

**VETAGRO SUP  
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2018 - Thèse n°046

***ETUDE DE LA TRYPANOSOMOSE A TRYPANOSOMA  
EVANSI CHEZ LE DROMADAIRE (CAMELUS  
DROMEDARIUS) AUX EMIRATS ARABES UNIS***

**THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 12 octobre 2018  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*MERLIN Julie*





**VETAGRO SUP  
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2018 - Thèse n°046

***ETUDE DE LA TRYPANOSOMOSE A TRYPANOSOMA  
EVANSI CHEZ LE DROMADAIRE (CAMELUS  
DROMEDARIUS) AUX EMIRATS ARABES UNIS***

**THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 12 octobre 2018  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*MERLIN Julie*





## Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon (1er mars 2018)

Nom	Prénom	Département	Grade
ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BURONFOSSE	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
CAROZZO	Claude	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CHALVET-MONFRAY	Karine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DEMONT	Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Stagiaire
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
JANKOWIAK	Bernard	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Contractuel
JAUSSAUD	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
JEANNIN	Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Inspecteur en santé publique vétérinaire (ISPV)
JOSSON-SCHRAMME	Anne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences Contractuel
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
KODJO	Angeli	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LEDOUX	Dorothée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Stagiaire
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences Stagiaire
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MATEOS	Stevana	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences Contractuel
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOUNIER	Luc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
POUZOT-NEVORET	Céline	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
RIVES	Germain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Contractuel
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
SABATIER	Philippe	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
SERGENTET	Delphine	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
THOMAS-CANCIAN	Aurélie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences Contractuel
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences Contractuel
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur



# REMERCIEMENTS

**A Monsieur le Professeur Yves MATILLON,**  
Université Claude Bernard – Faculté de Médecine de Lyon

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse,  
Qu'il reçoive l'expression de ma gratitude et de mes hommages respectueux.

**A Monsieur le Professeur Philippe BERNY,**  
Vetagro Sup – Campus Vétérinaire de Lyon

Pour son aide et son encadrement durant toute cette thèse,  
Pour sa gentillesse et pour m'avoir fait l'honneur d'être mon premier assesseur,  
Je lui exprime mes sincères remerciements.

**A Monsieur le Professeur Gilles BOURDOISEAU,**  
Vetagro Sup – Campus Vétérinaire de Lyon

Pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail,  
Je souhaite lui communiquer mes plus respectueux remerciements.









# TABLE DES MATIERES

TABLE DES ANNEXES.....	15
TABLE DES FIGURES.....	17
TABLE DES TABLEAUX.....	21
LISTE DES ABREVIATIONS.....	23
INTRODUCTION.....	25
I. La trypanosomose à <i>Trypanosoma evansi</i> chez <i>Camelus dromedarius</i> : étude bibliographique...	27
A. Agent étiologique : <i>Trypanosoma evansi</i> .....	27
1. Taxonomie .....	27
2. Origine .....	28
3. Caractéristiques morphologiques.....	30
4. Quelques notions de physiologie chez <i>T. evansi</i> .....	32
5. Epidémiologie.....	32
a) Notion de prévalence : études contradictoires.....	32
(1) Facteurs liés à l'hôte .....	33
(2) Facteurs liés au vecteur et à l'environnement .....	34
b) Distribution géographique.....	34
6. Biologie.....	36
a) Cycle .....	36
b) Hôtes .....	39
c) Vecteurs.....	41
B. Pathogénie et symptomatologie de la trypanosomose .....	42
1. Signes cliniques .....	42
a) Forme chronique .....	42
b) Autres formes.....	43
2. Réponse immunitaire .....	44
a) Processus inflammatoire .....	44
b) Immunodépression .....	44
c) Conséquences de l'immunodépression.....	46
d) Autres phénomènes immunitaires .....	46
3. Physiopathologie.....	47
a) Lésions cellulaires et tissulaires .....	47
b) Mécanismes de passage du parasite dans différents organes .....	48
c) Conséquences des phénomènes engendrés par le parasite .....	48
C. L'hôte définitif : <i>Camelus dromedarius</i> .....	50
1. Taxonomie .....	50
2. Origine .....	50
3. Distribution et utilisation .....	51
4. Caractéristiques.....	51
a) Durée de vie et variations morphologiques.....	51
b) Nutrition et comportement alimentaire .....	52
c) Reproduction.....	52
5. Particularités de l'examen clinique .....	53
6. Réalisation de prélèvements et analyses .....	54
a) Prise de sang.....	54
b) Autres prélèvements.....	56
c) Paramètres hématologiques.....	56
d) Paramètres biochimiques et ionogramme.....	57
7. Les trypanosomoses du dromadaire.....	57
D. Les Emirats Arabes Unis .....	58
1. Situation géographique, paysage et climat.....	58
2. Le dromadaire aux Emirats .....	59
3. La trypanosomose aux Emirats.....	61
E. Méthodes diagnostiques .....	63
1. Prélèvements.....	63

2.	Analyses hématologiques.....	63
3.	Analyses biochimiques .....	64
4.	Analyses nécropsiques.....	64
5.	Tests parasitologiques ou analyses microscopiques .....	65
	a) Méthodes directes.....	65
	(1) Goutte de sang frais.....	65
	(2) Goutte épaisse.....	66
	(3) Frottis.....	67
	b) Méthodes de concentration.....	68
	(1) Méthode de Woo .....	68
	(2) Méthode de Murray .....	69
	(3) Chromatographie en mini colonne d'échange d'anions .....	70
	c) Méthodes de culture .....	71
	(1) Culture <i>in vitro</i> .....	71
	(2) Culture <i>in vivo</i> .....	71
	d) Sensibilité comparée des tests parasitologiques.....	72
6.	Tests sérologiques.....	73
	a) Détection d'anticorps ou tests indirects .....	74
	(1) Détection d'immunoglobulines G.....	74
	(a) Immunofluorescence indirecte .....	74
	(b) ELISA indirect .....	76
	(2) Détection d'immunoglobulines M : Test d'agglutination sur carte .....	77
	(3) Autres tests indirects .....	78
	(a) Trypanolyse immunomédiée .....	78
	(b) Immunochromatographie sur bandelette .....	78
	b) Détection d'antigènes ou tests directs.....	79
	(1) ELISA direct.....	79
	(2) Electrophorèse d'isoenzymes.....	79
	(3) Immunoblot ou Westernblot.....	80
	(4) Détection d'antigènes circulants .....	80
7.	Tests moléculaires.....	81
	a) PCR.....	81
	(1) PCR mono-spécifiques .....	81
	(2) PCR multi-spécifiques.....	82
	(3) Autres techniques récentes .....	82
	(4) Amorces et sensibilité comparées des techniques PCR.....	83
	b) Sondes d'ADN.....	84
8.	Recommandations.....	84
F.	Méthodes thérapeutiques .....	86
	1. Généralités .....	86
	2. Voies d'administration .....	86
	3. Molécules utilisées.....	87
	a) Mélarsomine.....	87
	(1) Pharmacie chimique .....	87
	(a) Origine.....	87
	(b) Structure et classification .....	88
	(c) Propriétés physico-chimiques.....	88
	(2) Pharmacologie .....	89
	(a) Activité anti-protozoaire.....	89
	(i) Mécanisme d'action .....	89
	(ii) Spectre d'action et espèces cibles .....	90
	(iii) Résistances .....	90
	(b) Pharmacocinétique .....	90
	(i) Résorption .....	90
	(ii) Distribution.....	91
	(iii) Biotransformations et élimination .....	91
	(c) Effets toxiques et indésirables .....	91

(3) Thérapeutique.....	92
(a) Forme galénique et préparation .....	92
(b) Posologie .....	92
b) Diminazène .....	93
(1) Pharmacie chimique .....	93
(a) Origine, structure et classification.....	93
(b) Propriétés physico-chimiques.....	93
(2) Pharmacologie .....	94
(a) Activité anti-protazoaire.....	94
(i) Mécanisme d'action, spectre d'action et espèces cibles .....	94
(ii) Résistances .....	94
(b) Pharmacocinétique .....	94
(i) Résorption .....	94
(ii) Distribution.....	94
(iii) Biotransformations et élimination .....	95
(c) Effets toxiques et indésirables .....	95
(3) Thérapeutique.....	95
(a) Forme galénique et préparation .....	95
(b) Posologie .....	95
(c) Produits commercialisés.....	96
c) Quinapyramine.....	96
(1) Pharmacie chimique .....	96
(a) Origine, structure et classification.....	96
(b) Propriétés physico-chimiques.....	97
(2) Pharmacologie .....	98
(a) Activité anti-protazoaire.....	98
(i) Mécanisme d'action, spectre d'action et espèces cibles .....	98
(ii) Résistances .....	98
(b) Pharmacocinétique .....	98
(i) Résorption .....	98
(ii) Distribution.....	98
(iii) Biotransformations et élimination .....	98
(c) Effets toxiques et indésirables .....	99
(3) Thérapeutique .....	99
(a) Forme galénique et préparation .....	99
(b) Posologie .....	99
(c) Produits commercialisés.....	99
d) Isoméamidium.....	100
(1) Pharmacie chimique .....	100
(a) Origine, structure et classification.....	100
(b) Propriétés physico-chimiques.....	100
(2) Pharmacologie .....	100
(a) Activité anti-protazoaire.....	100
(i) Mécanisme d'action, spectre d'action et espèces cibles .....	100
(ii) Résistances .....	101
(b) Pharmacocinétique .....	101
(i) Résorption .....	101
(ii) Distribution.....	101
(iii) Biotransformations et élimination .....	101
(c) Effets toxiques et indésirables .....	101
(3) Thérapeutique.....	102
(a) Forme galénique et préparation .....	102
(b) Posologie .....	102
(c) Produits commercialisés.....	102
e) Autres molécules.....	104
(1) Molécules historiques.....	104
(2) Molécules en cours d'étude.....	104

4.	Recommandations.....	105
5.	Conclusion sur les traitements curatifs .....	106
G.	Méthodes prophylactiques .....	107
1.	Mesures préventives dirigées contre le parasite.....	107
a)	Trypanocides prophylactiques.....	107
b)	Vaccination .....	109
2.	Lutte vectorielle .....	109
a)	Mesures chimiques : insecticides et écrans imprégnés .....	109
b)	Mesures hygiéniques .....	111
c)	Moyens mécaniques .....	111
(1)	Pièges à insectes .....	111
(2)	Fumée .....	112
(3)	Séparation physique des animaux .....	112
3.	Prévention d'introduction en zone indemne.....	113
H.	Phénomènes de résistance aux trypanocides.....	115
1.	Réinfection ou résistance au traitement ? .....	115
2.	Réinfection.....	116
a)	Réservoirs ou introduction d'animal parasité en zone indemne .....	116
b)	Mauvaise prévention en zone d'endémie.....	116
3.	Résistance au traitement .....	116
a)	Sous-dosages et estimation du poids .....	116
b)	Sites refuges .....	117
c)	Autres mécanismes de résistance .....	117
d)	Mauvaise préparation ou utilisation du produit.....	118
e)	Mise en évidence d'un phénomène de résistance .....	119
f)	Attitude à adopter face à un phénomène de résistance.....	119
(1)	Augmenter la dose utilisée : une attitude généralement à proscrire .....	119
(2)	Changement de molécule trypanocide.....	120
(a)	Résistances croisées .....	120
(b)	Notion de « sanative drugs » .....	121
(3)	Amélioration des mesures de surveillance et de détection .....	121
II.	Le projet : élaboration d'un protocole basé sur une étude de terrain afin d'évaluer la résistance à la mélsarsomine.....	123
A.	Objectifs du projet .....	123
B.	Enquête épidémiologique : réalisation d'un questionnaire.....	124
1.	Objectifs.....	124
2.	Matériel et méthodes.....	124
3.	Résultats.....	125
a)	Epidémiologie de la maladie .....	126
(1)	Prévalence de la maladie .....	126
(2)	Taux de mortalité.....	126
(3)	Evolution de la prévalence .....	127
(4)	Influence de la saison sur la prévalence .....	127
(5)	Influence du sexe sur la prévalence.....	128
(6)	Tranches d'âges touchées par la maladie .....	129
(7)	Influence du statut physiologique.....	130
(8)	Autres affections associées.....	131
(9)	Influence de l'origine de l'animal.....	132
(10)	Influence du rythme nyctéméral sur le nombre de parasites dans le sang.....	132
(11)	Variation du nombre de parasites dans le sang en fonction du sexe .....	132
(12)	Fréquence et types de signes cliniques.....	132
(13)	Fréquence des examens complémentaires.....	133
(14)	Type d'examens complémentaires réalisés.....	133
b)	Détection d'une infection.....	134
(1)	Critères de confirmation d'infection .....	134
(2)	Changements dans l'épidémiologie de la maladie ces dernières années.....	134
(3)	Intervalle de temps entre le prélèvement et l'analyse de l'échantillon .....	135

(4) Examens nécropsiques .....	135
c) Traitement de la trypanosomose .....	136
(1) Protocole de première intention face à une infection .....	136
(a) Molécules et produits commerciaux utilisés .....	136
(b) Détail des protocoles de première intention .....	137
(c) Association d'autres traitements à ce protocole.....	139
(2) Vérification du statut parasitaire post-traitement .....	140
(3) Taux de réinfections ou persistance du parasite .....	140
(4) Protocole de seconde intention, face à un cas résistant .....	141
(a) Molécules utilisées .....	141
(b) Détails des protocoles utilisés .....	142
(c) Nombre total de traitements réalisés sur les cas résistants ou réinfections .....	143
(5) Dose utilisée pour le Cymelarsan® .....	144
(6) Estimation du poids des animaux .....	145
(7) Délai de traitement de l'animal .....	145
(8) Délai entre suspicion d'infection et traitement .....	145
(9) Signes cliniques spécifiques en cas de maladie incurable .....	146
(10) Utilisation des trypanocides dans le milieu des courses.....	146
(11) Existence de faux produits.....	148
d) Prévention de la trypanosomose.....	148
(1) Prescription de traitements préventifs .....	148
(2) Mesures de quarantaine pour les animaux infectés .....	150
(3) Recommandations de désinfection .....	150
(4) Contrôles des entrées et sorties d'animaux .....	150
(5) Mesures de lutte contre les vecteurs.....	151
4. Impact de différentes variables sur la prévalence : saison, âge, statut physiologique et utilisation de traitements préventifs .....	151
5. Exemples de pratiques dans différentes structures .....	152
a) Ferme laitière « Camelicious ».....	152
b) Ferme du Sheikh Sultan Bin Zayed.....	153
c) Advanced Scientific Group d'Abu Dhabi.....	154
6. Discussion.....	156
a) Biais.....	156
b) Epidémiologie de la maladie .....	157
c) Diagnostic de la maladie .....	159
d) Traitement de la trypanosomose .....	161
e) Prophylaxie .....	164
7. Conclusion de l'étude épidémiologique .....	165
C. Détermination d'un protocole expérimental à mettre en place pour tester la résistance des souches de terrain à la mélarsomine aux Emirats .....	166
1. Objectifs.....	166
2. Matériel et méthode .....	166
a) Mise en évidence de souches résistantes.....	166
(1) Sélection des souches et multiplication du parasite.....	166
(2) Traitement des animaux et évaluation de la résistance.....	166
b) Détermination d'un traitement adéquat pour les souches résistantes.....	167
c) Conditions d'expérimentation.....	168
3. Conclusion sur les protocoles proposés .....	168
CONCLUSION.....	169
BIBLIOGRAPHIE .....	171
ANNEXES .....	177





# TABLE DES ANNEXES

<b>Annexe 1</b> : Caractéristiques des amorces les plus pertinentes pouvant être utilisées en PCR pour identifier <i>T. evansi</i> .....	177
<b>Annexe 2</b> : Enquête épidémiologique - questionnaire .....	179



