grâce à cette méthode (**Ganière, 2004**). En revanche, les techniques d'hybridation ne sont pas concluantes : elles ne permettent pas de différencier les deux espèces. (**Lew et al., 2003**).

En Australie, Lew et son équipe ont remarqué que le gène MSP1 α est génétiquement stable durant la phase aiguë et lors de l'infection persistante pour une souche unique, tout

comme après s'être développé au sein de la tique. Il n'est pas non plus modifié lors de culture in vitro. Il est intéressant car il contient un nombre différent de tandems (28 ou 29 acides aminés répétés une à huit fois) en fonction des souches (**Kocan et al., 2003**). Il pourrait ainsi permettre de différencier plusieurs souches au sein d'un même échantillon. Cette investigation invite donc à l'utilisation de la PCR pour identifier la souche d'*A. marginale* lors de sa recherche chez un animal, elle permet également de différencier un animal vacciné (avec *A. centrale*) d'un animal infecté, ce que ne permettent pas les tests sérologiques classiques tels que la technique ELISA ou l'IFI (**Lew et al., 2002**).

1.2.1.3.4. Méthode immuno-enzymatique

1.2.1.3.4.1 Méthode immuno-enzymatique indirect

Un test ELISA indirect (i-ELISA) basée sur l'utilisation d'un antigène de globule rouge sanguin normal (antigène négatif) et d'un antigène provenant de globules rouges sanguins infectés par *A. marginale* (antigène positif) s'est révélée fiable pour détecter des sérums infectés par *A. Marginale* (**Duzgun et al., 1988**).

Bien que plus lourde que les épreuves utilisant un seul antigène, cette épreuve permet d'éliminer les sérums qui ont de hauts niveaux d'activité non spécifique du fait de la présence d'iso-anticorps contre les composants des globules rouges.

L'épreuve a identifié correctement tous les 100 sérums connus pour être positifs et collectés à partir de bovins, jusqu'à 3 ans après l'infection, alors que 3 % des sérums négatifs, 2 % de sérums anti-*Babesia bovis* et 4 % anti-*B. bigemina* ont donné des faux positifs.

1.2.1.3.4.2. Méthode immuno-enzymatique par dépôt

Comparé à l'ELISA indirect, la méthode immuno-enzymatique par dépôt (ELISA dot) a l'avantage d'être rapide, peu coûteuse et simple à réaliser. La méthode d'ELISA dot a une sensibilité de 93 % et une spécificité de 96 % (**Montenegro et al., 1990**).

1.2.1.3.5. Épreuve d'agglutination sur carte

Les avantages de l'épreuve d'agglutination sur carte (CAT) sont la sensibilité aussi bien en laboratoire que sur le terrain et la rapidité : cette épreuve donne un résultat en quelques minutes. Les réactions non spécifiques peuvent poser problèmes. L'antigène CAT est une suspension de particules de *A. marginale*. Des veaux splénectomisés sont infectés par voie intraveineuse avec du sang contenant des érythrocytes infectés par *Anaplasma*. Quand la

parasitémie excède 50 %, les animaux sont saignés, les érythrocytes infectés sont lavés, lysés et les fantômes des érythrocytes ainsi que les particules d'*Anaplasma* sont culottés. Les culots sont soumis à un traitement aux ultra-sons, lavés et resuspendus dans une solution colorante pour produire la suspension d'antigène.

1.3. Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel de l'anaplasmose granulocytaire prend en compte les autres maladies transmises par les tiques et les maladies « pseudogrippales ». *A. phagocytophilum* pouvant être considéré comme un germe sous-jacent, la difficulté est de suspecter sa présence lors de complications par les germes classiques.

Le diagnostic différentiel peut se faire au niveau épidémiologique, clinique ou en laboratoire.

1.3.1. Maladies transmises par les tiques

Lorsque l'épidémiologie permet d'envisager une affection due aux tiques, l'anaplasmose granulocytaire est à différencier de la piroplasmose et de la borréliose, toutes deux transmises par *I. ricinus*. Ces deux maladies peuvent se rapprocher de l'anaplasmose granulocytaire dans leurs Manifestations sub-cliniques, en tout cas atténuées.

La piroplasmose à *B. divergens* provoque, lors d'atteinte aiguë, un syndrome beaucoup plus violent que l'anaplasmose granulocytaire avec une mortalité très élevée. L'hémoglobinurie n'existe pas lors d'anaplasmose granulocytaire, la piroplasmose ne touche que les bovins sous nos latitudes.

La borréliose de Lyme à *Borrelia burgdorferi* montre une prévalence beaucoup plus faible que la piroplasmose dans nos régions. Elle peut se manifester par un syndrome proche de l'anaplasmose granulocytaire et présente souvent des complications proches de celles de l'anaplasmose granulocytaire. La borréliose peut être suivie par des encéphalites, polyarthrites, pneumonie interstitielle et des avortements.

L'examen microscopique du sang permet de mettre en évidence *Babesia divergens* alors que la sérologie est le meilleur moyen de détecter *Borrelia burgdorferi* (**Radostits, Blood et Gay, 1994**).

Chapitre IV : Diagnostic, Traitement et Prophylaxie

1.3.2. Affections respiratoires et avortements

On peut opposer la présence dans un élevage d'affections respiratoires primitives ou d'avortements à leur présence comme complications de l'anaplasmose granulocytaire.

Le tableau suivant résume le diagnostic différentiel des principaux symptômes observés lors d'anaplasmose granulocytaire chez les ruminants, Entre parenthèses sont indiqués les examens complémentaires de choix.