# TABLE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Evolution possible de <i>T. evansi</i> par rapport aux autres espèces du sous-genre <i>Trypanozoon</i> .....	30
<b>Figure 2</b> : Structure fondamentale d'un trypanosome (toutes espèces).....	31
<b>Figure 3</b> : Structure fondamentale de <i>T. evansi</i> .....	31
<b>Figure 4</b> : Observation de <i>T. evansi</i> au microscope optique (x400) suite à la préparation d'une goutte de sang frais (sans coloration) .....	32
<b>Figure 5</b> : Distribution géographique de <i>T. evansi</i> en 2013.....	35
<b>Figure 6</b> : Cycle de <i>T. evansi</i> chez le dromadaire.....	38
<b>Figure 7</b> : Dromadaires parasités - forme chronique (émaciation, œdème déclive).....	42
<b>Figure 8</b> : Evolution des pics d'hyperthermie au cours d'une trypanosomose .....	45
<b>Figure 9</b> : Estimation du poids selon la formule de Schwartz .....	53
<b>Figure 10</b> : Réalisation d'une prise de sang à la veine jugulaire en ponction haute .....	55
<b>Figure 11</b> : Sites de veinoponction de la veine jugulaire chez le dromadaire .....	55
<b>Figure 12</b> : Situation géographique des Emirats Arabes Unis .....	58
<b>Figure 13</b> : Zone de désert à proximité d'Abu Dhabi .....	58
<b>Figure 14</b> : Part des différentes espèces d'élevage aux Emirats .....	59
<b>Figure 15</b> : Distribution et densité des troupeaux de dromadaires .....	60
<b>Figure 16</b> : Mâle isolé.....	60
<b>Figure 17</b> : Groupe de femelles .....	60
<b>Figure 18</b> : Exemple d'enclos présent aux Emirats.....	61
<b>Figure 19</b> : Evolution de la séroprévalence (test ELISA) de la trypanosomose chez le dromadaire aux Emirats sur 22 ans d'après les prélèvements reçus par le CVRL.....	62
<b>Figure 20</b> : Préparation de gouttes de sang frais d'animaux suspects pour analyse microscopique .....	66
<b>Figure 21</b> : Frottis coloré observé au microscope optique (x1000) mettant en évidence le parasite....	67
<b>Figure 22</b> : Frottis sanguin et goutte épaisse .....	67
<b>Figure 23</b> : Dispositif d'examen du <i>buffy coat</i> par observation microscopique .....	68
<b>Figure 24</b> : Montage pour examen direct du <i>buffy coat</i> .....	69
<b>Figure 25</b> : Dépôt du <i>buffy coat</i> sur une lame.....	70
<b>Figure 26</b> : Principe de l'IFI.....	75
<b>Figure 27</b> : Visualisation de trypanosomes par immunofluorescence indirecte .....	75
<b>Figure 28</b> : Flacon de Cymelarsan® .....	87
<b>Figure 29</b> : structure de la mélarsomine (sous forme de dichlorhydrate) .....	88
<b>Figure 30</b> : Spectres ultra-violet visible et de fluorescence du dichlorhydrate de mélarsomine réalisés immédiatement après dissolution dans l'eau et après 114h .....	89
<b>Figure 31</b> : Structure de l'acéturate de diminazène.....	93
<b>Figure 32</b> : Spectre UV du diminazène et de la phénazone dans une solution aqueuse .....	93
<b>Figure 33</b> : Exemple de présentation des trypanocides à base de diminazène .....	96

<b>Figure 34</b> : Structure du sulfate et chlorure de quinapyramine .....	97
<b>Figure 35</b> : Spectre UV-visible de la quinapyramine dissoute dans l'eau.....	97
<b>Figure 36</b> : Exemples de présentation de trypanocides à base de quinapyramine .....	99
<b>Figure 37</b> : Structure du chlorure d'isoméamidium.....	100
<b>Figure 38</b> : Exemple de présentation de traitement à base d'isoméamidium, le Trypano-Forte® .....	102
<b>Figure 39</b> : Principe d'un traitement préventif réitéré - concentration en fonction du temps .....	107
<b>Figure 40</b> : Exemples d'insecticides utilisés aux Emirats .....	110
<b>Figure 41</b> : Aspersion de cyperméthrine sur des dromadaires à leur arrivée au centre de l'Advanced Scientific Group d'Abu Dhabi .....	110
<b>Figure 42</b> : Piège de type <i>Nzi</i> .....	111
<b>Figure 43</b> : Piège de type <i>Vavoua</i> .....	111
<b>Figure 44</b> : Exemple de piège à insectes utilisé aux Emirats.....	112
<b>Figure 45</b> : exemple de zone de quarantaine séparée du reste du troupeau .....	113
<b>Figure 46</b> : régions étudiées au travers du questionnaire.....	125
<b>Figure 47</b> : Exemple de pharmacie visitée pour le remplissage du questionnaire.....	125
<b>Figure 48</b> : Taux de prévalence estimé par les vétérinaires interrogés.....	126
<b>Figure 49</b> : Taux de prévalence estimé par zone .....	126
<b>Figure 50</b> : Evolution de la prévalence actuellement .....	127
<b>Figure 51</b> : Evolution de la prévalence actuellement selon les zones.....	127
<b>Figure 52</b> : Influence de la saison sur la prévalence.....	128
<b>Figure 53</b> : Influence de la saison sur la prévalence en fonction des zones étudiées .....	128
<b>Figure 54</b> : Influence du sexe sur la prévalence .....	129
<b>Figure 55</b> : Tranches d'âges touchées par la trypanosomose .....	129
<b>Figure 56</b> : Tranches d'âges touchées par la trypanosomose selon les zones étudiées .....	130
<b>Figure 57</b> : Influence du statut physiologique sur la survenue de la maladie.....	130
<b>Figure 58</b> : Autres affections potentiellement associées à la trypanosomose.....	131
<b>Figure 59</b> : Autres affections potentiellement associées à la trypanosomose selon les zones étudiées.....	131
<b>Figure 60</b> : Fréquence de réalisation d'examen complémentaires.....	133
<b>Figure 61</b> : Types d'examen complémentaires réalisés .....	133
<b>Figure 62</b> : Critères de confirmation d'infection par <i>Trypanosoma evansi</i> .....	134
<b>Figure 63</b> : Changements récents dans l'épidémiologie de la maladie .....	134
<b>Figure 64</b> : Intervalle de temps entre le prélèvements et l'analyse de l'échantillon.....	135
<b>Figure 65</b> : Détail des produits commerciaux utilisés pour le traitement d'une infection à <i>T. evansi</i> chez le dromadaire.....	136
<b>Figure 66</b> : Autres traitements associés au trypanocide en cas de trypanosomose.....	139
<b>Figure 67</b> : Taux de réinfections ou résistance au traitement estimé par les vétérinaires interrogés..	140
<b>Figure 68</b> : Taux de réinfections ou résistance au traitement estimé par les vétérinaires interrogés par zone .....	140
<b>Figure 69</b> : Trypanocides utilisés en seconde intention face à un cas résistant.....	141

<b>Figure 70</b> : Nombre de traitements réalisés au total dans le cas de réinfections ou résistances .....	143
<b>Figure 71</b> : Nombre de traitements réalisés au total dans le cas de réinfections ou résistances, par zone .....	143
<b>Figure 72</b> : Délai entre suspicion d'infection et traitement.....	145
<b>Figure 73</b> : Signes cliniques retrouvés en cas d'infection létale .....	146
<b>Figure 74</b> : Effets secondaires rencontrés lors d'utilisation de la mélarsomine en course.....	147
<b>Figure 75</b> : Sticker certifiant l'authenticité du produit.....	148
<b>Figure 76</b> : Molécules utilisées en préventif.....	148
<b>Figure 77</b> : Méthodes de lutte vectorielle utilisées .....	151
<b>Figure 78</b> : Processus d'entrée d'un dromadaire dans la structure .....	155
<b>Figure 79</b> : Agglutinat de parasite dans échantillon sanguin après plusieurs heures (examen au microscope optique d'une goutte épaisse) .....	161



# TABLE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Classification phylogénétique proposée de <i>Trypanosoma evansi</i> .....	27
<b>Tableau II</b> : Classification phylogénétique proposée de <i>Camelus dromedarius</i> .....	50
<b>Tableau III</b> : Paramètres hématologiques du dromadaire adulte .....	56
<b>Tableau IV</b> : Paramètres biochimiques et ionogramme d'un dromadaire adulte.....	57
<b>Tableau V</b> : tableau récapitulatif des techniques parasitologiques.....	73
<b>Tableau VI</b> : Techniques sérologiques utilisables dans le diagnostic de la trypanosomose à <i>T. evansi</i> .....	80
<b>Tableau VII</b> : Propriétés des techniques PCR les plus adaptées dans la détection de <i>T. evansi</i> .....	83
<b>Tableau VIII</b> : Statut d'un animal suspect de trypanosomose à <i>T. evansi</i> en fonction des résultats des tests effectués .....	84
<b>Tableau IX</b> : Résumé des caractéristiques des trypanocides actuellement recommandés dans le traitement de la trypanosomose à <i>T. evansi</i> chez le dromadaire .....	103
<b>Tableau X</b> : Résistances croisées entre différents trypanocides.....	120
<b>Tableau XI</b> : Résumé des différents protocoles utilisés en première intention dans le traitement de la trypanosomose à <i>T. evansi</i> chez le dromadaire .....	137
<b>Tableau XII</b> : Résumé des protocoles utilisés en seconde intention face à un cas résistant .....	142
<b>Tableau XIII</b> : moyennes de traitements réalisés au total en fonction des molécules de première et seconde intention utilisées .....	144
<b>Tableau XIV</b> : Exemples de protocoles utilisés en course avec la mélarsomine .....	146
<b>Tableau XV</b> : Résumé des protocoles utilisés en préventif face à la trypanosomose .....	149
<b>Tableau XVI</b> : Tableau croisé de l'influence de la saison, la tranche d'âge, le statut physiologique et l'utilisation de traitements préventifs sur la prévalence de la maladie.....	152





# LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique	IL : interleukine
AFLP : Amplified Restriction Fragment Length Polymorphism	IM : intramusculaire
ALAT : alanine aminotransférase	IM directe/IM concentration : identification microscopique directe/après concentration
AMM : autorisation de mise sur le marché	ISSR : Inter Sequence Simple Repeat
ApoL-1 : Apolipoprotéine L-1	ITS : Internal Transcribed Spacer region
ARN : acide ribonucléique	IV : intravasculaire
ASAT : aspartate aminotransférase	J.-C. : Jésus-Christ
ASG : Advanced Scientific Group	J0/J15... : jour 0/ jour 15...
ASSURED : Affordable, Sensitive, Specific, User-friendly, Robust and Rapid, Equipment-free, Deliverable to end users	K : potassium
Ca : calcium	LAMP : loop-mediated amplification technique
CATT : Card agglutination test	LCR : liquide céphalo-rachidien
Ccl : chémokine ligand	LDH : lactate déshydrogénases
CCMH : concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine	LogP : coefficient de partage octanol/eau
CD : cluster of differentiation	maECT : minianion exchange centrifugation technique
CIRAD : Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement	MCT : Mercuric chloride test
CIVD : coagulation intravasculaire disséminée	MDA : malondialdéhyde
CK : créatine kinases	mHCT : microHematocrit Centrifugation Technique
Cl : chlore	MI : mouse inoculation
CVRL : Central Veterinary Research Laboratory	Na : sodium
DDT : dichlorodiphényltrichloroéthane	NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
DEAE-cellulose : diéthyl amino-ethyl cellulose	NO : monoxyde d'azote
DFMO : difluorométhylornithine	NR : non répondu
DG/BCM : Darkground/ <i>buffy coat</i> methode	OIE : organisation mondiale de la santé animale
Dr : docteur	O <sub>2</sub> <sup>-</sup> : ion superoxyde
EAU : Emirats Arabes Unis	P : phosphore
EDTA : Éthylènediaminetétraacétique	PAL : phosphatases alcalines
ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay	pb : paires de bases
ESAGs : Expression-Site-Associated Genes	PBS : phosphate buffered saline
<i>et al.</i> : <i>et alumni</i>	PCR : polymerase chain reaction
<i>etc.</i> : <i>et cetera</i>	PSG : phosphate buffered saline glucose
Fc : fragment cristallisable	PT : protéines totales
Fig. : figure	RCP : résumé des caractéristiques du produit
FIV : fécondation <i>in vitro</i>	SC : sous-cutané
GGT : gammaglutamyl-transférases	SDH : succinate déshydrogénases
GP : glycoprotéine	SH : groupement sulfhydryle
HCT : Hematocrit Centrifugation Technique	<i>spp.</i> : <i>species pluralis</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : peroxyde d'hydrogène	Tab. : tableau
IFAT : Indirect immunofluorescence antibody test	TCMH : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine
IFI : immunofluorescence indirecte	TL : Immune trypanolysis test
IFN- $\gamma$ : interféron gamma	TNF- $\alpha$ : tumor necrosis factor alpha
Ig : immunoglobuline	tpm : tours par minute

TSIF : Trypanosome-Suppressive  
Immunomodulating Factor  
Th : T helper  
UV : ultraviolet  
VGM : volume globulaire moyen

VPN : valeur prédictive négative  
VPP : valeur prédictive positive  
VSG : Variant Surface Glycoprotein  
WBF : wet blood film  
WCL : whole cell lysate

# INTRODUCTION

La trypanosomose à *Trypanosoma evansi* est une protozoose infectieuse affectant un grand nombre de mammifères, à répartition mondiale. Son mode de transmission principal est horizontal via des vecteurs mécaniques, essentiellement des insectes piqueurs hématophages comme les tabanidés. Ce trypanosome est assez pathogène et virulent comparé à d'autres espèces. Bien que quelques cas humains aient été rapportés, cette maladie n'est pas considérée comme une zoonose.

*Trypanosoma evansi* est le premier trypanosome identifié comme agent pathogène de mammifères par Griffith Evans chez des équidés et dromadaires dans le district de Dara Ismail Khan dans la région du Pendjab en Inde. Il a été décrit pour la première fois par John Henry Steel en 1885 et fit l'objet d'une seconde description plus détaillée en 1888 par Edouard-Gérard Balbiani (1–3).

Cette affection souvent chronique est nommée communément « surra » en Asie (« pourri » en Indi désignant l'état de l'animal après une infection chronique) (3,4), « zamboor » aux Emirats Arabes Unis, « el debab » pour « maladie de la mouche » en Afrique du Nord, « gufar » au Soudan, « mal de caderas » au Brésil, « derrengadera » au Venezuela ou encore « murrina » en Amérique Centrale. Elle porte plus de 30 noms différents à travers le monde (3,5–7).

La trypanosomose à *T. evansi* est la maladie parasitaire la plus importante et la plus étendue chez le dromadaire. Elle est également hautement pathogène chez le cheval et le chien et soulève d'importants problèmes économiques chez le buffle d'Asie (5).

Cette maladie est d'une importance non négligeable en élevage, du fait de sa large distribution géographique, des nombreuses espèces hôtes concernées, des différents modes d'élevage touchés, des signes cliniques possiblement rencontrés et des pertes économiques engendrées. En effet, elle peut entraîner des taux importants de morbidité (jusqu'à 30%) et de mortalité (environ 3% mais peut atteindre 20% dans certains cas (8)), une diminution de la capacité de travail, une chute des productions animales (lait, dépréciation de la carcasse), des problèmes de reproduction (avortements, infertilité) et une immunodépression (1,2,9,10).

Elle représente une perte financière importante, dont l'estimation exacte n'a pas encore été réalisée, empêchant la prise de conscience permettant la mise en place de mesures de lutte plus efficaces (2). Elle soulève également un important problème social dans les zones d'endémie, où des éleveurs dépendent de leur troupeau pour parvenir à subvenir aux besoins de leur famille, notamment en Amérique Latine (11). Cette maladie est actuellement classée parmi les vingt maladies ayant le plus grand impact sur les populations pauvres (2) et est considérée comme la plus importante des maladies de troupeaux chez le dromadaire, d'un point de vue économique (1). Ces pertes financières pourraient être réduites en adoptant une stratégie efficace de contrôle de la maladie, le traitement étant rentable d'après Desquesnes *et al.* (10).

Le surra a ainsi attiré l'attention des autorités sanitaires internationales depuis plusieurs années (symposium 19-22 août 1998, Japon) (1), et a été ajouté en 2008 à la liste des maladies ayant un impact sur le commerce international de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE), montrant l'importance du développement des méthodes de lutte et de contrôle de la maladie (2).

Au vu de la multiplicité des vecteurs mécaniques possibles et des différentes voies de transmission de la maladie, les stratégies de lutte actuellement utilisées passent

essentiellement par l'utilisation de molécules trypanocides. Néanmoins, des phénomènes de résistance à ces traitements ont été rapportés partout dans le monde, vis-à-vis de toutes les molécules existantes, ce qui risque de poser un problème de taille dans les années à venir quant aux possibilités de lutte contre le parasite, si aucune alternative n'est proposée. Malheureusement, au niveau mondial, le développement de nouveaux trypanocides est trop coûteux et le retour sur investissement insuffisant pour les laboratoires pharmaceutiques (12), en conséquence aucune nouvelle molécule n'a été développée depuis la mise sur le marché de la mélarsomine (Cymelarsan<sup>®</sup>) en 1985.

Les dromadaires sont notamment utilisés pour les courses et conservés de manière traditionnelle aux Emirats Arabes Unis. La trypanosomose à *Trypanosoma evansi* est donc un problème récurrent dans les élevages et la mélarsomine est un des médicaments principalement utilisés pour lutter contre la maladie. Cependant, des inefficacités de traitement et récurrences d'infections ont commencé à voir le jour depuis plusieurs années avec tous les trypanocides, en particulier avec la mélarsomine, molécule la plus récente et première recommandée chez le dromadaire.

Cette étude vise à analyser la situation particulière de la trypanosomose à *T. evansi* chez le dromadaire aux Emirats Arabes Unis, dans ce contexte de possible développement de résistance à la mélarsomine.

Après une synthèse bibliographique sur la trypanosomose à *T. evansi* chez le dromadaire, nous déterminerons d'abord la situation épidémiologique actuelle de la maladie, ainsi que les méthodes diagnostiques, thérapeutiques et prophylactiques utilisées aux Emirats Arabes Unis, afin de mettre éventuellement en lumière des pratiques qui pourraient favoriser l'apparition de cas de résistance ou réinfection. Dans un second temps, un protocole expérimental sera proposé dans le but d'objectiver l'existence d'une résistance réelle de certaines souches de *T. evansi* à la mélarsomine.

# I. La trypanosomose à *Trypanosoma evansi* chez *Camelus dromedarius* : étude bibliographique

## A. Agent étiologique : *Trypanosoma evansi*

### 1. Taxonomie

Basée sur des critères morphologiques, biologiques et moléculaires, la classification actuelle pour tenter de caractériser *T. evansi* n'est pas encore satisfaisante ni complètement élucidée. Une proposition de classification est rapportée dans le Tableau I.

Tableau I : Classification phylogénétique proposée de *Trypanosoma evansi*, construite d'après (3,13–18)

<b>Domaine</b>	Eukaryota
<b>Règne</b>	Protozoa
<b>Sous-règne</b>	Eozoa
<b>Embranchement</b>	Euglenozoa
<b>Classe</b>	Kinetoplastea
<b>Sous-classe</b>	Métakinétoplastina
<b>Ordre</b>	Trypanosomatida
<b>Famille</b>	Trypanosomatidae
<b>Genre</b>	<i>Trypanosoma</i>
<b>Sous-genre</b>	<i>Trypanozoon</i>
<b>Espèce</b>	<i>Trypanosoma evansi</i>

La distinction entre Bikonta et Unikonta est très discutée actuellement, et n'a pas été rapportée dans la classification choisie. Le règne des protistes, en raison du caractère polyphylétique de ce taxon, a aujourd'hui été séparé en différents taxons (Chromista et Protozoa). Les Euglenozoa étaient compris dans l'ancienne classification dans le taxon des Excavata, mais sont aujourd'hui classés dans un embranchement distinct. Le sous-embranchement auquel appartient *T. evansi* fait encore débat et est en attente de classification (3,13–18).

Une autre classification possible et actuellement débattue diffère de celle proposée par l'embranchement (Sarcomastigophora), le sous-embranchement (Mastigophora) et la classe (Zoomastigophorea) (14,19).

Il existe deux groupes au sein du genre *Trypanosoma* : les *Stercoraria* qui se développent en partie postérieure du tube digestif du vecteur, et les *Salivaria*, qui se développent en partie antérieure du tube digestif, dont *T. evansi* fait partie (3).

Parmi le genre *Trypanosoma*, on notera notamment l'espèce *Trypanosoma cruzi*, responsable de la maladie de Chagas chez l'Homme, présente en Amérique du Sud et touchant plusieurs millions de personnes dans le monde.

Les sous-genres existant chez les *Salivaria* sont le sous-genre *Nannomonas*, comptant les espèces *T. congolense* et *T. simiae*, le sous-genre *Duttonella*, comprenant les espèces *T. vivax* et *T. uniforme*, et le sous-genre *Trypanozoon* (3).

*T. evansi* fait partie du sous-genre *Trypanozoon*, avec *T. equiperdum* et *T. brucei*, ce dernier comprenant 3 sous-espèces (*T. b. brucei*, *T. b. rhodesiense* et *T. b. gambiense*). *T. brucei* est responsable de la trypanosomose africaine humaine ou maladie du sommeil et *T. equiperdum* est l'agent de la dourine chez le cheval (2).

Sa distinction avec *T. equiperdum* est parfois remise en question, la différenciation entre les deux espèces étant impossible à ce jour, celle-ci se faisant principalement sur leurs différences de tropismes et espèces hôtes préférentielles, suggérant une origine commune assez récente (20). La plupart des auteurs rapportent une grande homogénéité au sein du sous-genre *Trypanozoon* ainsi qu'au sein de l'espèce *T. evansi* (2,7,21), mais les souches de cette espèce peuvent être assez hétérogènes (21). Certains auteurs suggèrent de considérer *T. evansi* comme une sous-espèce de *T. brucei* (2) mais Desquesnes *et al.* (3) et Wen *et al.* (20) considèrent que les différences biologiques, écologiques et médicales entre *T. evansi* et *T. brucei* sont suffisamment importantes pour ne pas changer la taxonomie actuelle et éviter les confusions (3,6,13).

## 2. Origine

Une hypothèse, avancée en 1972 par Hoare, suggère que le parasite dérive de *T. brucei* (1,7,13,22) et a perdu une partie de l'ADN mitochondrial du kinétoplaste. *T. evansi* aurait perdu la totalité des maxicercles d'ADN et aurait perdu la diversité des séquences des minicercles d'ADN par rapport à *T. brucei*. Le parasite est donc incapable d'effectuer un développement mitochondrial (1,3).

La perte totale des maxicercles d'ADN est discutable, car on retrouve des souches (comme la souche TEVA1), qui n'ont perdu qu'une grande partie de ces maxicercles. Ces souches seraient probablement intermédiaires entre *T. brucei* et *T. evansi* et leur classification au sein du groupe *Trypanozoon* est encore débattue (19,23).

Les maxicercles d'ADN (il y en a plusieurs dans un parasite, d'une taille supérieure à 20 kpb (23)) contiennent des gènes permettant le développement mitochondrial nécessaire au développement et à la différenciation des parasites dans l'insecte vecteur biologique pour la plupart des trypanosomes (pas pour *T. evansi* qui en est dépourvu et ne peut se développer dans un vecteur biologique), tandis que les minicercles d'ADN, encodent l'ARN nécessaire à la post-transcription des éléments transcrits de maxicercles d'ADN (22).

Les espèces du sous-genre *Trypanozoon* contiennent environ 5 000 à 10 000 minicercles d'ADN mitochondrial, d'environ 1 000 pb chacun (23). Les minicercles d'ADN des souches de *T. evansi* sont relativement homogènes, avec une faible hétérogénéité, ce qui les distingue de celles de *T. brucei* qui contiennent des séquences de minicercles d'ADN très diverses. Deux principaux variants de minicercles d'ADN sont actuellement distingués : le type A et le type B, plus rare et trouvé actuellement chez le dromadaire seulement, avec une différence d'isoenzymes. La rareté du type B pourrait s'expliquer par l'existence d'une niche écologique plus restreinte pour ces souches ou une apparition plus récente du type B par rapport au type A (22).

Certaines souches, notamment en Amérique du Sud, ont complètement perdu l'ADN mitochondrial du kinétoplaste : ces souches sont dites akinétoplastiques ou dyskinétoplastiques. L'apparition de telles formes pourrait être favorisée par certains trypanocides (3,8,22).

Il existe aussi des souches dyskinétoplastiques ou akinétoplastiques chez *T. equiperdum*, renforçant le sentiment que ces deux espèces sont très proches phylogénétiquement et d'apparition relativement récente au sein du groupe *Trypanozoon* (20).

L'étude de Wen *et al.* (20) montre d'autres caractéristiques génétiques communes aux souches de *T. evansi* et *T. equiperdum* étudiées, sans que ces caractéristiques soient retrouvées chez *T. brucei*. Ceci ajouté à la grande diversité des souches de *T. brucei* existantes, les auteurs suggèrent qu'une mutation génétique (concernant la région ITS-2 (Internal Transcribed Region 2) de l'ADN ribosomal notamment) a pu avoir lieu avant la distinction de *T. evansi* et *T. equiperdum*.

L'hypothèse selon laquelle *T. evansi* dériverait de *T. brucei* suggère qu'un passage rapide en série du parasite entre des dromadaires via des insectes piqueurs aurait permis d'accroître la virulence de *T. brucei* chez le dromadaire, mais aurait également provoqué une adaptation morphologique du parasite qui aurait perdu ses caractéristiques polymorphiques pour ne garder qu'une forme longue et dans le même temps aurait perdu sa capacité à se développer dans un vecteur biologique comme la glossine. Sa transmission par des insectes piqueurs aurait probablement permis de sélectionner les parasites les plus aptes à être transmis mécaniquement (3,8,24), et ainsi le trypanosome se serait adapté à des vecteurs non habituels dans la transmission de *T. brucei*, dont l'aire de répartition reste cantonnée aux zones où sont présentes les glossines, permettant à *T. evansi* de sortir de la Corne de l'Afrique et de se propager à l'Inde puis à l'Asie plus largement, plusieurs siècles avant J.-C. selon certains auteurs, il y a quelques centaines d'années seulement selon d'autres (7).

Certains auteurs suggèrent aujourd'hui que la dérive génétique de *T. brucei* vers *T. evansi* aurait pu se produire plusieurs fois, à différentes localisations, formant un groupe de parasites aux caractères communs, tandis que d'autres supportent une origine unique aux différentes souches de *T. evansi*, ayant identifié chez ce parasite un gène synapomorphique (le gène Te664, révélé par des études d'amplification aléatoire d'ADN) (2,3,6). Antoine-Moussiaux *et al.* (2) considèrent qu'une émergence continue ne pourrait se faire que dans la zone de répartition de *T. brucei*, ce qui ne correspond que très partiellement à la répartition globale de *T. evansi* actuellement.

Un arbre phylogénétique partiel expliquant l'évolution de ces parasite est proposé en [Figure 1](#).

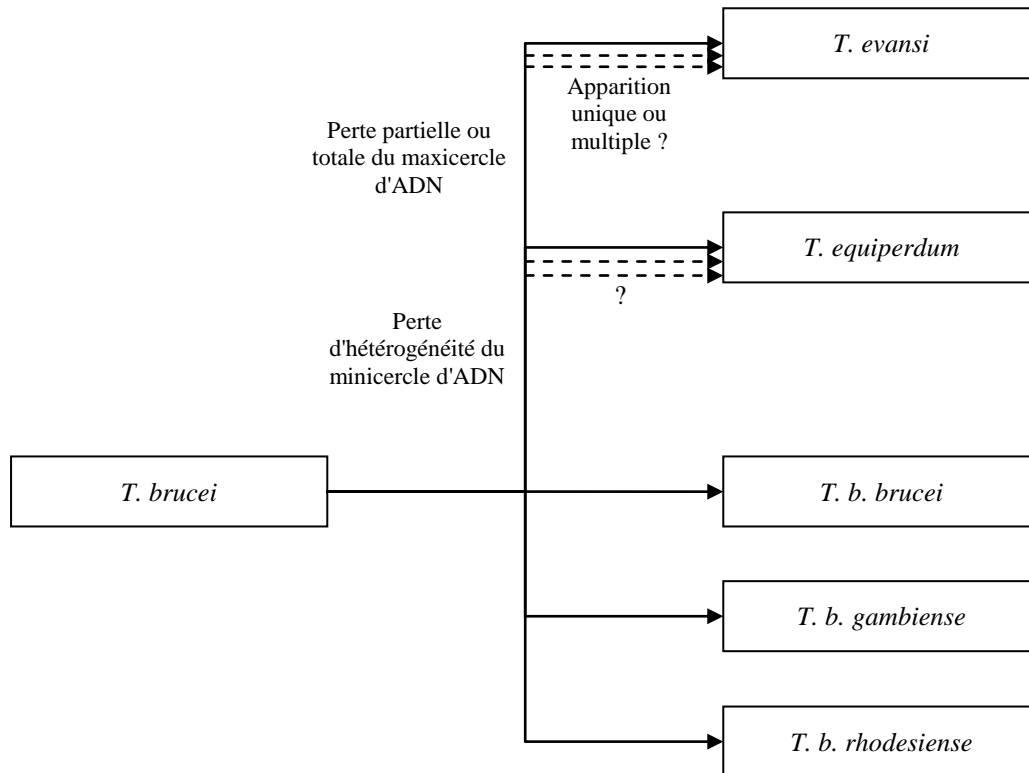


Figure 1 : Evolution possible de *T. evansi* par rapport aux autres espèces du sous-genre *Trypanozoon*, modifiée d'après Desquenes et al. (3)

### 3. Caractéristiques morphologiques

*Trypanosoma evansi* est un parasite unicellulaire, sanguin et tissulaire, extracellulaire, essentiellement monomorphe trypomastigote.

Il mesure 24  $\mu\text{m}$  de long en moyenne (15-33  $\mu\text{m}$ ) sur 2,8 (3-5  $\mu\text{m}$ ) de large. Son allure fusiforme avec une extrémité postérieure pointue est semblable aux formes longues de *T. brucei*. Bien que des formes intermédiaires et courtes peuvent être parfois observées, celles-ci restent rares et sont plus ou moins à mettre en relation avec le développement du parasite chez son hôte et la réponse immunitaire de ce dernier.

Il est composé en particulier d'un kinétoplaste (ou blépharoplaste plus précisément) (absent chez certaines souches), de petite taille (0,6  $\mu\text{m}$ ), correspondant à une structure particulière aux kinétoplastidés, composée d'ADN mitochondrial circulaire. C'est un organe jouant un rôle dans la production d'énergie (25). Il est situé en partie postérieure de la cellule (jusqu'à 4  $\mu\text{m}$  de l'extrémité postérieure) et adjacent au corps parabasal, qui a d'importantes fonctions métaboliques et de reproduction pour le parasite. Un unique flagelle est présent, commençant à l'extrémité postérieure du corps parabasal et se prolongeant sur l'extrémité antérieure du parasite jusqu'à former une partie libre courte (3-5  $\mu\text{m}$ ) en avant de la cellule. Une membrane ondulante très développée, se situe entre la paroi cellulaire et le flagelle et présente 3 à 5 circonvolutions. Son noyau est central (dans de rares cas, il peut être postérieur). On peut parfois trouver des granulations dans le cytoplasme, dites granules de volutine, dont le rôle est encore non élucidé mais pouvant correspondre à une forme de stockage ou une réaction entre le parasite et le système immunitaire de son hôte (3,7,13,26) ([Fig. 2, 3 et 4](#)).