Tableau 1. Diagnostic différentiel des principaux symptômes observés lors d'anaplasmose granulocytaire chez les ruminants (Blowey et Weaver, 2006)

Syndrome fébrile	Avortements	Troubles respiratoires	Troubles locomoteurs
Mycoplasmoses (PCR, Sérologie)	Mycoplasmoses (PCR, Sérologie)	Mycoplasmoses (PCR, Sérologie)	Mycoplasmoses (PCR, Sérologie)
Salmonellose (culture bactérienne)	Salmonellose (culture bactérienne)	Salmonellose (culture bactérienne)	Salmonellose (culture bactérienne)
Virus de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (PCR, Sérologie)	Virus de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (PCR, Sérologie)	Virus de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (PCR, Sérologie)	Virus de la Rhinotrachéite Infectieuse Bovine (PCR, Sérologie)
Virus de la Fièvre Catarrhale Ovine (PCR, Sérologie)	Virus de la Fièvre Catarrhale Ovine (PCR, Sérologie)	Virus de la Fièvre Catarrhale Ovine (PCR, Sérologie)	Virus de la Fièvre Catarrhale Ovine (PCR, Sérologie)
Listériose (analyse du LCR)	Listériose (analyse du LCR)	Listériose (analyse du LCR)	Listériose (analyse du LCR)
Babésiose bovine (frottis sanguin)	Babésiose bovine (frottis sanguin)		
Anaplasmose à <i>A. marginale</i> (frottis sanguin)	Anaplasmose à <i>A. marginale</i> (frottis sanguin)		
Brucellose (réaction d'hémagglutination)	Brucellose (réaction d'hémagglutination)		
Virus Respiratoire Syncytial Bovin (Sérologie, RT-PCR)	Virus Respiratoire Syncytial Bovin (Sérologie, RT-PCR)		
Pasteurellose bovine (Culture bactérienne)	Pasteurellose bovine (Culture bactérienne)		
Pestivirus du complexe Diarrhée virale Bovine / Maladie des Muqueuses (Sérologie)	Pestivirus du complexe Diarrhée virale Bovine / Maladie des Muqueuses (Sérologie)		
Pestivirus de la Border Disease des ovins (Isolement du virus)	Pestivirus de la Border Disease des ovins (Isolement du virus)		
Virus du Louping-ill : VLI (Sérologie)	Virus du Louping-ill (Sérologie)		
Arthrite à colibacilles ou germes pyogènes en phase aiguë	Arthrite à colibacilles ou germes pyogènes en phase aiguë		
Fièvre Q (PCR)			
Hépatite infectieuse nécrosante des ovins à <i>Clostridium novyi</i> (Culture bactérienne)			
Leptospirose (examen direct de l'urine, sérologie)			
Borréliose de Lyme (Sérologie)			

Chapitre IV : Diagnostic, Traitement et Prophylaxie

Certaines des affections citées dans le tableau peuvent coexister avec l'anaplasmose à *A. phagocytophilum*, telles la pasteurellose (**Overas et al., 1993**), la listériose (**Gronstol et Overas, 1980**), l'anaplasmose à *A. marginale* (**Hofmann-Lehmann et al., 2004 ; de la Fuente et al., 2005c**), la maladie du louping-ill (**Gray et al., 1988**), la brucellose (**Juste et al., 1989**) et la babésiose (**Brun-Hansen et al., 1997**) : ces infections, probablement secondaires, se développent d'autant plus facilement qu'*A. phagocytophilum* provoque une immunodépression chez l'hôte. Dans ces cas, l'anaplasmose granulocytaire est masquée par la surinfection, aux symptômes plus marqués en général.

Par ailleurs, d'autres affections qui ne figurent pas dans ce tableau peuvent rendre difficile le diagnostic de l'anaplasmose granulocytaire. Lors de surinfection à *Staphylococcus* spp., on observe de multiples abcès articulaires et viscéraux qui peuvent masquer les signes inflammatoires de l'infection à *A. phagocytophilum* (**Foggie, 1956**). L'infection simple à *Chlamydia psittaci* est responsable d'une inflammation interstitielle et exsudative du poumon ; or la coinfection par *A. phagocytophilum* et *C. psittaci* se manifeste simplement par une extension des lésions par rapport à l'infection simple.

Il faut ainsi différencier l'anaplasmose de :

- La babésiose, également transmise par *Ixodes ricinus*, qui touche uniquement les bovins et qui se caractérise par une hémoglobinurie, une diarrhée et un ictère,
- L'ehrlichiose et des autres causes d'anémie ou d'ictère (**Ganière, 2004, Sauger, 2005**)
- Intoxications au mercure (hémoglobinurie sans hyperthermie), au cuivre et aux plantes (**Sauger, 2005**)
- La fièvre charbonneuse (rate boueuse alors qu'elle est simplement hypertrophiée et congestionnée en cas d'anaplasmose),
- La leptospirose (ictère capucine, congestion des muqueuses alors que l'ictère de l'anaplasmose est jaune citrin),
- La fasciolose (anémie sans hyperthermie) et les entérotoxémies (ictère et fièvre mais sans anémie, les muqueuses sont au contraire congestionnées) (**Labrunie, 1986**).

2. Traitement

Le traitement de choix est l'oxytétracycline, soit celle en solution à 10 % soit celle à action longue ou terramycine longue action en solution à 20 % (**Joncour et al. 2006**). À notre connaissance, son utilisation en métaphylaxie, n'a pas encore été testée. Administrée à titre préventif, au moment de la montée des agnelles en estive, oxytétracycline leur assure une

Chapitre IV : Diagnostic, Traitement et Prophylaxie

protection favorable car les brebis en transhumance s'infectent généralement dès leur arrivée dans un biotope à *I. ricinus* (Joncour, 2003), la symptomatologie n'étant constatée qu'à la première transhumance. Le traitement permet ainsi aux agnelles de résister à la maladie et surtout de réagir par une réponse immunitaire, les protégeant lors des gestations à venir : une immunisation s'est vraisemblablement installée après une première exposition à l'agent pathogène, confirmant le concept d'immunité de prémunition déjà mis en évidence pour l'EGB (Garcia-Perez *et al.* 2003 ; Joncour, 2003) et pour une autre MVT, aussi transmise par *I. ricinus*, la babésiose bovine à *Babesia divergens* (Joncour *et al.*, 2006).