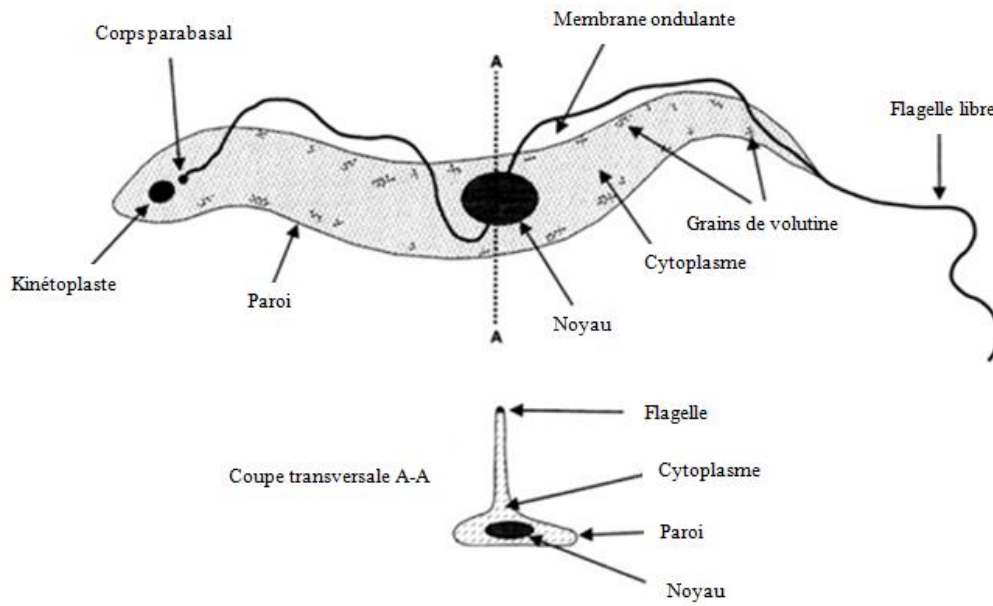


Figure 2 : Structure fondamentale d'un trypanosome (toutes espèces) d'après Uilenberg (13)

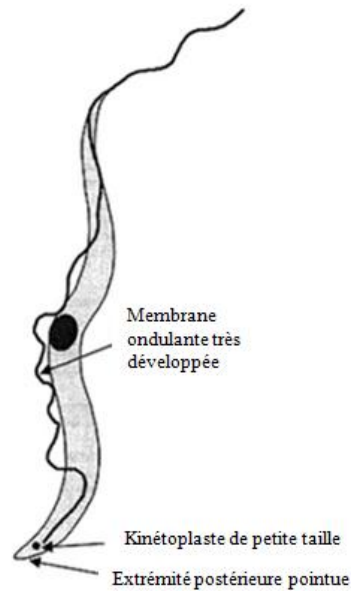


Figure 3 : Structure fondamentale de *T. evansi*, modifiée d'après Uilenberg (13)

Le parasite se déplace grâce aux mouvements de sa membrane ondulante et de son flagelle. Ses mouvements sont rapides mais ses déplacements sont limités par rapport à d'autres espèces (3,7,13,26).

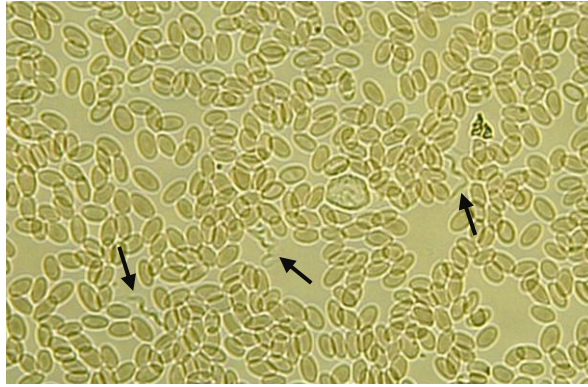


Figure 4 : Observation de *T. evansi* au microscope optique (x400) suite à la préparation d'une goutte de sang frais (sans coloration) (cliché J. Merlin), légende : les trypanosomes sont indiqués par les flèches

#### 4. Quelques notions de physiologie chez *T. evansi*

La reproduction du parasite est asexuée, et assurée par une fission binaire longitudinale : le kinétoplaste se divise en premier, suivi du corps parabasal et du flagelle, suivi du noyau et du reste du cytoplasme, puis la scission entre les deux nouvelles cellules débute par la partie antérieure du parasite. Ce processus est rapide (3,7,13,26).

*T. evansi* possède des récepteurs à la transferrine, servant à capter le fer de son hôte pour son développement, qui sont basés sur un gène polymorphe, lui permettant de s'adapter à un large spectre d'espèces hôtes (21).

Le parasite pourrait également être capable d'échanger du matériel génétique avec d'autres trypanosomes, comme cela a été démontré chez *T. brucei*, permettant d'augmenter l'hétérogénéité des séquences des minicercles d'ADN kinétoplastique et ainsi d'élargir le répertoire des glycoprotéines de surface exprimées par le parasite notamment. Cette hypothèse n'a pas été confirmée actuellement (21,27).

#### 5. Epidémiologie

Cette maladie revêt un aspect différent selon l'espèce hôte, l'individu, le vecteur ou mode de transmission, ou encore la région considérés. Tous ces facteurs, hautement variables, en font une affection dont l'épidémiologie est extrêmement complexe (10).

##### a) Notion de prévalence : études contradictoires

Le taux de prévalence de la maladie a été calculé dans plusieurs pays : au Nigeria (27%), Tchad (30% en 1980), Mauritanie (24% en 1997), Niger (29% en 2001), Kenya (26% en 2004) (28), Ethiopie (21% en 2001), Jordanie (33% en 2000), Inde (17,05% en 2002), Soudan (33% en 1999), Iran (10% en 2001), Egypte (4,7% en 2010 d'après Amer *et al.* (21) mais de 1,7 à 80% selon les études, probablement en raison de méthodes de détection différentes, saison, ou région concernées par l'étude), Inde (17,05% en (2002) (29)), Amérique du Sud (27% en 1994 chez les capybaras porteurs sains), ou encore dans les provinces de Tafilalet et Ouarzazate au Maroc (35,4 et 43,3%, respectivement en 2003) (1).

La prévalence est déterminée par des facteurs liés au dromadaire (sexe, âge, statut physiologique, stress, immunodépression, surmenage, race, autre affection intercurrente), au vecteur (espèce, taille, aire de répartition, période d'activité, densité dans la zone considérée), au parasite (virulence, changement d'antigènes de surfaces, résistance, persistance dans des sites refuges), à l'environnement (conduite d'élevage, climat, saison, présence d'autres espèces hôtes sensibles, réservoirs, porteurs sains et la probabilité de contact entre le vecteur et l'hôte).

### (1) *Facteurs liés à l'hôte*

La prévalence semble plus élevée chez les animaux au score corporel faible, le stress nutritionnel (restriction hydrique et alimentaire pour les dromadaires en saison sèche), un animal surmené ou tout autre état de faiblesse ou de déficit métabolique (affection intercurrente, gestation, lactation, stress, usage pour le tourisme...) pouvant prédisposer un individu à une infection par le parasite, ajouté à l'effet direct du parasite qui favorise un mauvais état général (2,8).

Ainsi, les signes cliniques sont plus souvent remarqués à la saison sèche, à cause de facteurs tel que le stress nutritionnel (diminution des apports en qualité et quantité), qui va diminuer les défenses de l'animal à cette période, même s'il s'est infecté pendant la saison des pluies (13).

De la même manière, dans l'étude de Berlin *et al.* (30), les animaux infectés et symptomatiques étaient des animaux aux besoins métaboliques accrus (femelles gestantes ou en lactation, jeunes en croissance).

Toutes les classes d'âges peuvent être touchées, mais la prévalence est en général plus importante chez les dromadaires plus âgés : le temps d'exposition aux vecteurs est plus long que chez les individus jeunes (effet cumulatif), et la séroprévalence plus élevée peut refléter la persistance d'anticorps suite à des infections passées (2,28). De plus, les jeunes sont généralement plus surveillés et protégés que les adultes vis-à-vis des maladies (28).

On retrouve en revanche un pic de prévalence chez des jeunes juste après le sevrage (3,8), et dans l'étude de Singh *et al.* (29), la prévalence est la plus élevée chez les animaux de moins de 5 ans. Ceci peut s'expliquer par une sensibilité accrue après la diminution du taux d'anticorps maternels (à partir de 3 semaines d'âge) chez le jeune associée à la période de transition du sevrage.

La prévalence au-delà de 10 ans est contradictoire selon les études : elle diminuerait d'après certains auteurs, expliquant le phénomène par une mort précoce des animaux infectés ainsi qu'une vente des animaux faibles et vieillissants par les éleveurs (2), tandis qu'elle augmenterait encore après 10 ans selon d'autres (14).

L'influence du sexe donne des résultats contradictoires : plusieurs études, dont celle de Fikru *et al.* (31), montrent une prévalence accrue chez les femelles (14), tandis qu'une étude au Kenya montre une prévalence accrue chez les mâles avec un risque 2,6 fois supérieur aux femelles d'être infectés bien que les auteurs ne trouvent pas de différence de séroprévalence entre les sexes (28). Une différence dans les pratiques d'élevage pourrait peut-être expliquer la variabilité de ces données (2).

Il existe des races ou lignées trypanotolérantes chez les bovins, mais ce phénomène n'est pas rapporté chez le dromadaire à notre connaissance.

## (2) *Facteurs liés au vecteur et à l'environnement*

On retrouve des saisons à risques, correspondant aux saisons où le vecteur est plus actif, celui-ci étant influencé grandement par les changements climatiques.

La prévalence semble plus élevée de manière générale pendant la saison des pluies (31). Dans les régions arides et semi-arides, comme aux Emirats Arabes Unis, l'abondance de vecteurs n'existerait qu'en fin de saison des pluies. Cependant, ce constat est parfois controversé selon le pays étudié, montrant que le lien entre saisonnalité et risque infectieux accru varie selon la région considérée, d'autres facteurs rentrant probablement en jeu (2).

La possibilité de transmission du parasite dépend de la parasitémie et du nombre, de la taille (dont dépend le volume de sang possiblement ingéré) et de la densité d'insectes vecteurs présents dans la zone considérée (10).

La conduite d'élevage constitue un facteur de risque non négligeable. Des animaux situés à proximité d'une oasis dans le cas d'élevages sédentaires ou nomades, des élevages mixtes, le regroupement d'animaux autour de points d'eau en saison sèche... favorisent tantôt un contact avec le vecteur ou entre animaux hôtes et réservoirs. Les élevages nomades semblent davantage à risque selon différentes études, pouvant s'expliquer par la multiplicité des points d'eau rencontrés, le statut nutritionnel parfois inférieur à des animaux sédentaires ou encore l'accès plus difficile à des trypanocides (2).

La transmission du parasite sera d'autant plus importante si le troupeau est à l'extérieur aux heures de la journée où le vecteur est le plus actif.

Pour les troupeaux effectuant une transhumance ou nomades, le passage en zones à risques favorisera également la transmission, ajouté à la plus grande faiblesse des animaux transhumants.

La prévalence est diminuée chez les animaux proches des villes, probablement à cause de la surveillance accrue des individus, un accès aux trypanocides facilité, ou un meilleur entretien des animaux par exemple (29).

L'historique des trypanocides utilisés individuellement n'a pas d'impact sur cette prévalence (31).

### **b) Distribution géographique**

*Trypanosoma evansi* a la répartition géographique la plus large parmi celles des trypanosomes existants. Il est présent mondialement, en zones tropicales et subtropicales, mais peut aussi se retrouver dans des déserts arides ou des steppes semi-arides, à la fois en Afrique (au nord de l'équateur), au Moyen-Orient, en Inde, au Sud de la Sibérie, en Chine et au Sud-Est de l'Asie notamment en Indonésie, dans les zones tropicales d'Amérique Centrale et du Sud, du Panama à l'Argentine (5,13) (Fig. 5).

Cette répartition mondiale peut s'expliquer par l'existence de nombreuses espèces hôtes et réservoirs, son expression subclinique dans certaines espèces, la multiplicité des vecteurs mécaniques et la présence de porteurs sains (2,3).

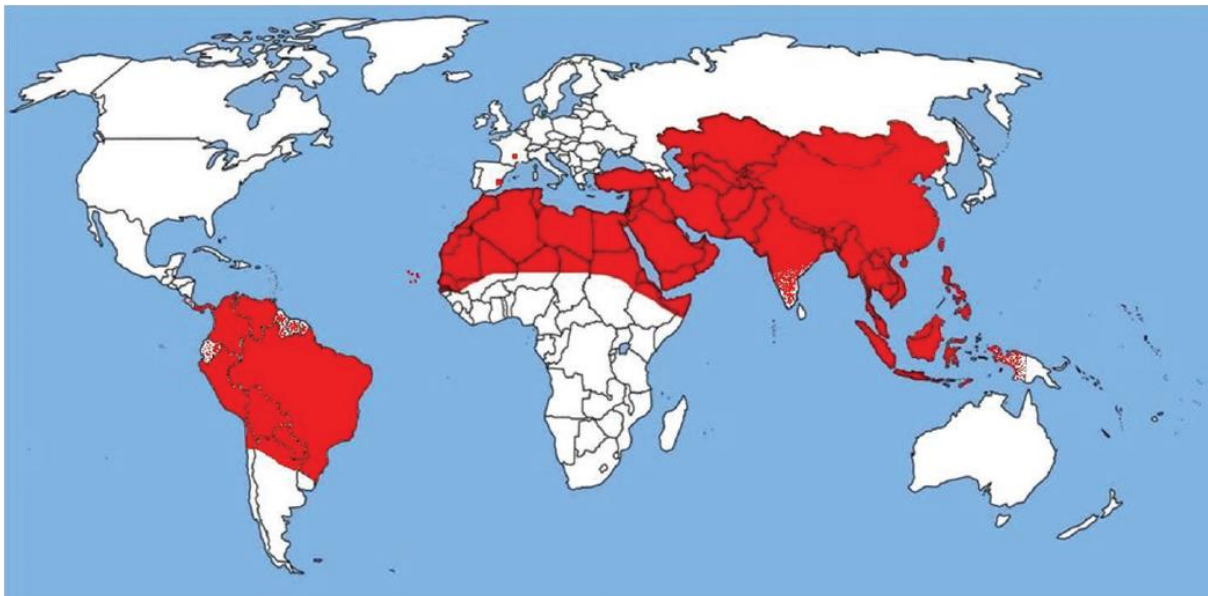


Figure 5 : Distribution géographique de *T. evansi* en 2013 d'après Desquesnes et al.(3)

Des études réalisées sur l'ADN nucléaire et kinétoplastique, ainsi que la mise en évidence d'isoenzymes (1) suggèrent une origine africaine du parasite, probablement en Afrique subsaharienne, le parasite ayant ensuite été probablement disséminé via les caravanes de chameaux et dromadaires voyageant jusqu'en Afrique du Nord, au Moyen Orient et en Asie du sud (il est présent en Inde depuis le VIIIème siècle avant J.-C., au moins) puis via les transports d'animaux, particulièrement de chevaux, en Amérique Latine au XVIème siècle par les conquistadores. L'introduction du parasite a pu être faite en plusieurs fois sur une région du monde. C'est notamment l'hypothèse proposée pour son introduction en Amérique du Sud (2).

En Afrique, il est retrouvé au-dessus de la zone où les glossines sont présentes, c'est-à-dire en Mauritanie, au Maroc, en Algérie, en Tunisie, en Libye, en Egypte, au Soudan, en Erythrée, en Ethiopie, mais aussi au Nord du Mali, Burkina Faso, Niger, Nigeria, Tchad, Somalie et au Kenya, dans les zones où les dromadaires sont présents (3).

Sa présence dans la péninsule arabique est notée en Arabie Saoudite, à Oman, aux Emirats Arabes Unis, en Jordanie, en Israël (depuis 2006 (30)), au Liban, en Syrie, en Iraq, voire en Europe de l'Est en Turquie dans la région du Caucase, et occasionnellement en Bulgarie. Il est également retrouvé de l'Iran au Kazakhstan, aussi bien qu'en Afghanistan et au Pakistan (3).

En Asie, *T. evansi* est présent en Inde, en Chine, en Mongolie, en Russie, au Bhoutan, au Népal, à Myanmar, au Laos, au Vietnam, au Cambodge, en Thaïlande, en Malaisie, aux Philippines et en Indonésie. Sa présence est suspectée en Papouasie Nouvelle Guinée (3).

En Amérique Latine, le premier cas a été décrit sur un cheval de l'île de Marajo, au large du Brésil en 1839 (2). On le retrouve au Paraguay, au Brésil, en Bolivie, au Venezuela, en Guyane, en Colombie. Sa présence est notée en Amérique centrale jusqu'à Mexico (3).

Il a même été décrit dans certaines îles de l'océan Indien (île de la Réunion, île Maurice) (7). Plus récemment, le parasite a été retrouvé aux îles Canaries, où il a été régulièrement observé depuis 1997, suite à une importation illégale de dromadaires infectés en provenance d'Afrique du Nord. La persistance du parasite sur l'île de Gran Canaria malgré des traitements répétés des animaux infectés laisse suspecter soit un phénomène de résistance aux trypanocides utilisés (mélarsomine principalement), soit l'existence d'un réservoir (petits rongeurs, petits ruminants) (32,33).

Il est apparu sporadiquement d'abord en Australie et au Canada au début du XX<sup>ème</sup> siècle, suite à l'importation de chevaux infectés (3), puis en Europe : en France, en 2006, suite à l'importation de dromadaires des îles Canaries et en Espagne, où un épisode épizootique est survenu dans la province d'Alicante en 2008 (3,33).

Ces épisodes ont pu rapidement être enrayerés par des mesures sanitaires précoces et drastiques comme la mise en place d'un dépistage systématique associé à un traitement automatique ou abattage et élimination des animaux atteints, afin d'éviter l'installation de la maladie à l'état enzootique (1-3,5,8,13).

Il est important de noter que la surveillance est particulièrement essentielle dans les régions indemnes, étant donné que la présence d'hôtes potentiels dans ces zones peut permettre le développement de la maladie à tout moment si elle est introduite (10).

## 6. Biologie

### a) Cycle

*T. evansi*, en raison de la perte d'une partie de son ADN mitochondrial par rapport à *T. brucei*, reste en permanence au stade trypomastigote, en perdant sa capacité à effectuer la phosphorylation oxydative (2,3). Ce n'est pas le cas des autres espèces de trypanosomes, qui effectuent un cycle procyclique dans un vecteur biologique, c'est-à-dire passent d'une forme trypomastigote dans l'hôte à promastigote ou trypomastigote procyclique dans le vecteur, pour retourner à la forme trypomastigote une fois dans un nouvel hôte. *Trypanosoma evansi* utilise donc seulement des vecteurs mécaniques pour se propager d'un hôte à un autre contrairement aux autres espèces (5,10).

Ce trypanosome ne changeant pas de stade, la transmission peut se faire immédiatement via un vecteur mécanique ou par contact direct (10,13).

Il existe différents modes de transmission du parasite chez le dromadaire : une transmission horizontale directe ou indirecte (via des insectes piqueurs essentiellement), une contamination iatrogène, ou une transmission verticale (transplacentaire ou néonatale) (10).

La transmission chez le dromadaire se fait principalement par des insectes piqueurs hématophages, pour la plupart de la famille des *Tabanidae*. La mouche se contamine en effectuant son repas sanguin sur un animal infecté. La douleur engendrée par la piqûre peut entraîner une réaction de défense de la part du dromadaire, interrompant le repas sanguin du vecteur, qui va réinjecter le parasite contenu dans ses pièces buccales à un autre animal au début du repas sanguin suivant, lors de l'injection de salive anticoagulante. Le parasite atteint rapidement la circulation sanguine, où il se multiplie, à partir du lac sanguin créé par la piqûre. Lors de stades avancés, il sort de la circulation sanguine pour atteindre divers tissus extravasculaires tels que les nœuds lymphatiques, le cerveau, le liquide céphalo-rachidien (LCR), les organes génitaux, les yeux, le liquide synovial d'une articulation ou encore le placenta (7,8). La période d'incubation est de 1 à 2 semaines.

Les vecteurs, notamment les tabanidés qui ne peuvent porter sur leurs pièces buccales que 0,01 µl de sang, ne transmettraient le parasite que lors de forte parasitémie chez l'hôte (7). Un modèle mathématique basé sur la transmission du parasite par des tabanidés a montré que, la probabilité de transmission étant significative au-delà d'une parasitémie de  $10^6$  trypanosomes/ml, et étant donné que la parasitémie peut être très élevée chez le dromadaire ( $>10^8$  trypanosomes/ml), les tabanidés et les stomoxes sont tout à fait aptes à disséminer le parasite (10).

Une contamination iatrogène (aiguille souillée, matériel chirurgical, matériel de transfusion...) peut avoir lieu, lorsque le matériel est réutilisé rapidement sur plusieurs animaux sans mesure de désinfection entre chaque animal (traitement prophylactique, prise de sang...) (10,13).

Une contamination par morsure profonde pourrait être envisagée chez le dromadaire de manière anecdotique, mais n'est pas rapportée dans la littérature.

De manière plus anecdotique, une transmission par un insecte non piqueur infecté peut se faire au niveau d'une plaie par exemple (5,10).

La transmission verticale serait possible : soit directement via le placenta durant la gestation, soit lors de la mise bas (13), ou encore lors de contacts étroits avec les sécrétions parasitées de la mère (mucus, larmes...) (10), qu'il y ait effraction de la muqueuse ou non, le parasite étant capable de traverser les muqueuses saines. Elle a été constatée chez différentes espèces expérimentalement (cochon d'Inde, âne (34)) ou naturellement (bovins), et est fortement soupçonnée chez le dromadaire (7,8). Ce mode de transmission permettrait la persistance du parasite au long-terme dans un troupeau et peut être à l'origine de la création de porteurs latents, réservoirs du parasite et qui pourraient exprimer la maladie à la faveur d'un stress après une longue période subclinique.

Un résumé du cycle du parasite est proposé en Figure 6.

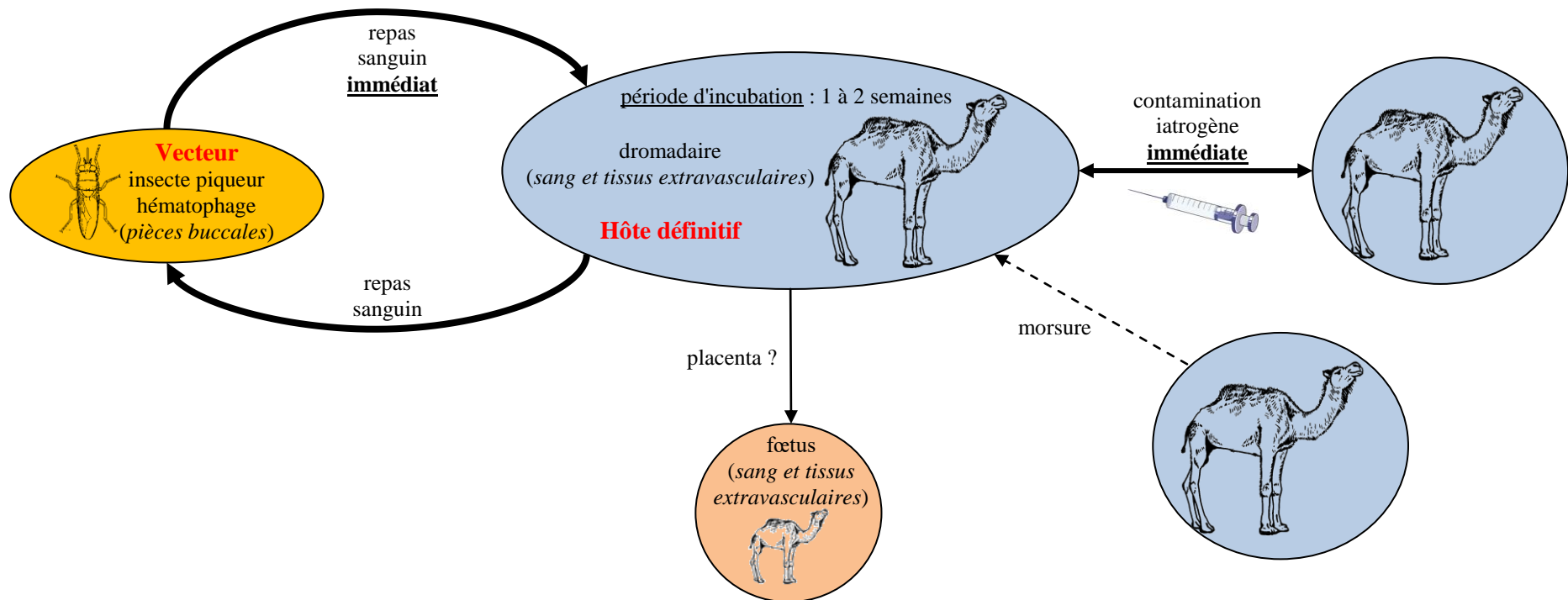


Figure 6 : Cycle de *T. evansi* chez le dromadaire



Il existe d'autres modes de contamination, moins probables chez le dromadaire :

- L'ingestion de viande parasitée fraîche par les carnivores peut entraîner l'infection de ceux-ci, par pénétration du parasite au niveau de la muqueuse buccale ou digestive probablement, via une perte de substance suite à des blessures ou par passage direct à travers la muqueuse saine (10,13,35). Cette transmission orale dépend de l'espèce hôte et a été démontrée efficace dans le cas du rat mais non de la souris expérimentalement (2). Chez le dromadaire, elle pourrait correspondre à un épisode de morsure, ou pourrait entrer en jeu dans la transmission verticale.

- Les chauves-souris vampires (*Desmodus rotundus*), en Amérique du Sud, sont susceptibles de transmettre le parasite via leur morsure, le parasite étant contenu dans la salive de l'individu. La contamination de cette chauve-souris se fait sûrement par ingestion de sang contaminé (ou morsure par un autre congénère), le parasite traversant ensuite la muqueuse buccale voire la paroi de l'œsophage et de l'estomac, pour se multiplier dans le sang. La chauve-souris meurt dans le mois qui suit ou survit pour devenir porteuse saine du parasite (7). Cette espèce serait donc potentiellement un vecteur dit « biologique » de la maladie (par son rôle de vecteur et par la multiplication du parasite dans son organisme, bien qu'il n'y ait pas de réel cycle biologique avec un stade différent du parasite au sein de la chauve-souris), en plus d'en être un réservoir, bien que son rôle ne soit pas clairement défini à ce jour (1,3,5,10,35).

- Les petits rongeurs régulièrement infectés posent la question de leur mode de contamination. En effet, leur activité nocturne ne coïncide pas avec la période d'activité des principaux vecteurs de la maladie, cette transmission restant inexpliquée à ce jour (2,7).

Le parasite ne peut persister longtemps dans l'environnement, bien qu'il résiste plus longtemps que les autres espèces de trypanosomes, en raison de son mode de transmission : de l'ordre de quelques heures (2 à 48 heures) dans un prélèvement ou dans les insectes vecteurs (expérimentalement, 9 minutes dans les stomoxes, 30 minutes dans les tabanidés, la possibilité de transmission étant largement diminuée après 30 minutes (7)).

La transmission doit donc se faire relativement rapidement et peut avoir lieu entre les différents animaux d'un même troupeau, entre animaux de troupeaux voisins ou encore entre la faune sauvage et les animaux du troupeau (10,13).

La probabilité de transmission non immédiate par les tabanidés est donc très faible, étant donné que ces insectes une fois repus attendent 5 à 7 jours avant d'effectuer un nouveau repas sanguin. Il a été montré que *T. evansi* peut être transmis par *Stomoxys* 48h après un premier repas sanguin infectant. Le stomoxe effectue en général deux repas dans la même journée ou dans les 24h, mais un repas manqué pourrait expliquer une transmission du parasite à un autre animal après quelques heures à quelques jours, ces observations restant à confirmer (10).

## **b) Hôtes**

*T. evansi* est l'espèce de trypanosome du groupe des *Salivaria* comprenant la plus large gamme d'espèces hôtes (3). Un lien a été suggéré entre la perte de l'ADN kinétoplastique et le grand nombre d'espèces cibles (2). La trypanosomose affecte uniquement les mammifères, les hôtes préférentiels dépendant de la zone géographique concernée (1). Sa pathogénicité est néanmoins plus marquée chez les camélidés, les équidés et les carnivores (3,7).

En Afrique, les dromadaires et chameaux sont les hôtes principaux du parasite, bien que les chevaux, bovins, chèvres, moutons, porcs voire les chiens et chats puissent être parfois infectés. Certains bovins sont mêmes réfractaires à l'infection. L'antilope pourrait être un réservoir de l'infection dans cette région du globe (2).

Au vu des faibles taux de contamination relevés chez les chèvres et moutons, ces espèces apparaîtraient plutôt comme des culs-de-sacs épidémiologiques de la maladie, bien qu'ils puissent constituer une source de contamination pour les carnivores (2).

Sur le continent asiatique, un plus large panel d'espèces est touché : le parasite est retrouvé chez le chameau de Bactriane, le dromadaire, les bovins, les équidés, les petits ruminants, le chien, le porc, des espèces sauvages comme l'éléphant d'Asie, certains rongeurs, le tapir de Malaisie, l'ours noir d'Himalaya, l'Orang Outan de Bornéo, le tigre, le léopard, le cochon sauvage ou encore chez divers espèces de cervidés (1–3,35). Les espèces les plus touchées sont le buffle et le cheval dans ces régions (10).

En Amérique centrale et Amérique du Sud, le cheval est l'espèce la plus touchée. Le cochon d'Inde, certaines espèces de lamas, le buffle, le coatis, le pécarí à lèvres blanches, le pécarí à collier, le cochon sauvage, le singe hurleur ou encore plusieurs espèces de marsupiaux et de petits rongeurs nocturnes sont également sensibles au parasite. On considère le bétail, les chèvres, les chauves-souris vampires et les capybaras comme des réservoirs potentiels du parasite dans ces régions (1,2,5,13,35). Les capybaras par exemple peuvent présenter une parasitémie très importante, sans que des signes d'infection tels qu'une anémie soient visibles et permettre la multiplication du parasite de manière asymptomatique sur de longues périodes (2).

D'autres espèces sont sensibles à la maladie, d'après plusieurs études expérimentales : c'est le cas de certaines espèces de wallabies, de pigeons, de poules ou encore du campagnol japonais (10). Ceci pose notamment la question du rôle des oiseaux dans l'épidémiologie de la maladie (7).

Les dromadaires, buffles et bovins sont plutôt touchés par des infections chroniques et sont de bons réservoirs de la maladie. Les chevaux et chiens présentent plutôt une affection aiguë et fatale (2).

Quelques cas humains ont été rapportés, notamment en Egypte et en Inde, mais le risque d'infection semble très limité, l'Homme possédant un facteur sérique trypanolytique, l'apolipoprotéine L-1 (ApoL-1), qui lui permet de ne pas être affecté par la maladie, bien qu'il soit fréquemment en contact avec elle. Cependant, une mutation de cette protéine entraîne un développement possible de la maladie dans l'espèce humaine. La prévalence de cette mutation n'est pas connue actuellement, mais elle montre que *T. evansi* peut représenter un risque pour l'Homme, notamment chez les personnes immunodéprimées vivant en zone d'endémie (1–3). A l'inverse, les trypanosomoses humaines que sont *T. b. rhodesiense* et *T. b. gambiense* ont développé des mécanismes leur permettant de contrer l'effet des apolipoprotéines (2). Il n'est donc pas exclu que les agents de trypanosomoses animales développent un jour ce genre de mécanismes à l'égard de l'espèce humaine.

### c) Vecteurs

Des insectes piqueurs hématophages sont les principaux vecteurs de la trypanosomose à *T. evansi*, pour la majeure partie de la famille des *Tabanidae*. Le genre *Tabanus* est largement représenté avec pas moins de 29 espèces du genre *Tabanus* ayant montré leur rôle de vecteur potentiel expérimentalement (1,10). Une réelle corrélation a été démontrée entre l'apparition de cas de surra et l'augmentation de la population de *Tabanus* lors de périodes pluvieuses. Ce vecteur peut même persister toute l'année dans certaines régions, pouvant expliquer l'apparition de cas sporadiques pendant la saison sèche, et une augmentation des cas lors de la saison des pluies. D'autres genres comme *Philoliche*, *Pangonia*, *Atylotus* ou *Ancala* pourraient contenir de potentiels vecteurs (1,2,31).

Des *Muscidae* du genre *Stomoxys* semblent également être d'importants vecteurs de la maladie, d'après plusieurs études expérimentales, bien que le rôle de *Stomoxys calcitrans* soit actuellement controversé (2,33,36). Dans la même sous-famille des *Muscinae*, le rôle de *Haematobia minuta* n'a jamais été démontré, mais son importante densité dans certaines régions montre l'intérêt d'études supplémentaires à ce sujet (10).

D'autres insectes comme *Haematopota spp.*, certaines espèces de *Chrysops*, *Haematopinus tuberculatus* ou encore *Aedes aegypti*, *Aedes argenteus* et *Anopheles filiginosus* ont montré leur rôle de vecteur expérimentalement, bien que le rôle épidémiologique de ces derniers n'ait pas été démontré. *Lyperosia minuta* est suspecté d'avoir un rôle de vecteur d'après des observations de terrain, bien que la transmission expérimentale du parasite ait échoué (10).

Des *Hippoboscidae* (*H. camelina*, *H. variegata*), des *Culicidae*, *Ceratopogonidae*, des tiques, des réduvidés (plutôt par ingestion par l'hôte que par piqûre) ou encore des mouches non piqueuses (*Musca crassirostri*, au niveau d'une plaie) pourraient aussi permettre la transmission du parasite (5,10).