Des traitements symptomatiques (Labrunie, 1986) sont envisageables mais réservés à des animaux à forte valeur économique, donc la plupart du temps, ils ne sont pas entrepris. Il s'agit de la transfusion sanguine (Sauger, 2005), de l'utilisation de parasymphomimétiques pour relancer la rumination, ... (Labrunie, 1986).

La présence de mécanismes immunologiques intervenant dans la pathogénie de la maladie suggère la possibilité de l'utilisation d'un traitement immunosuppresseur, à base de prednisolone notamment, lors d'ehrlichiose aiguë. Toutefois, en l'absence de mécanisme auto-immun avéré, Woody *et coll.* déconseillent l'utilisation de glucocorticoïdes à dose immunosuppressive ou d'agent immunosuppresseurs sur des longues périodes, compte-tenu du ralentissement probable de l'élimination de la bactérie .

Des anabolisants sont parfois utilisés pour la stimulation des cellules souches de la moelle osseuse, comme la nandrolone (1 à 1,5 mg/kg IM, une fois par semaine)

Le traitement de l'anaplasmose donne de bons résultats s'il est instauré précocement. Cependant, si l'animal guérit, il peut devenir porteur chronique, ce qui permet la contamination du reste du troupeau. Il est donc intéressant dans ce cas d'instaurer l'injection d'oxytétracycline longue action à 7 jours d'intervalle.

3. Prophylaxie

Pour limiter les infections, il faut éviter le contact hôte/vecteur. Il faut également être vigilant lors des achats et de reconstitution de troupeaux : il peut être utile de réaliser une sérologie pour être sûr que l'animal importé ne puisse pas être réservoir (Sauger, 2005).

3.1. Prophylaxie médicale

Le traitement de l'environnement et des animaux est important (**Labrunie, 1986, Sauger, 2005**)

La vaccination est envisageable mais elle n'est utilisée qu'en Amérique du Sud, en Afrique et en Asie (**Ganière, 2004**). On inocule *A. centrale* dont le pouvoir pathogène est faible (**Inokuma et al., 2001, Kocan et al., 2003, Lew et al., 2002**).

3.1.1. Vaccins vivants

L'utilisation de vaccins vivants a été initiée par Sir Arnold Theiler au début du XX^{ème} siècle. Les stratégies vaccinales utilisant des micro-organismes vivants incluent :

- Un traitement (on inocule le bétail avec des érythrocytes contaminés par *A. marginale* puis on suit les animaux en administrant des tétracyclines à dose faible pendant les premiers stades de l'infection. Le bétail devient donc infecté persistant (**Kocan et al., 2003**),
- L'utilisation de souches atténuées d'*A. marginale* (**Kocan et coll., 2003**),
- L'administration d'*A. centrale* : c'est le type de vaccin le plus utilisé car *A. centrale* est moins pathogène qu'*A. marginale* et l'infection par cette bactérie protège le bétail contre l'infection à *A. marginale* (**Inokuma et al., 2001, Kocan et al., 2003, Lew et al., 2002**).

3.1.2. Vaccins tués

Ils ont certains avantages par rapport aux vaccins précédents :

- Le risque de contamination avec un agent infectieux indésirable est nul,
- La conservation n'est pas chère,
- Les réactions post-inoculation sont minimales.

Ils ont cependant quelques inconvénients :

- La purification est coûteuse,
- Il n'existe aucune protection croisée contre d'autres isolats (**De La Fuente et al., 2002**),
- La protection immunitaire est plus faible,
- Il est nécessaire de faire des rappels annuels.

Chapitre IV : Diagnostic, Traitement et Prophylaxie

Ils sont ainsi moins utilisés que les vaccins vivants (**Kocan et al., 2003**). Les perspectives de développement de nouveaux vaccins plus efficaces passent par la culture cellulaire (**De La Fuente et al., 2002**).

CONCLUSION

L'impact mondial des infections dues aux *Anaplasmataceae* est illustré par les cas humains et animaux rapportés depuis un siècle et par l'identification de nouvelles espèces pathogènes. Ainsi, durant les deux dernières décennies, de nombreuses études rapportent l'émergence de ces agents pathogènes chez l'homme et les animaux domestiques (**Doudier et al. 2010**).

Actuellement, ils sont connus comme responsables de maladies infectieuses transmises par les tiques chez l'homme (**Dumler et al. 2001**) et les animaux (**Kocan et al. 2003 ; Kocan et al. 2015**). Ils diffèrent d'une zone géographique à l'autre et peuvent changer, au fil du temps, en raison de nombreux facteurs. L'émergence résulte soit de l'importation d'un agent pathogène dans une région indemne, soit de la recrudescence d'un pathogène constamment présent dans la région avec une faible prévalence, souvent liée à un changement d'hôte et à l'adaptation à une espèce plus sensible ou encore de l'identification d'une nouvelle espèce inconnue et responsable d'une infection (**Harrus et al. 2005**).

Des changements démographiques, socio-économiques et environnementaux facilitent le déclenchement de telles émergences. Ils ne contribuent pas à l'apparition de nouveaux pathogènes ou d'une nouvelle maladie, mais jouent un rôle important en portant le nombre des cas d'infection à un niveau où leur reconnaissance est possible (**Paddock et al. 2003**).

L'intervention humaine sur l'écosystème, pour créer des espaces constructibles ou des zones de pâturages, contribue à l'extension de l'habitat des réservoirs et des vecteurs et augmente le risque de contact humain et animal avec des foyers naturels d'infection lors des activités professionnelles ou de loisir. Les forêts périphériques, à des stades intermédiaires de régénération, permettent des modifications de la diversité des hôtes vertébrés et ainsi de la prévalence des infections par *Anaplasma phagocytophilum* (**Foley et al. 2009**). Chez l'homme, l'émergence d'*Ehrlichia chaffeensis* aux États-Unis d'Amérique est expliquée par l'association des facteurs de changements environnementaux à l'augmentation de la taille, de la longévité et de l'état immunitaire de la population humaine (**Ismail et al. 2010**).