Il a été démontré que les trypanosomes peuvent survivre quelques heures au sein de tiques du genre *Hyalomma* notamment, dont la prévalence est forte dans les régions peuplées par les dromadaires (2,14).

Les sangsues pourraient également transmettre la maladie, plutôt chez les bovins d'Asie (10), des trypanosomes ayant notamment été mis en évidence au niveau du tube digestif d'une sangsue dans l'étude de Vergne (7), soulevant la possibilité d'une transmission mécanique via les pièces buccales souillées, si 2 repas sanguins ont lieu de manière rapprochée. Cependant, aucune transmission expérimentale n'a pu démontrer cette hypothèse à ce jour.

Comme cité précédemment, les chauve-souris et tout matériel souillé par un animal contaminé pourraient faire office de vecteur de trypanosomose à *T. evansi*.

Cette liste de vecteurs potentiels est non exhaustive mais l'on retiendra que la transmission se fera principalement par l'insecte piqueur le plus gros et le plus abondant dans la région considérée (10), souvent associée à une activité diurne en milieu relativement humide.

L'efficacité de transmission du parasite varie selon l'espèce vectrice, la zone géographique, l'intervalle entre 2 repas sanguins (13) et la densité de vecteurs dans la zone considérée (1), tous ces facteurs méritant d'être quantifiés plus amplement par des études expérimentales.

## **B. Pathogénie et symptomatologie de la trypanosomose**

### **1. Signes cliniques**

La trypanosomose donne des signes cliniques variables d'une espèce à l'autre et d'un individu à l'autre. Il n'y a pas de signe pathognomonique. Il existe une forme aiguë, une forme chronique et une forme asymptomatique. La forme chronique est la plus fréquente (80-90% des cas) (7).

#### **a) Forme chronique**

Après l'infection de l'animal, on peut très fréquemment observer un chancre au point d'inoculation, associé à une hyperthermie (jusqu'à 41°C), une anémie progressive (apparition d'une pâleur des muqueuses, accélération du rythme respiratoire) et une perte d'état général se caractérisant souvent par une perte de poids, une atrophie des muscles de la cuisse, une dépression sévère, de la lassitude, une prostration, une faiblesse voire intolérance à l'effort et une perte d'appétit (1,5,8,9,32,37).

La diminution de poids chez les animaux malades est controversée : bien que la perte de poids lors d'infection soit communément admise dans la littérature (1,5,8,9,32,37), Njiru *et al.* (28) ne trouvent pas de différence de poids entre les animaux sains et malades, voire trouvent que les animaux séropositifs ont un poids plus important.

Un épiphora et de l'œdème sous-cutané principalement au niveau des postérieurs en région déclive et au niveau des paupières sont souvent rencontrés dans cette forme chronique (8) (Fig. 7).

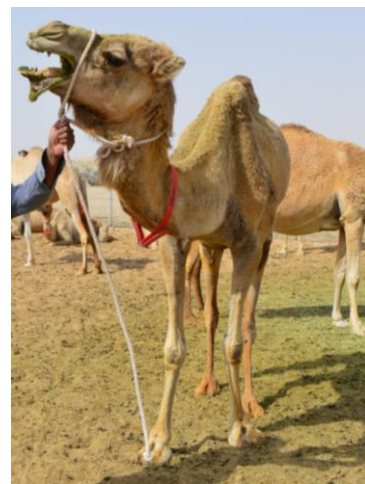


Figure 7 : Dromadaires parasités - forme chronique (émaciation, œdème déclive) (cliché de gauche : A. Hatem, cliché de droite : J. Merlin)

Moins fréquemment, un poil piqué, une adénomégalie, des plaques d'urticaire, de l'ictère, des hémorragies pétéchiales au niveau des séreuses, une opacification cornéenne, une kératite, une conjonctivite, une hémorragie de la chambre antérieure de l'œil voire de la cécité, de la diarrhée et une odeur d'urine caractéristique bien reconnue par l'éleveur peuvent apparaître (1,5,8,9,32,37).

Concernant la reproduction, des avortements, des taux de reproduction faibles, une incapacité à nourrir le nouveau-né, des naissances prématurées et de la mortalité périnatale (dans les deux semaines suivant la naissance généralement) sont rapportés, ceci indépendamment du stade de gestation et non toujours accompagnés d'autres signes cliniques ou d'une parasitémie détectable chez la mère (8,32). La production laitière est diminuée chez ces animaux et le lait peut devenir caséux (4,8).

La mort survient souvent en quelques semaines à quelques mois, voire quelques années parfois (jusqu'à 3-4 ans, n'excluant pas une période plus longue où le parasite est situé dans un site refuge, indétectable, avec un animal asymptomatique (38)) suite à une dégradation de l'état général de l'animal allant jusqu'à un état cachectique (5,9), mais on retrouve également des cas d'hyperthermie récurrente sans autre signe clinique (1).

Les épisodes d'hyperthermie, correspondant à l'apparition des parasites dans le sang, durent généralement de 2 à 11 jours et sont séparés par des intervalles de même durée, en début d'infection (39).

On peut remarquer des signes neurologiques, à un stade avancé de la maladie, caractérisés par des tremblements, une marche en cercle, de l'agressivité, une errance, de l'incoordination motrice, une parésie, du pica, une chute chez des animaux stressés et surmenés (3,40). Ces signes nerveux sont généralement de pronostic sombre, le parasite ayant atteint le système nerveux et étant difficile à traiter avec les trypanocides existants, aucun ne traversant la barrière hémato-méningée et permettant une élimination efficace du parasite, et l'issue est souvent fatale (37).

Les animaux ne sont souvent pas tous touchés au même moment dans un troupeau. Un mauvais état général de l'ensemble du troupeau doit faire prioritairement penser à une mauvaise gestion du troupeau ou à de mauvaises conditions environnementales (manque de nourriture pendant la saison sèche par exemple). Quelques cas isolés d'animaux en mauvais état général peuvent faire plutôt penser à une maladie.

Les signes cliniques seront en général plus importants chez des animaux stressés ou en déficit métabolique : dromadaires dont les conditions de vie sont détériorées (manque de nourriture, manque d'eau...) ou devant dépenser beaucoup d'énergie (animaux servant au transport de marchandises ou de personnes, dromadaires de course, à forte production laitière...) (11).

## **b) Autres formes**

Une forme aiguë, moins fréquente, se caractérise par des avortements, un décubitus prolongé, une intolérance à l'effort, un œdème pulmonaire pouvant contribuer à l'installation d'une pneumonie secondaire, une paralysie, et l'issue est souvent fatale (mortalité pouvant dépasser 50%). L'animal meurt entre 10 jours et 4 mois après l'inoculation (4,7,8).

Il existe des cas asymptomatiques, pas si rares, ces animaux constituant ainsi des réservoirs de l'infection (1).

Une auto-guérison peut survenir dans certains cas, mais elle reste probablement peu fréquente (7).

## 2. Réponse immunitaire

Les phénomènes immunologiques advenant lors d'une infection à *T. evansi* sont encore peu élucidés et documentés, des études ultérieures étant encore nécessaires afin d'éclaircir ces mécanismes (3).

### a) Processus inflammatoire

En phase aiguë, on observe une activité importante au niveau des nœuds lymphatiques (hyperplasie) et de la rate, résultant en la production de plasmocytes principalement. Une réaction inflammatoire a lieu, associée à des taux élevés en protéines inflammatoires (protéine C-réactive, haptoglobine, alpha 2-macroglobuline), concomitante à la production d'immunoglobulines M (IgM) ciblant les glycoprotéines de surface du parasite (3). Ce processus inflammatoire exacerbé participe également à l'immunodépression qui s'ensuit, des études expérimentales ayant montré que l'inhibition de l'acétylcholinestérase sanguine, un marqueur de l'inflammation associé à ce parasite, permettait une amélioration de la réponse immunitaire contre le trypanosome via les cytokines pro-inflammatoires (3).

### b) Immunodépression

Plus tard en revanche, une déplétion lymphoïde est notée expérimentalement (1). Elle permettrait au trypanosome à la fois d'éviter que des mécanismes immunopathologiques endommagent l'hôte qui l'héberge mais aussi de persister plus durablement dans l'organisme de l'hôte (3). Cette immunodépression, qui semble à la fois toucher l'immunité à médiation humorale et cellulaire (7), repose sur différents phénomènes.

Elle peut d'abord s'expliquer par l'action d'enzymes libérées par le trypanosome, comme des phospholipases, neuraminidases et protéases, impliquées dans la fluidité de membrane et responsables de dommages cellulaires.

Les phospholipases sont à l'origine de la formation d'acides gras libres, ayant un effet hémolytique (hydrolyse de la membrane des hématies) mais aussi, via leur rôle de précurseur dans la formation des prostaglandines, contrôlant l'activation lymphocytaire.

Une sialidase est produite par le parasite. Elle hydrolyse l'acide sialique, un composant important de la membrane des érythrocytes. Celui-ci, une fois hydrolysé, dévoile des résidus galactosyl, qui sont reconnus par des lectines spécifiques à la surface des macrophages. Ce processus a normalement lieu chez des hématies vieillissantes qui sont phagocytées par les macrophages (37).

De plus, la membrane du parasite est recouverte d'une monocouche de glycoprotéines de surface dites variables (Variant Surface Glycoprotein ou VSG), représentant 10% des protéines du parasite et codées par environ 1 000 gènes (37).

Le variant antigénique RoTat 1.2 est partagé par la plupart des souches de *T. evansi* de type A (mais pas de type B) et est notamment utilisé pour le diagnostic de la maladie. Cependant, certaines souches, jusqu'alors isolées à la frontière nord du Kenya, ne présentent pas cette glycoprotéine de surface, de type A ou de type B (22,35) : certaines souches ne possèdent pas le gène permettant l'expression de la protéine, tandis que d'autres possèdent ce gène mais n'expriment pas la protéine (28).

Ces VSG induisent une forte réponse immunitaire chez l'hôte lorsqu'elles sont reconnues (une prolifération de plus de 70% des lymphocytes B interviendrait dans la production de ces anticorps), provoquant la lyse du parasite et ainsi la libération de métabolites toxiques par les trypanosomes lysés, participant à l'hyperthermie (1,6,11). Cependant, le trypanosome a la capacité d'effectuer une variation antigénique, en modifiant fréquemment et rapidement ses

antigènes de surface, via une activation ou désactivation des gènes codant pour les VSG à chaque génération de parasite, afin d'échapper au système immunitaire de l'hôte (6,37,41). Quelques jours après l'infection, une production d'antigènes dirigés contre ces VSG a lieu, provoquant une lyse des parasites associée à une hyperthermie. Suite à cela, la température diminue. Mais certains parasites persistent et modifient leurs antigènes de surface. Ils ne sont alors plus détectés par le système immunitaire et se multiplient, provoquant une nouvelle phase de parasitémie et d'hyperthermie, jusqu'à ce que l'hôte fabrique de nouveaux antigènes spécifiques. Ce cycle se répète jusqu'à ce que l'hôte n'arrive plus à répondre à la variation antigénique ou le trypanosome ait épuisé son répertoire antigénique. La variation antigénique, bien décrite par Berlin *et al.* (30), est de moins en moins rapide avec le temps et les pics d'hyperthermie correspondant sont de plus en plus espacés et de faible amplitude (Fig. 8) (7,11,41).

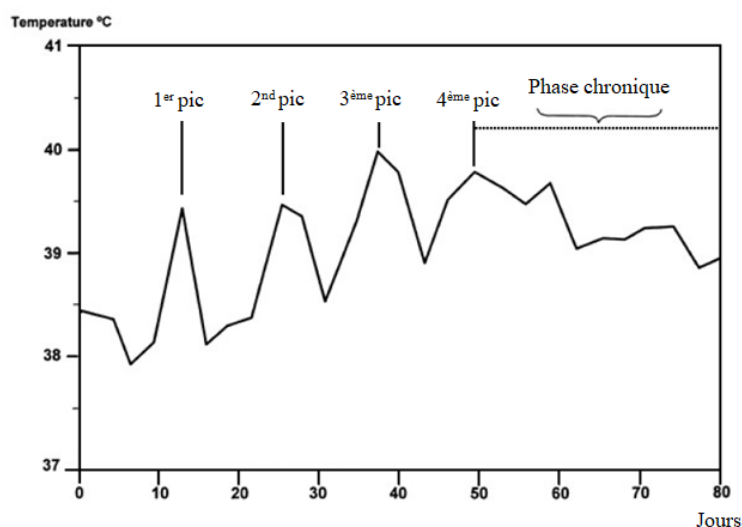


Figure 8 : Evolution des pics d'hyperthermie au cours d'une trypanosomose, modifiée d'après Uilenberg (11)

Les macrophages jouent un rôle important en tant que cellules présentatrices d'antigènes et cellules phagocytaires. Le trypanosome module leur action, via des facteurs qu'il émet ou en modulant l'action de cytokines de l'hôte, en contrôlant leur état d'activation. La lyse des trypanosomes est réalisée par l'activation classique des macrophages (dite de type M1), permettant la synthèse de radicaux libres (NO, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), médiée par différentes cytokines pro-inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1B, IL-6...). Cependant, ces substances, dont la sécrétion serait accrue par un facteur immunomodulateur du trypanosome (Trypanosome-Suppressive Immunomodulating Factor ou TSIF), ne semblent pas participer au contrôle de la parasitémie d'après certaines études expérimentales, mais sembleraient bloquer la prolifération des lymphocytes T, ce qui pourrait expliquer les taux sanguins importants de NO ainsi que le déséquilibre redox et donc le stress oxydatif retrouvés lors de surra.

De plus, ce TSIF aurait la capacité d'inhiber la réponse immunitaire Th2.

Enfin, l'IFN- $\gamma$  ou le TNF- $\alpha$ , dont la production est dépendante du taux de NO, seraient impliqués dans l'inhibition de la prolifération des splénocytes, lors d'infection à *T. evansi* (3,42).

D'autre part, dans un modèle murin, *T. evansi* est capable de détruire la réserve de lymphocytes B mémoires (3). De la même manière, il a été prouvé que le parasite peut produire une lymphotoxine capable d'activer, via le CD45, l'apoptose de lymphocytes T, participant à la lymphopénie (3,7).

### c) Conséquences de l'immunodépression

L'immunodépression engendrée peut mener à des infections secondaires, rendant le pronostic plus sombre (3,41) : chez la chèvre par exemple, une infection à *T.evansi* diminue la résistance de l'animal à l'infection par *Haemonchus contortus* (7), une étude menée par El-Naga et Barghash en 2016 a montré la présence d'au moins trois agents pathogènes associés aux infections à *T. evansi* (14).

Elle peut entraîner une diminution de la réponse immunitaire lors de vaccination, avec un titrage en anticorps faible chez ces animaux, pouvant provoquer la mort lorsque l'individu n'est pas traité (1,3,11). Ceci pourrait en partie expliquer une diminution d'efficacité des protocoles de vaccination, les lymphocytes T étant habituellement fortement impliqués dans la réaction inflammatoire locale provoquée par le vaccin. Il serait donc judicieux de réaliser un traitement trypanocide avant la vaccination d'un animal (7).

Dans l'étude de Berlin *et al.* (30), les auteurs semblent mettre en évidence un lien entre la détection d'anticorps et le pronostic vital de l'animal : les animaux infectés ayant survécu présentaient une séropositivité transitoire, tandis que les cas décédés étaient séronégatifs. Ceci pourrait s'expliquer soit par une immunodépression avancée dans un cas chronique extrêmement long, soit par une forme aiguë fulgurante (pas encore de production d'anticorps), et un échec de traitement associé. Cependant, des anticorps sont détectés dans la grande majorité des cas.

### d) Autres phénomènes immunitaires

Une production d'IgM a lieu, contrairement à la production d'IgG décrite chez *T. brucei* et *T. congolense*, à la fois lors d'infections aiguë et chronique (1), et ces immunoglobulines semblent être les seules à pouvoir contrôler une infection. L'orientation vers la production d'IgM plutôt que celle d'IgG n'est pas encore expliquée à ce jour (3).

Une leucocytose, éosinophilie et neutrophilie seraient dues à l'activation du système des phagocytes mononucléés (éosinophilie associée aux infections parasitaires et à des réactions d'hypersensibilité immédiate), avant la phase d'immunodépression.