Références Bibliographiques

- Akkoyunlu, M., S. E. Malawista, et al. (2001).** "Exploitation of interleukin-8-induced neutrophil chemotaxis by the agent of human granulocytic ehrlichiosis." *Infection and Immunity* 69(9): 5577-5588.
- Alberdi M.P., A. R. Walker, E.A. Paxton, K.J. Sumption.(1998).** Natural prevalence of infection with *Ehrlichia (Cytoecetes) pagocytophila* of *Ixodes ricinus* ticks in Scotland. *Veterinary Parasitology*, 78 : 203-213.
- Amiel, C., G. Abadia, et al. (2003).** L'ehrlichiose granulocytaire humaine en Europe. *Medecine et maladies infectieuses* 34 111-122.
- Argente G., E. Collin, H. Morvan.(1992).** Ehrlichiose bovine (fièvre des pâtures) : une observation en France. *Point Vétérinaire*, 1992, 144 : 89-90.
- Baumgarten B.U, M. Röllinghoff, C. Bogdan.(1999).** Prevalence of *Borrelia burgdorferi* and granulocytic and monocytic Ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks from Southern Germany. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999, 37 : 3448-3451.
- Birtles R. J., Harrisont. G., Saunders N. A., Molyneux D. H., (1995),** Proposals to unify the genera *Grahamella* and *Bartonella*, with descriptions of *Bartonella talpae* comb. nov., *Bartonella peromysci* comb. nov., and three new species, *Bartonella grahamii* sp. nov., *Bartonella taylorii* sp. nov., and *Bartonella doshiae* sp., *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45, 1-8
- Bjoersdorff, A., S. Bergstrom, et al. (2001).** Ehrlichia-infected ticks on migrating birds. *Emerg Infect Dis* 7(5): 877-9.
- Bourdeau P.** Les tiques d'importance vétérinaire et médicale, 2ème partie : principales espèces de tiques dures (*Ixodidae* et *Amblyommidae*). *Point Vét.*, 1993, 151 : 27- 41.
- Bown, K. J., X. Lambin, et al. (2008).** "Relative importance of *Ixodes ricinus* and *Ixodes trianguliceps* as vectors for *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in field vole (*Microtus agrestis*) populations." *Appl Environ Microbiol* 74(23): 7118-7125.
- Brenner D. J., O'connors. P., Winkler H. Steigerwalt A. G., (1993),** Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *Bartonella quintana* comb. nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov., *Bartonella henselae* comb. nov., and *Bartonella elizabethae* comb. nov., and to remove the family *Bartonellaceae* from the order *Rickettsiales*, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 43, 776-786

Brenner D., Krieg N., Staley J-T., Garrity G., Bergey D., (2005), Bergey's manual of Systemic Bacteriology, Volume 2 part. C, The alpha-, beta-, delta-, and epsilonproteobacteria, Springer

Brodie T.A., Holmes P.H., And Urquart G. M. (1986). Some aspect of tick-borne diseases of British sheep. *Vet Rec.*, **118** : 415-418.

Brodie TA, Holmes PH, Urquhart GM. (1988). Prophylactic use of longacting tetracycline against tick-borne fever (*Cytoecetes phagocytophila*) in sheep. *Vet Rec.* Jan 9;122(2):43-

Brouqui P., D. Raoult. (1998). *Ehrlichia*, Ehrlichioses. Encycyclopédie Médicale, Editions Elsevier Paris, Maladies infectieuses,

Brun-Hansen H., D.A. Christensson, F. Hardeng, H. Grønstøl. Hautman J.M., Nelson C. M., Huberty B.W., Kurtti T.J., Ahlstrand G.G., Greig B, Mellencamp M., And Goodman J.(1999). Invasion and intracellular development of the human granulocytic ehrlichiosis agent in tick cell culture. *J. Clin. Microbiol.*, **37**: 2518-2524.

Bussieras J., Chermette R. (1991). Parasitologie vétérinaire. Fascicule IV. Entomologie. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité pédagogique de parasitologie et maladies parasitaires. 164 p.

Camus E., Uilenberg G.,(2003). Anaplasmosse bovine. In *Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et régions chaudes.* Tome 2, 1ère édition, Paris : Lavoisier, 2003,1099-1107.

Chastagner A.P. (2014). Etude des cycles épidémiologiques d'*Anaplasma phagocytophilum* en France : apport des approches de caractérisation génétique, P 21,22

Chen, S. M., J. S. Dumler, et al. (1994). "Identification of a granulocytotropic Ehrlichia species as the etiologic agent of human disease." *J Clin Microbiol* 32(3): 589-595.

CHRISTIAN .S.B. 2002. Contribution a l'étude des infection a anaplasma phagocytophilum chez les ruminants domestiques.p 42

Cinco M.. Coexistence of *Ehrlichia phagocytophila* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks from Italy as determined by 16S rRNA gene sequencing. *Journal of Clinical Microbiology*, 1997, 35 : 3365-3366.

Courtney J.W., Dryden R.L., Wyleto P., Schneider B.S., Massung R.F. (2003). Characterization of of *Anaplasma phagocytophila* and *Borrelia burgdorferi* genotypes in *Ixodes scapularis* ticks from Pennsylvania. *Annals New York Academy of Sciences*, 999, 131-133.