La formation de complexes-immuns et l'activation du complément ont été montrées expérimentalement chez des animaux de laboratoire infectés par *T. brucei*, et pourraient être responsables de phénomènes rencontrés lors d'une infection par *Trypanosoma evansi* : anémie, dommages tissulaires, interférences avec la réponse immune (1). Cependant, l'infection expérimentale de dromadaires a montré que l'activité hémolytique du complément diminue avec le temps et est corrélée négativement avec la parasitémie, cette activité étant recouvrée lors de l'élimination du parasite, suggérant là encore l'action immunosuppressive de la présence du parasite (3).

L'augmentation des taux de cytokines et chémokines Ccl8 et Il10 dans les splénocytes lors d'une infection, suggère une augmentation du nombre et de l'activité des cellules dendritiques. Les cellules dendritiques régulatrices semblent prédominer sur les cellules dendritiques inflammatoires au cours d'une infection, suggérant l'importance à la fois de la réponse inflammatoire dans l'immunosuppression induite, mais aussi d'une régulation de la réponse inflammatoire pour éviter des effets physiopathologiques irréversibles (3).



### 3. Physiopathologie

La trypanosomose à *T. evansi* est souvent liée à un agent plus virulent et pathogène que les trypanosomoses liées à des agents du groupe des *Stercoraria* (37). Ce parasite est ainsi capable d'entraîner différentes lésions cellulaires et tissulaires ayant d'importantes conséquences sur l'organisme et à l'origine des différents signes cliniques rencontrés.

#### a) Lésions cellulaires et tissulaires

Les principaux mécanismes responsables de l'anémie seraient une dyshémopoïèse et érythrophagocytose. L'érythrophagocytose serait provoquée directement ou indirectement par le parasite : des dommages mécaniques et une augmentation du catabolisme des hématies sont provoqués à la fois par le parasite et les mécanismes engendrés par une hyperthermie prolongée, une phagocytose des hématies par le système immunitaire suite à la formation de complexes-immuns en surface des hématies, et des facteurs hémolytiques libérés par le parasite dans le sang (42). Les mécanismes menant à cette hémolyse ne sont pas encore totalement compris. Bien que le système hématopoïétique s'active afin de contrebalancer ce phénomène d'hémolyse intra-vasculaire, d'autres toxines parasitaires vont par la suite déprimer ce système, les hématies n'étant alors plus renouvelées correctement (dyshémopoïèse).

Une diminution du nombre de protéines de transport du fer associée à l'anémie pourraient expliquer la diminution de la concentration en fer dans le plasma (32,42,43).

Une augmentation du taux d'urée est notée, notamment chez les femelles gestantes, dont les besoins métaboliques sont importants. Cette augmentation pourrait s'expliquer par un catabolisme accru des protéines, mais pas par une atteinte rénale, la créatinine étant généralement dans les normes (32,42,43).

Le stress oxydatif engendré par la présence du parasite provoquerait une altération de la membrane des érythrocytes par peroxydation des lipides, qui augmente la rigidité de la membrane, diminue l'activité des récepteurs de membrane et diminue la perméabilité de la membrane (37). La formation de méthémoglobine, par entrée de monoxyde d'azote (NO) dans les hématies, réagissant avec un groupement sulfhydryle (SH), provoque un changement de structure de la membrane érythrocytaire favorisant l'érythrolyse et la clairance des hématies par la rate et des destructions tissulaires. La méthémoglobine induit la formation de l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ), qui aggrave le phénomène de stress oxydatif et donc la destruction des globules rouges (37,42).

Le parasite induit différentes lésions tissulaires. *T. evansi* s'attaque préférentiellement aux tissus conjonctifs, détruisant les fibres de collagène et les fibroblastes qui les fabriquent et les maintiennent. Il occasionne également des dommages vasculaires. Tous ces dommages menant par la suite à une libération massive d'enzymes cellulaires, cytoplasmiques et mitochondriales dans la circulation, entraînant à leur tour de nouveaux dommages cellulaires (1). D'autres mécanismes sont sûrement impliqués dans ces phénomènes dégénératifs (1).

Deux étapes se succèdent dans l'infection par le trypanosome : une augmentation importante du taux sérique de sorbitol déshydrogénase (SDH), coïncidant avec le moment où le parasite circule dans le sang de son hôte, puis plus tard, une augmentation importante des taux d'aspartate aminotransférase (ASAT) et d'alanine aminotransférase (ALAT) (augmentation moins importante), correspondant probablement à la destruction cellulaire importante liée au trypanosome et à l'hôte (1).

## **b) Mécanismes de passage du parasite dans différents organes**

Le parasite est capable de passer la barrière hémato-méningée mais le mécanisme exact est inconnu à ce jour. Plusieurs hypothèses ont été proposées : un passage via une barrière incomplète comme au niveau des ganglions sensoriels, un dépôt de complexes-immuns dans le plexus choroïde, une augmentation de la perméabilité vasculaire ou encore la libération de substances toxiques par le parasite (34).

Les avortements seraient attribuables au dysfonctionnement endocrinien engendré ayant un impact sur le développement fœtal ou alors aux conséquences d'une infection intra-utérine directement (1,32). Le passage du parasite à travers la barrière placentaire dans ce dernier cas, pourrait être facilité par des dommages placentaires (34), mais le parasite est également capable de passer la muqueuse saine, donc un passage direct dans le placenta serait possible.

Le parasite peut envahir l'œil et ainsi créer une panophtalmie et une opacification cornéenne, engendrant une inflammation importante dans les différentes structures oculaires où il est présent (humeur aqueuse, corps ciliaires...) par une action directe ou via des toxines qu'il libère (44).

Finalement, le parasite envahit tout l'organisme : il passe dans les organes génitaux, les muscles dont le cœur, les reins, l'œil, etc.

## **c) Conséquences des phénomènes engendrés par le parasite**

L'hyperthermie engendrée, lorsqu'elle est prolongée, peut avoir plusieurs conséquences sur les différents organes (45) :

- au niveau cérébral, l'altération d'électrolytes menant à un dysfonctionnement de la neurotransmission, une hypotension conduisant à une hypoxie cérébrale et une nécrose de neurones peuvent mener à l'apparition de signes nerveux,
- au niveau de l'appareil reproducteur, une inhibition du clivage embryonnaire et de l'implantation, une initiation de la tératogenèse, voire une nécrose du placenta pouvant provoquer des problèmes de développement fœtal avec parfois un poids diminué à la naissance voire des avortements, le développement d'une réponse au stress pouvant entraîner un anœstrus chez les femelles, de l'infertilité chez les mâles,
- au niveau de l'appareil circulatoire, une diminution du volume sanguin, des désordres électrolytiques associés à une hémococoncentration, une leucocytose, une acidose métabolique, une thrombopénie, une consommation accrue des facteurs de coagulation provoquant une tachycardie, et des hémorragies pouvant plus facilement survenir,
- au niveau de l'appareil digestif, une augmentation du flux sanguin au niveau cutané entraînant une diminution du flux sanguin au niveau du tube digestif et du foie (hypoxie des hépatocytes) altérant la fonction digestive et pouvant provoquer des coliques,
- au niveau rénal, elle peut entraîner une insuffisance rénale pré-rénale par dysfonctionnement de l'appareil circulatoire,
- au niveau respiratoire, une tachypnée peut être observée pour compenser l'anémie et l'hypoxie.

L'anémie entraîne une diminution du taux d'hémoglobine et donc une diminution du transport de l'oxygène par les hématies et une hypoxie responsable du dysfonctionnement de différents organes : une augmentation du débit cardiaque (possiblement associée à une myocardite) et potentiellement un arrêt cardiaque dans les cas les plus graves, des lésions tissulaires par diminution du pH, une anoxie cérébrale avec dépression de la fonction corticale cérébrale (1,11).

De plus, ce parasite provoque une glycolyse importante. Le produit de cette glycolyse est libéré dans la circulation et s'accumule proportionnellement au nombre de parasites présents, conduisant lorsqu'en grande concentration, à une acidose et une diminution d'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène (effet Bohr) (37).

L'hémolyse étendue aux cellules du système des phagocytes mononucléés provoquerait des hémorragies et exsudats séreux.

Les importants dommages tissulaires au niveau du foie provoqueraient une diminution de la quantité d'albumine dans le sang, entraînant une diminution de la pression oncotique et une augmentation de la perméabilité vasculaire et donc une accumulation de liquide dans le secteur extravasculaire (milieu extracellulaire (1,11)), d'où l'apparition d'un œdème déclive.

La destruction des acides aminés par le parasite provoque l'augmentation du taux de corps cétoniques lors d'infection, se traduisant par l'odeur d'urine caractéristique parfois notée (28).

Une consommation énergétique accrue lors des épisodes d'hyperthermie, ainsi que les processus dégénératifs présents au niveau des muscles et autres tissus, conduisent à une atrophie tissulaire et participent au mauvais état général de l'animal (11).

## C. *L'hôte définitif : Camelus dromedarius*

### 1. Taxonomie

Tous les camélidés, du Nouveau Monde (Lamas, Alpagas...) et de l'Ancien Monde, appartiennent au genre *Camelus*. Parmi les camélidés de l'Ancien Monde, on retrouve 3 espèces différentes : le dromadaire (*Camelus dromedarius*), le chameau de Bactriane (*Camelus bactrianus*) et le chameau sauvage de Bactriane de Mongolie (*Camelus bactrianus ferus*) (46). Une classification de *Camelus dromedarius* est proposée dans le Tableau II. Comme la précédente, cette classification est en perpétuelle évolution, cette version n'est donc qu'une classification possible parmi d'autres.

Tableau II : Classification phylogénétique proposée de *Camelus dromedarius* établie d'après (46–48)

<b>Domaine</b>	Eukaryota
<b>Règne</b>	Animalia
<b>Sous-règne</b>	Bilateria
<b>Infra-règne</b>	Deuterostomia
<b>Embranchement</b>	Chordata
<b>Sous-embranchement</b>	Vertebrata
<b>Infra-embranchement</b>	Gnathostomata
<b>Super-classe</b>	Tetrapoda
<b>Classe</b>	Mammalia
<b>Sous-classe</b>	Theria
<b>Infra-classe</b>	Eutheria
<b>Ordre</b>	Artiodactyla
<b>Sous-ordre</b>	Tylopoda
<b>Famille</b>	Camelidae
<b>Genre</b>	<i>Camelus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Camelus dromedarius</i>

### 2. Origine

L'apparition des premiers camélidés est actuellement datée à 82 millions d'années, en Amérique du Nord. Les camélidés du Pléistocène auraient migré du continent Américain à l'Asie et à l'Amérique du Sud, au début de l'ère glaciaire correspondante. Depuis l'Asie, ils auraient ensuite migré vers l'Europe de l'Est, le Moyen Orient et l'Afrique du Nord (46).

Le dromadaire dériverait possiblement du chameau de Bactriane (46).

La domestication du dromadaire aurait débuté 4 000 ans avant J.-C., dans la péninsule Arabique. Ces animaux étaient d'abord associés à des populations nomades et l'espèce a connu son essor avec l'avènement de la culture Arabe. Le nom de dromadaire vient du grec « dromos » qui signifie route (46,47,49).

### **3. Distribution et utilisation**

Les dromadaires sont particulièrement adaptés à la vie en milieu aride et chaud, notamment au Moyen Orient, en Afrique du Nord, en Inde et en Australie. Ils sont utilisés depuis les temps anciens comme moyen de transport de personnes et de biens, source de nourriture (par leur viande et leur lait), force de traction, pour leur cuir ou leur pelage (fabrication de cordes, de vêtements) ou encore comme animal de compagnie (46,49).

Avec le développement des moyens de transport modernes, leur usage est devenu obsolète, mais certains pays ont tenu à garder leur usage traditionnel et ont développé un sport à part entière : la course de dromadaires.

Les courses de dromadaires sont très populaires au Koweït, en Arabie Saoudite, au Qatar, à Oman, et aux Emirats Arabes Unis. Il existe des courses de 2, 3, 4, 5, 6 et 8 kilomètres, selon l'âge de l'animal. Les animaux de plus de 5 ans font des courses de 8 kilomètres, et ce sont les courses les plus nombreuses. Des femelles de plus de 7 ans sont le plus souvent utilisées pour les grandes courses (de 4 à 10 km), les mâles étant plus difficile à contrôler. Certains jeunes peuvent participer à des courses plus courtes. Les courses peuvent compter 50 dromadaires sur la même ligne de départ. Une rétribution monétaire est attribuée aux dix premiers arrivés (46). Les femelles participent aux courses jusqu'à l'âge de 6 à 8 ans puis sont utilisées ensuite plutôt pour la reproduction (36).

### **4. Caractéristiques**

Il est crucial de connaître les caractéristiques de l'espèce touchée par la trypanosomose, les signes cliniques étant souvent tenus et donc difficile à détecter.

#### **a) Durée de vie et variations morphologiques**

Un dromadaire peut vivre jusqu'à 30 ans environ.

Un adulte mesure entre 1,80 et 2,10 m de haut pour 1,20 à 2 m de long. Les dromadaires possèdent une seule bosse, de consistance ferme et ont une robe allant du beige clair au brun foncé. Les mâles possèdent un diverticule palatin appelé dulla qui peut faire parfois protrusion à l'extérieur de la cavité orale lors d'excitation, en période de rut ou encore lors d'une anesthésie (46,50).

Il existe plus de 50 races différentes reconnues chez le dromadaire, divisées en 3 morphotypes : un type rustique au corps massif et membres trapus, un type dénommé « riding type » au corps élancé et aux membres fins et long, et un type dit « racing type » relativement similaire au précédent (46).

## **b) Nutrition et comportement alimentaire**

Les dromadaires sont des herbivores à l'estomac tri-compartmenté, dont la digestion est similaire à celle des ruminants (régurgitation et mastication secondaire) et sont adaptés à la consommation de nourriture dure et sèche. Ils stockent des réserves de graisse au niveau de leur bosse (51).

Les pratiques sont variées concernant l'alimentation : les animaux peuvent être laissés dans le désert, ou ils se nourrissent des quelques plantes existant sur le terrain, souvent en dehors de la saison des courses ou pour des animaux à faible valeur économique, ou être nourris au foin de luzerne associé à des céréales, voire des dattes séchées et du lait de vache, pour les animaux en période de course par exemple (47). Certains éleveurs « purgent » leurs dromadaires en début et fin de saison des courses avec du sulfate de magnésium (vertus dites laxatives et purgatives) et une plante halophile (*Zygophyllum qatarense*) (qui permettrait un relâchement des muscles intestinaux et serait diurétique) (51).

## **c) Reproduction**

La maturité sexuelle est atteinte entre 2 et 4 ans pour les femelles contre 2 et 5 ans pour les mâles, qui peuvent toutefois présenter des comportements sexuels dès l'âge de 2 ans. Ces derniers ne sont pas utilisés pour la reproduction avant 5 ans en général. Les femelles sont utilisées pour la reproduction à partir de 3 ou 4 ans (52).

Chez les mâles, la période de rut a lieu pendant l'hiver (saison des pluies), pendant quelques semaines à quelques mois, et est souvent associée à une perte de poids lié à une diminution d'appétit et à la lutte entre mâles pour les femelles.

Les femelles présentent un cycle œstral de type polyœstrus saisonnier, avec une ovulation induite par l'accouplement (elle est en fait liée à un ensemble de stimuli dont des facteurs chimiques du liquide séminal, des réponses neuro-hormonales liées au coït ou l'effet de phéromones mâles). Le cycle folliculaire a une durée assez variable, s'allongeant en fin de saison de reproduction, entre 12 et 28 jours. La saison de reproduction coïncide généralement avec la saison de rut des mâles et est suivie par une période d'anœstrus qui peut durer jusqu'à 6 mois (32,53).

La gestation dure environ 12,5 mois (entre 355 et 419 jours ou 12,3 et 13,2 mois selon la race, le sexe du fœtus, la saison et l'état nutritionnel) (32,53).

La placentation des camélidés est diffuse et épithéliochoriale, mais est unique en son genre : jusqu'aux deux derniers mois de la gestation, le chorion est composé de dômes semi-circulaires, en relation avec une zone de dépression de la muqueuse utérine en regard. Dès le 14<sup>ème</sup> jour, le trophoblaste est en relation étroite avec la muqueuse utérine et des microvillosités se forment à partir du 25<sup>ème</sup> jour puis des microcotylédons se mettent en place. Les derniers mois, chaque dôme s'allonge en formant des plis qui permettent d'obtenir une plus grande surface de contact entre le chorion et la muqueuse utérine, les papilles ainsi obtenues s'insérant dans des cryptes formées dans la muqueuse utérine. Un passage progressif d'une nutrition fœtale histotrophe (phagocytose des cellules épithéliales dégénérées) à hémotrophe a lieu, avec une réduction de la distance entre les capillaires fœtaux et maternels (échange de métabolites selon un gradient de concentration ou via des mécanismes de transport).