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

- De La Fuente J., Vicente J., Hofle U., Ruiz-Fons F., Fernandez De Mera I. G., Van Den Bussche R. A., Kocan K. M., Gortazar C., (2004).** *Anaplasma* infection in freeranging Iberian red deer in the region of Castilla La Mancha, Spain, *Veterinary Microbiology*, **100** (3-4), 163-173.
- Doudier B, Olano J, Parola P, Brouqui P. (2010).** Factors contributing to emergence of *Ehrlichia* and *Anaplasma* spp. as human pathogens. *Vet Parasitol.* 167(2):149-54.
- Dumler, J. S., A. F. Barbet, et al. (2001).** "Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51(Pt 6): 2145-2165.
- Durrani A., Goyal S., (2012),** A retrospective study of *Anaplasma* in Minnesota cattle *Turk. Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 36, 131-136
- Duzgun A., Schunter C.A., Wright I.G., Leatch G. & Waltisbuhl D.J. (1988).** A sensitive ELISA technique for the diagnosis of *Anaplasma marginale* infections. *Vet. Parasitol.*, **29**, 1–7.
- Eremeeva M.E., Oliveira A., Robinson J.B., Ribakova N., Tokarevich N.K., Dasch G.A. (2006).** Prevalence of bacterial agents in *Ixodes persulcatus* ticks from the Vologda province of Russia. *Annals New York Academy of Sciences*, 1078, 291-298.
- Experimental infection with *Ehrlichia phagocytophila* and *Babesia divergens* in cattle. *Journal of Veterinary Medicine B.*, 1997, 44 : 235-243.
- Fernández-Soto, P., R. Perez-Sanchez, et al. (2001).** "Molecular detection of *Ehrlichia*
- Fivaz B., T. Petney, I. Horak. (1991).** Tick vector biology (Medical and veterinary aspects). Edition Springer-Verlag,
- Foggie, A. (1951).** "Studies on the infectious agent of tick-borne fever in sheep." *J Pathol Bacteriol* 63(1): 1-15.
- Friedhoff KT.(1997).** Tick-borne diseases of sheep and goats caused by *Babesia*, *Theileria* or *Anaplasma* spp. *Parassitologia.* 1997 Jun;39(2):99-109. Review.
- Ganiere J.-P.,(2004).** *Maladies réputées contagieuses ou à déclaration obligatoire des ruminants*, Polycopié des Unités de maladies contagieuses des Ecoles vétérinaires françaises, Mérial (Lyon), 93 pages.

- Garcia-Garcia, J. C., K. E. Rennoll-Bankert, et al. (2009).** "Silencing of Host Cell CYBB Gene Expression by the Nuclear Effector AnkA of the Intracellular Pathogen *Anaplasma phagocytophilum*." *Infection and Immunity* 77(6): 2385-2391.
- Garcia-Perez AL, Barandika J, Oporto B, Povedano I, Juste RA. (2003).** *Anaplasma phagocytophila* as an abortifacient agent in sheep farms from northern Spain. *Ann N Y Acad Sci.* Jun;990:429-32..
- Gilot B., C. Perez-Eid.(1998).** Bio-écologie des tiques induisant les pathologies les plus importantes en France. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 28 : 325-334.
- Gokce Hi, Woldehiwet Z. (1999).** Differential haematological effects of tick-borne fever in sheep and goats. *J Vet Med.* Mar;46(2):105-15.
- Goureau L., (1994).** *Réalisation d'une enquête épidémiologique sur les hémoparasitoses bovines en Guyane française*, Thèse de Doctorat Vétérinaire, Toulouse, n° 54, 75 pages.
- Gribble, D. H. (1969).** "Equine ehrlichiosis." *J Am Vet Med Assoc* 155(2): 462-469.
- Gribble, D. H. (1969).** Equine ehrlichiosis. *J Am Vet Med Assoc* 155(2): 462-9.
- Inokuma H., Terada Y., Kamio T., Raoult D., Brouqui P.,(2001).** Analysis of the 16S rRNA gene of *Anaplasma centrale* and its phylogenetic relatedness to other *Ehrlichiae*, *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 8 (2), 241-244.
- Johnston L.A.Y., Trueman K.F., Leatch G. & Wilson A.J. (1980).** A comparison of direct fluorescent antibody and Giemsa staining for the post-mortem diagnosis of anaplasmosis. *Aust. Vet. J.*, 56, 116–118.
- Joncour G., Collin E. L'Ehrlichiose bovine dans l'OUEST, de 1999-2003.** Restitution des résultats. In : *Unio régionale des groupements techniques vétérinaires, colloque européen francophone : Rickettsioses-zoonoses et autres Arbo-bactérioses-zoonoses*, Saint-Brieuc Ploufragan, 2003, Ispaia-zoopole: 58-111. *Journal of Comparative Pathology.*, 1982, 92 : 457-467.
- Joncour G., G. Argenté, L. Guillou.(2000).** Un épisode d'ehrlichiose dans un troupeau laitier. *Bulletin des Groupements Techniques Vétérinaires*, 5 : 309-314.
- Jones G.L., I.H. Davies.(1995).** An ovine abortion storm caused by infection with *Cytoecetes phagocytophila*. *The Veterinary Record*, 136 : 127.
- Juste R.A., G.R. Scott, E.A. Paxton, J.L. Gelabert, S. Jiménez.(1986).** Presence of *Cytoecetes phagocytophila* in an atypical disease of cattle in Spain. *The Veterinary Record*, 1989, 124 : 636.

- Juste RA, Garcia-Pérez AL, Povedano-Fernandez.(1986)** Estudio experimental de algunos patógenos transmitidos por garrapatas (*Babesia*, *Theileria*, *Cytoecetes* y *Anaplasma*) en ovejas del País Vasco. *Med. Vet.* 3:431-9
- Kimberling, C.V. 1988.** Jensen and Swift's diseases of sheep, 3rd ed. Lea and Febiger, Philadelphia, Pennsylvania, 394 pp. (28).
- Kimberling, C.V. 1988.** Jensen and Swift's diseases of sheep, 3rd ed. Lea and Febiger, Philadelphia, Pennsylvania, 394 pp. (28).
- Kocan K, De La Fuente J, Blouin E Garcia-Garcia J.C., (2004)** *Anaplasma marginale* (Rickettsiales : Anaplasmataceae): recent advances in defining host–pathogen adaptations of a tick-borne rickettsia, *Parasitology*, 129, 285–300
- Kocan K., De La Fuente J., Blouin E., Coetzee J., Ewing S.A., (2010),** The natural history of *Anaplasma marginale*, *Veterinary Parasitology*, 167, 95–107
- Kocan K., De La Fuente J., Gugliemone A., Melendez R., (2003),** Antigenes and Alternatives for Control of *Anaplasma marginale* Infection in Cattle, *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 698–712
- Kocan K., De La Fuente J., Gugliemone A., Melendez R., (2003),** Antigenes and Alternatives for Control of *Anaplasma marginale* Infection in Cattle, *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 698–712
- Kocan KM, de La Fuente J, Blouin EF, Garcia- Garcia JC.(2004).** *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: *Anaplasmataceae*): recent advances in defining host–pathogen adaptations of a tick-borne *rickettsia*. *Parasitol.* 129(S1):S285-S300.
- Kreier J.P. & RISTIC M. (1963).** Anaplasmosis. X Morphological characteristics of the parasites present in the blood of calves infected with the Oregon strain of *Anaplasma marginale*. *Am. J Vet. Res.*, 24, 676–687.
- Kumi-Diaka J., Sackey A.K., Akerejola O.O. and Ogwu D.(1988).** Effect of chemotherapy on semen characteristics of Balami rams infected with *Anaplasma ovis*. *Vet Res Comm.* 12(2-3), 119-124
- Labrunie J. J.,(1986).** *L'anaplasmose bovine : étude d'un foyer d'enzootie dans le sud-ouest de la France*, Thèse de Doctorat Vétérinaire, Toulouse, n° 108, 92 pages.
- Leblond, A., S. Pradier, et al. (2005).** Enquête épidémiologique sur l'anaplasmose équine (*Anaplasma phagocytophilum*) dans le Sud de la France. *Rev Sci Tech* 24(3): 899-908.
- Lefevre P.C., Blancou J., (2003),** Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail Europe et région chaude Vol 2 maladies bactériennes mycoses et maladies parasitaires, TEC & DOC EDITION

Lew A. E., Bock R. E., Minchin C. H., Masaka S., A (2002). msp1 α polymerase chain reaction assay for specific detection and differentiation of *Anaplasma marginale* isolates, *Veterinary Microbiology*, **86** (4), 325-335

Lewis, G. E., Jr., D. L. Huxsoll, et al. (1975). Experimentally induced infection of dogs, cats, and nonhuman primates with Ehrlichia equi , etiologic agent of equine ehrlichiosis. *Am J Vet Res* **36**(1): 85-8.

Lin, M., A. Den Dulk-Ras, et al. (2007). "Anaplasma phagocytophilum AnkA secreted by type IV secretion system is tyrosine phosphorylated by Abl-1 to facilitate infection†." *Cellular Microbiology* 9(11): 2644-2657.

Liz N., Sumner J. W., Pfister K., BROSSARD M. (2002). PCR detection and serological evidence of granulocytic ehrlichial infection in roe deer (*Capreolus capreolus*) and chamois (*Rupicapra rupicapra*). *Journal of Clinical Microbiology*, 40 (3), 892-897.

Liz, J. S., L. Anderes, et al. (2000). PCR detection of granulocytic ehrlichiae in Ixodes ricinus ticks and wild small mammals in western Switzerland. *J Clin Microbiol* **38**(3): 1002-7.

Macleod, J. and W. S. Gordon (1933). "Studies in tick-borne fever of sheep. I. Transmission by the tick, Ixodes ricinus, with a description of the disease produced." *Parasitology* 25(02): 273-283.

Madewell, B. R. and D. H. Gribble (1982). "Infection in two dogs with an agent resembling Ehrlichia equi." *J Am Vet Med Assoc* 180(5): 512-514.

Martin WB, Aitken ID. Diseases of Sheep 3ème éd. Oxford: Blackwell Science 2000 528 pages..

Mcewen A. D. Tick-born Fever in young lambs. *Vet. Rec.*, 1947, **59**: 198-201.

Montenegro-James S., Guillen A.T., Ma S.-J., Tapang P., Abdel-Gawad A., Tori M. & Ristic M. (1990). Use of the dot enzyme-linked immunosorbent assay with isolated *Anaplasma marginale* initial bodies for serodiagnosis of anaplasmosis in cattle. *Am. J. Vet. Res.*, **51**, 1518–1521.

Munderloh U. G., Jauron S. D., Fingerle V.,Leitritz L, Haye S. F. L, Neimar H., Kocan K.M., (1997), The cell wall-less rickettsia Eperythrozoon wenyonii is a Mycoplasma. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters*, . 156, 287-291.

Niu, H., V. Kozjak-Pavlovic, et al. (2010). "Anaplasma phagocytophilum Ats-1 is imported into host cell mitochondria and interferes with apoptosis induction." *PLoS pathogens* 6(2): e1000774.

Ogden NH, Casey AN, Woldehiwet Z, French NP.(2003). Transmission of *Anaplasma phagocytophilum* to *Ixodes ricinus* ticks from sheep in the acute and post-acute phases of infection. *Infect Immun.* Apr;71(4):2071-8. .

Ogden NH, Casey ANJ, French NP, Bown KJ, Adams, JDW, Woldehiwet Z. (2002). Natural *Ehrlichia phagocytophila* transmission coefficients from sheep 'carriers' to *Ixodes ricinus* ticks vary with the numbers of feeding ticks. *Parasitol.* 124(2):127-36.

Parola P., Raoult D. (2001). Ticks and tickborne bacterial diseases in humans : an emerging infectious threat. *Clinical Infectious Diseases*, 32, 897-928.

Perez-Eid C., B. Gillot. (1998). Les tiques : cycles, habitats, hôtes, rôle pathogène, lutte. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 28 : 335-343.

phagocytophila genogroup organisms in larvae of *Neotrombicula autumnalis* (Acari: *Trombiculidae*) captured in Spain." *Journal of Parasitology* **87**(6): 1482-1483.

phagocytophila infection in lambs in relation to clinical parameters and antibody responses. *Vet. Rec.*, 1998, **143**: 553-555.

phagocytophila, the causative agent of tickborne fever, by complement fixation. *Journal of Comparative Pathology*, 1982, 92 : 475-478.

Purnell R.E., E.R. Young, D.W. Brocklesby, D.J. Hendry. (1977). The haematology of experimentally - induced *B. divergens* and *E. phagocytophila* infections in splenectomised calves. *The Veterinary Record*, 100 : 4-6.

Pusterla N., B. Steiger, U. Schorno, U. Braun.(1997). Auftreten von boviner ehrlichiose im kanton Obwalden. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 139 : 392-396

Pusterla N., J. Berger Pusterla, U. Braun, H. Lutz.(1998). Serological, hematologic, and PCR studies of cattle in a area of Switzerland in which tick-borne fever (caused by *Ehrlichia Phagocytolphila*) is endemic. *Clinical and Diagnostics of Laboratory Immunology*, 5 : 325-327.

Pusterla N., J.B. Huder, C. Leutenegger, U. Braun, J.E. Madigan, H. Lutz.(1999). Quantitative real-time PCR for detection of members of the *Ehrlichia phagocytophila* genogroup in host animals and *Ixodes ricinus* ticks. *Journal of Clinical Microbiology*, 37 : 1329-1331.

Pusterla N., J.B. Huder, H. Lutz, U. Braun.(1998). Detection of *Ehrlichia phagocytophila* DNA in *Ixodes ricinus*. tick from areas in Switzerland where. tick-borne fever is endemic. *Journal of Clinical Microbiology*, 36 : 2735-2736.

- Pusterla N., Pusterla J., Braun U. And Lutz H.(1998).** Serological, hematologic, and PCR studies of cattle in an area of Switzerland in which Tick-borne fever (caused by *Ehrlichia phagocytophila*) is endemic. *Clin. Diag. Lab. Immun.*, **5** : 325-327.
- Pusterla, N., R. J. Anderson, et al. (2001).** Susceptibility of cattle to infection with Ehrlichia equi and the agent of human granulocytic ehrlichiosis." *J Am Vet Med Assoc* **218**(7): 1160-2.
- Radostits O.M., D.C. Blood, C.C. Gay.(1994).** Veterinary Medicine, Editions Baillière Tindall, 906.
- Radostits, 8ème éd. Veterinary Medicine: (2000).** 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
- Rejmanek, D., P. Foley, et al. (2012a).** "Antigen variability in Anaplasma phagocytophilum during chronic infection of a reservoir host." *Microbiology* 158(Pt 10): 2632-2641.
- Rejmanek, D., P. Foley, et al. (2012b).** "Evolution of antigen variation in the tick-borne pathogen Anaplasma phagocytophilum." *Mol Biol Evol* 29(1): 391-400.
- Rikihisa, Y. (2010).** "Anaplasma phagocytophilum and Ehrlichia chaffeensis: subversive manipulators of host cells." *Nature Reviews Microbiology* 8(5): 328-339.
- Rikihisa, Y. (2011).** "Mechanisms of obligatory intracellular infection with *Anaplasma phagocytophilum*." *Clinical Microbiology Reviews* **24**(3): 469-489.
- Rikihisa, Y., M. Lin, et al. (2010).** "Type IV secretion in the obligatory intracellular bacterium Anaplasma phagocytophilum." *Cell Microbiol* 12(9): 1213 - 1221.
- Rikihisay., Kawahara M., Wen B., Kociba G., Fuerst P., Kawamori F., Suto C., Shibata S., Futohashi M., (1997),** Western immunoblot analysis of Haemobartonella muris and comparison of 16S rRNA gene sequences of H. muris, H. felis, and Eperythrozoon suis. *Journal of Clinical Microbiologie*, 35, 823-829
- Ristic M. & Kreier J.P. (1984).** Family III. Anaplasmataceae Philip 1957. *In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, Krieg N.R. & Holt J.G., eds. Williams & Wilkins, Baltimore, MD, USA, 719–729.
- Roux V., Bergoin M., Lamaze N., Raoult D., (1997),** Reassessment of the taxonomic position of Rickettsiella grylli., *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47, 1255-1257
- S. Stuen, F. Hardeng, H.J. Larsen.(1992).** Resistance to tick-borne fever in young lambs. *Research in Veterinary science*, 52 : 211-216.
- S. Stuen. (1993).** Tick-borne fever in lambs of different ages. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 34 : 45-52.

Sauget B., (2005). *Maladies bactériennes transmises par les tiques en Europe et leurs particularités*, Thèse de Doctorat Vétérinaire, Nantes, 2005, n° 2, 147 pages.

Scott G.R. (1990). Tick-borne fever and Pasture fever. 620-621.

Skoracki, M., J. Michalik, et al. (2006). "First detection of *Anaplasma phagocytophilum* in quill mites (Acari: *Syringophilidae*) parasitizing passerine birds." *Microbes and infection* **8**(2): 303-307.

Stuen S, Bergstrom K(2001). Persistence of Ehrlichia phagocytophila infection in two age groups of lambs. *Acta Vet Scand.* 42(4):453-8

Stuen S, Bergstrom K, Palmer E.(2002). Reduced weight gain due to subclinical Anaplasma phagocytophilum (formerly Ehrlichia phagocytophila) infection. *Exp Appl Acarol.* 28(1-4):20915.

Stuen S, Bergstrom K. (2001). Serological investigation of granulocytic Ehrlichia infection in sheep in Norway. *Acta Vet Scand.* 42(3):331-8 b.

Stuen S, Van De Pol I, Bergstrom K, Schouls LM. . (2002). Identification of Anaplasma phagocytophila (formerly Ehrlichia phagocytophila) variants in blood from sheep in Norway. *J Clin Microbiol.* Sep;40(9):3192-7 b.

Stuen S.(1993). Tick-borne fever in lambs of different ages. *Acta Vet Scand.* 1993;34(1):45-52.

Stuen S., Olsson Endvall E., Artursson K. Persistence of *Ehrlichia*

Stuen, S., E. G. Granquist, et al. (2013). "*Anaplasma phagocytophilum* - a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies." *Frontiers in cellular and infection microbiology* **3**.

Stuen, S., K. Artursson, et al. (1998). Experimental infection of lambs with an equine granulocytic Ehrlichia species resembling the agent that causes human granulocytic ehrlichiosis (HGE). *Acta Vet Scand* **39**(4): 491-7.

Teglas, M. and J. Foley (2006). "Differences in the transmissibility of two *Anaplasma phagocytophilum* strains by the North American tick vector species, *Ixodes pacificus* and *Ixodes scapularis* (Acari: *Ixodidae*)." *Experimental and Applied Acarology* **38**(1): 47-58.

Telford, S. R., 3rd, J. E. Dawson, et al. (1996). Perpetuation of the agent of human granulocytic ehrlichiosis in a deer tick-rodent cycle. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**(12): 620914.

Telford, S. R., J. E. Dawson, et al. (1996). "Perpetuation of the agent of human granulocytic ehrlichiosis in a deer tick-rodent cycle." *Proceedings of the National Academy of Sciences of*

Tête H, Davoust B, Brouqui P.(2014). Ehrlichioses et anaplasmoses humaines. EM-Consulte et EMC Maladies infectieuses 11(4) [8-037-I-25]

the United States of America **93**(12): 6209-6214.

Toma B., Dufour B., Sanaa M., Benet J.J., Shaw A., Moutou F., Louza A. (2001). Épidémiologie appliquée à la lutte contre les maladies animales transmissibles majeures. 2ème éd. Paris : AEEMA éd., 696 p.

Torioni De Echaide S., Knowles D. P., Mac Guire T. C., Palmer G. H., Suarez C. E., Mac Elwain T. F.,(1998). Detection of cattle naturally infected with *Anaplasma marginale* in a region of endemicity by nested PCR and a competitive enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant major surface protein 5, *Journal of Clinical Microbiology*, 1998, **36** (3), 777-782.

USDA : United States Department Of Agriculture (Usda) (1958). A Manual for Conducting the Complement Fixation Test for Anaplasmosis. Agricultural Research Service, USDA, Beltsville, MD 20705, USA.

USDA : United States Department Of Agriculture 1974. A Microtiter Technique for the Complement Fixation Test for Anaplasmosis. Veterinary Services, Animal and Plant Health Inspection Service, US Department of Agriculture, Beltsville, MD 20705, USA.

Webster K. A., Mitchell G. B. B. An electron microscopic study of *Cytoecetes phagocytophila* infection in *Ixodes ricinus*. *Res. Vet. Sci.*, 1989, **45** : 28-30.

Webster K.A., G.B.B. Mitchell.(1988) Use of counter immunoelectrophoresis in detection of antibodies to tick-borne fever. *Research in Veterinary Science* , 45 : 28-30.

Webster K.A., G.B.B. Mitchell.(1989) An electron microscopic study of *Cytoecetes phagocytophila* infection in *Ixodes ricinus*. *Research in Veterinary Science*, 47 : 30-33.

Woldehiwet Z. (1983). Tick-borne fever : a review. *Research in Veterinary Communications*, 1983, 6 : 163-175.

Woldehiwet Z. (2006). A. phagocytophilum in ruminants in Europe. *Annals New York Academy of Sciences*, 1078, 446-460.

Woldehiwet Z., G.R. Scott. Immunological studies on tick-borne fever in sheep.

Woldehiwet Z., G.R.Scott. Differentiation of strains of *Cytoecetes*

Woldehiwet Z., M. Ristic.(1993) Rickettsial and chlamydial diseases of domestic animals. Pergamon Press,

Woldehiwet Z., Ristic M. (1993) Rickettsial and chlamydial diseases of domestic animals, *Pergamon press*, Oxford, 427p.

Woldehiwet Z., Scott G. R. (1982). Immunological studies on tick-borne fever in sheep. *J. Comp. Path.*, 1982, **92**: 457-467.

Woldehiwet, Z. (2008). "Immune evasion and immunosuppression by *Anaplasma phagocytophilum*, the causative agent of tick-borne fever of ruminants and human granulocytic anaplasmosis." *The Veterinary Journal* 175(1): 37-44.

Yoshiie, K., H.-Y. Kim, et al. (2000). "Intracellular infection by the human granulocytic ehrlichiosis agent inhibits human neutrophil apoptosis." *Infection and Immunity* 68(3): 1125-1133.

Yu X.J., Zhang X.F., McBride J.W., Zhang Y., Walker D.H., (2001), Phylogenetic relationships of *Anaplasma marginale* and 'Ehrlichia platys' to other Ehrlichia species determined by GroEL amino acid sequences, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51, 1143–1146

Zaugg JL. Ovine anaplasmosis: (1987). In utero transmission as it relates to stage of gestation. *Am J Vet Res.* Jan;48(1):1003.

Web références

<http://biologie.ens-lyon.fr/ressources/biodiversite/Documents/image-de-la-semaine/2011/semaine-37-12-09-2011/images/Cycle-Ixodes-ricinus.jpg/view> consulté le 24/05/2017 à 13h

<http://www.infectionlandscapes.org/2011/06/ehrlichiosis.html> consulté le 03/06/2017 à 22H