Cependant, cette connexion est interrompue et variable jusqu'à au moins 75 jours de gestation d'après Abd-Elnaeim *et al.* (54), contrairement aux autres espèces où l'adhésion est plus

rapide. Il n'y a par ailleurs aucun signe de formation de jonctions via des desmosomes entre les cellules fœtales et maternelles (53).

Le fœtus présente par ailleurs une enveloppe supplémentaire, entourant sa peau et la séparant du liquide amniotique, appelée membrane épidermale, d'origine épithéliale, dont le rôle est inconnu à ce jour, mais supposée thermorégulatrice et protégeant de la dessiccation (50,53,54).

Il existe peu de dystocie chez le dromadaire. Après la mise-bas, la femelle dromadaire ne lèche pas son petit, mais le renifle seulement (53).

Les avortements qui peuvent être constatés, sont dus principalement, en ce qui concerne les maladies infectieuses, à la brucellose ou à la trypanosomose (52).

Les naissances ont lieu entre Septembre et Avril (pic en Janvier-Février) aux Emirats Arabes Unis. Le sevrage des jeunes est réalisé entre 8 et 12 mois d'âge.

## 5. Particularités de l'examen clinique

**Comportement :** Un animal en bonne santé a un port de tête haut, approximativement à hauteur de la bosse. Un animal faible aura un port de tête plus bas, voire la tête et le cou retournés vers le thorax chez un animal malade en décubitus latéral (55).

**Poids et score corporel :** Les adultes pèsent de 300 à 650 kg en général (certains mâles castrés précocement peuvent peser jusqu'à 1 134 kg) tandis que les nouveau-nés pèsent entre 26 et 45 kg. Les individus bien nourris présenteront une bosse bien remplie et érigée, tandis que les individus émaciés auront une bosse plus petite voire ramollie (46,47,51).

Il est possible de peser les animaux directement sur une balance, ce qui permet d'avoir le poids exact, mais ceci nécessite généralement un apprentissage de l'animal. Il existe des formules pour approximer le poids d'un individu, qui permettent d'établir le poids de l'animal à partir d'une corrélation existant entre le tour de poitrine ou périmètre thoracique et le poids vif de l'animal (9). En voici deux exemples :

- Formule de Schwartz (1983) (la plus utilisée) (28) (Fig. 9) :

poids (kg) = hauteur d'épaule (m) x périmètre thoracique en avant de la bosse (mesure A) (m) x périmètre thoracique au niveau de la bosse (mesure B) (m) x 50 (pour les grandes races, 53 pour les petites races, 48 pour les jeunes de moins d'un an)

- Formule de Bucci (1984) (56) : poids (kg) = périmètre abdominal (cm) x 3,06 - 290,6

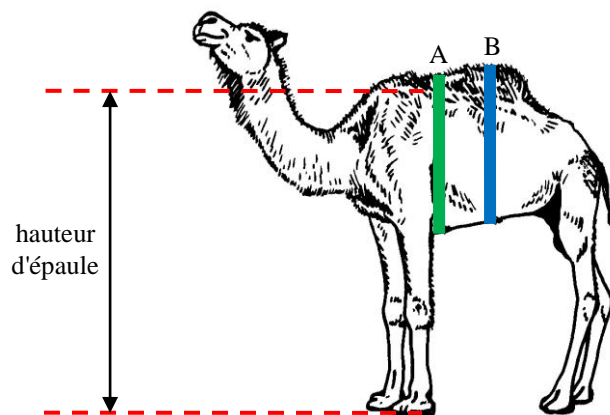


Figure 9 : Estimation du poids selon la formule de Schwartz.

légende : A = périmètre thoracique en avant de la bosse, B = périmètre thoracique au niveau de la bosse

**Température :** Le dromadaire présente d'importantes variations de température corporelle, étant un animal adapté à de larges changements de température ambiante : 34,5 à 39°C avec une moyenne à 37,5°C d'après Uilenberg (11) ou 36,5 à 42°C d'après Fowler *et al.* (55). Les jeunes présentent des variations de température plus importantes, comme les mécanismes de thermorégulation ne sont pas aussi efficaces que ceux des adultes, et ont une température corporelle globalement augmentée de 0,5 à 1°C par rapport à l'adulte. La température augmente la journée, puis diminue pendant la nuit, la chaleur étant dissipée par un phénomène de conduction et radiation. Il faut donc être prudent quant à l'interprétation d'une prise de température chez cette espèce, et ne pas conclure à une hyperthermie trop rapidement. Le meilleur moment pour prendre la température d'un animal est de réaliser la mesure tôt le matin lorsque la température extérieure n'a pas encore trop augmenté, sur un animal reposé. A l'inverse, un animal en hypothermie représente souvent un signe défavorable, et un pronostic sombre (11,55).

**Appareil cardiovasculaire :** L'auscultation cardiaque se fait en arrière de la pointe de l'épaule. La fréquence cardiaque varie de 32 à 36 battements par minute chez un animal détendu, mais peut monter jusqu'à 44 battements par minute chez un animal nerveux. Une arythmie sinusale respiratoire est fréquente chez ces animaux (55).

**Appareil respiratoire :** La zone d'auscultation est délimitée par le bord caudal du triceps crânialement, l'extrémité proximale des côtes caudalement et la pointe de l'épaule ventralement. Les bruits respiratoires ne sont pas audibles chez un dromadaire en bonne santé. La fréquence respiratoire varie de 5-8 à 10-12 mouvements par minute (55).

**Appareil digestif :** L'auscultation digestive permet d'entendre des bruits gastro-intestinaux seulement à gauche en général, ce qui correspond à l'emplacement du premier compartiment gastrique où a lieu la majeure partie des processus de fermentation. La palpation n'est habituellement pas possible chez cette espèce. La motilité gastrique est de 3 à 4 mouvements par minute, voire est légèrement augmentée après le repas. Les fèces sont sèches, bien moulées, en forme de boulettes, et généralement dispersées (55).

**Aspect des urines :** l'urine des dromadaire est claire, de couleur jaune pâle à ambré, voire très foncée lorsque l'animal est déshydraté (55).

Le reste de l'examen clinique ne présente pas de particularités par rapport aux autres espèces.

## **6. Réalisation de prélèvements et analyses**

### **a) Prise de sang**

Chez les camélidés, il faut être particulièrement précautionneux lors d'une prise de sang à la veine jugulaire, étant donné que l'artère carotide est facilement ponctionnée par erreur. Deux sites de ponction sont à privilégier : à la base du cou à proximité de l'entrée de la poitrine, ou proche de la tête ventralement au bord inférieur de la mandibule.



La ponction haute est la plus utilisée. Elle présente l'avantage d'avoir la veine jugulaire en position plus superficielle et bien séparée de l'artère carotide, mais la peau étant plus épaisse à cet endroit, la visualisation de la veine est plus difficile. Elle est réalisée sur un animal dont la tête est légèrement fléchie et penchée du côté opposé à l'opérateur, juste dorsalement à l'intersection entre une ligne imaginaire située ventralement au bord inférieur de la mandibule et une ligne suivant le tendon du muscle sterno-mandibulaire (Fig. 10).



Figure 10 : Réalisation d'une prise de sang à la veine jugulaire en ponction haute (cliché J. Merlin)

La ponction basse a l'avantage d'être réalisée à un endroit où la peau est plus fine et les mouvements de tête sont moins problématiques, mais l'artère carotide est très proche de la veine jugulaire à ce niveau. Elle est réalisée sur un individu dont la tête est légèrement redressée, ventralement au processus transverse de la sixième vertèbre cervicale. L'aiguille doit être dirigée en direction du centre du cou (55).

La Figure 11 résume les différents sites de veinoponction utilisables chez le dromadaire.

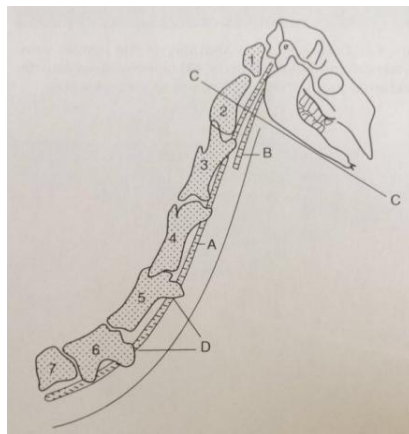


Figure 11 : Sites de veinoponction de la veine jugulaire chez le dromadaire d'après Fowler et al. (55).  
légende : (A) : veine jugulaire, (B) : tendon du muscle sternotrachéal, (C) : site de ponction haute, (D) : site de ponction basse

Cependant, la veine jugulaire étant plus facilement visible une fois comprimée chez le dromadaire par rapport à d'autres camélidés, la ponction peut se faire sur toute la région où elle est visible (55).

D'autres sites de veinoponction sont utilisables : la veine saphène interne, la veine coccygienne ventrale (très superficielle chez le dromadaire), des veines auriculaires (la plus grosse et facile à prélever étant sur le bord dorsal de l'oreille), la veine brachiale ou encore la veine thoracique latérale (55).

### b) Autres prélèvements

Le prélèvement de LCR peut se faire par ponction haute (espace atlanto-occipital) ou basse (espace lombo-sacré), comme chez les autres espèces (55).

Le prélèvement de lymphes au niveau d'un nœud lymphatique est plus souvent réalisé au niveau du nœud lymphatique préscapulaire, qui est le plus facile à manipuler (6,57).

Une arthrocentèse peut se faire au niveau de l'épaule, du coude, du carpe, du grasset ou encore du jarret (55).

### c) Paramètres hématologiques

Les camélidés se sont adaptés à des conditions environnementales hostiles. Des changements hématologiques font partie de cette adaptation. Les érythrocytes ont la particularité d'avoir une forme ovale, qui leur permet d'éviter une accumulation dans les petits capillaires lorsque l'animal est déshydraté et de résister à un gonflement de 240% contribuant à une réhydratation rapide de l'animal par absorption rapide d'une grande quantité d'eau. Ils sont de petite taille, ellipsoïdes et circulent en grand nombre, comparés aux autres espèces de mammifères. Ceci résulte en un taux d'hématocrite diminué (58).

Les paramètres hématologiques usuels sont résumés dans le Tableau III.

Tableau III : Paramètres hématologiques du dromadaire adulte d'après Fowler *et al.* (58)

<b>Erythrocytes</b>	7,5-12.10 <sup>12</sup> /L
<b>Hémoglobine</b>	120-150 g/L
<b>Taux d'hématocrite</b>	26-38%
<b>Volume globulaire moyen (VGM)</b>	26-34 fL
<b>Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) (valeurs pour les camélidés en général)</b>	17-22 pg
<b>Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) (valeur pour les camélidés en général)</b>	365-509 g/L
<b>Thrombocytes</b>	200-700.10 <sup>9</sup> /L
<b>Leucocytes</b>	6-13,5.10 <sup>9</sup> /L
<b>Dont neutrophiles</b>	50-60%
<b>Dont lymphocytes</b>	30-45%
<b>Dont monocytes</b>	2-8%
<b>Dont éosinophiles</b>	0-6%
<b>Dont basophiles</b>	0-2%

#### d) Paramètres biochimiques et ionogramme

Les paramètres biochimiques et les valeurs usuelles du ionogramme sont résumés dans le Tableau IV.

Tableau IV : Paramètres biochimiques et ionogramme d'un dromadaire adulte d'après Fowler *et al.* (58)

Protéines totales (PT)	57-75 g/L
Albumine	30-43 g/L
Urée	1,07-7,5 mmol/L
Créatinine	0-194,5 µmol/L
Fibrinogène	2,5-4 g/L
ASAT (chez le jeune)	60-120 UI/L
PAL (chez le jeune)	60-140 UI/L
ALAT	7,3-5,9 UI/L
LDH (chez le jeune)	400-775 UI/L
CK (chez le jeune)	40-120 UI/L
Glucose	3,89-6,11 mmol/L
Cholestérol (valeur pour les camélidés en général)	20,8-79,2 mg/dL ou 0,54-2,06 mmol/L
P	1,13-1,94 mmol/L
Na	150-160 mmol/L
Cl	90-110 mmol/L
K	3,5-5,5 mmol/L
Ca (valeur pour les camélidés en général)	6,3-11 mg/dL ou 1,58-2,75 mmol/L

### 7. Les trypanosomoses du dromadaire

Le dromadaire peut être affecté par plusieurs espèces de trypanosomes : *T. congolense*, *T. brucei brucei*, *T. brucei gambiense*, *T. brucei rhodesiense* et *T. evansi*. *T. evansi* est la principale espèce affectant le dromadaire. Les autres espèces de trypanosome provoquent une maladie aiguë fréquemment mortelle (4,13). Les études traitant de la pathogénicité de *T. vivax* et *T. simiae* chez le dromadaire sont contradictoires (8).

## D. Les Emirats Arabes Unis

### 1. Situation géographique, paysage et climat

Les Emirats Arabes Unis sont situés au Sud-est de la péninsule arabe, dans le golfe Persique. Ils sont limitrophes des territoires d'Oman à l'est, de l'Arabie Saoudite au sud et à l'ouest, et partagent des frontières maritimes avec l'Iran et le Qatar. Ils sont composés de 7 Emirats (Abu Dhabi, Dubaï, Sharjah, Ajman, Umm Al Quwain, Ras Al Khaimah et Fujairah) réunis en Etat fédéral, d'une surface totale de 83 600 km<sup>2</sup> pour 9,27 millions d'habitants en 2016 (49,59). L'Emirat d'Abu Dhabi, hébergeant la capitale (Abu Dhabi), est le plus important des sept, représentant 86,67% du territoire des EAU, suivi de celui de Dubaï (5 % du territoire) (49) (Fig. 12).

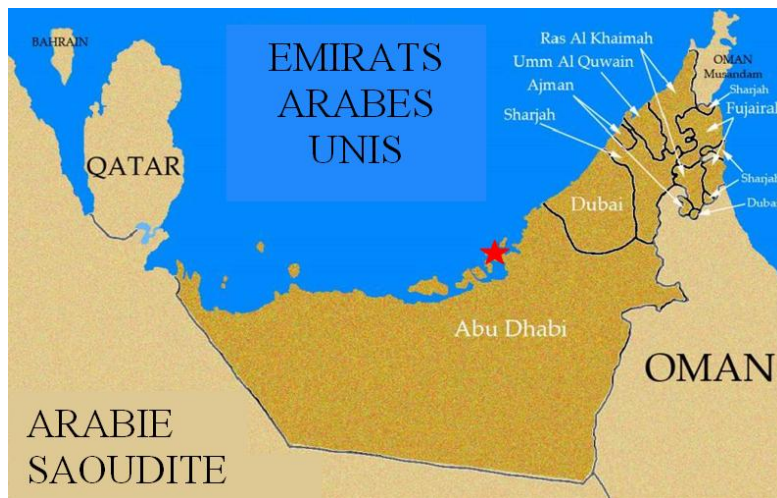


Figure 12 : Situation géographique des Emirats Arabes Unis, modifiée d'après le Ministère de l'Environnement et du Changement Climatique des Emirats (59), légende : la capitale d'Abu Dhabi est représentée par l'étoile

Les paysages rencontrés varient des sebkha, aux mers de sable et dunes (Fig. 13), ou encore aux oueds et oasis (49). Le pays compte des zones de moyennes montagnes à l'Est (2 000m). Le climat est caractérisé par des températures élevées et de faibles précipitations. De Mai à Octobre, les jours sont très chauds et secs avec des températures excédant les 40°C. De Novembre à Avril, les températures sont plus basses, pouvant descendre en dessous de 4°C la nuit dans certaines régions, notamment en montagne, avec des précipitations plus importantes. Ces dernières sont les plus abondantes en zones montagneuses (154 mm par an en moyenne), puis en zones côtières (80 mm par an), et sont plus rares au Sud et à l'Ouest du pays (49).



Figure 13 : Zone de désert à proximité d'Abu Dhabi (cliché J. Merlin)

## 2. Le dromadaire aux Emirats

Le pays compte 400 espèces de plantes vasculaires, 50 espèces de mammifères, 416 espèces d'oiseaux, 55 espèces de reptiles et entre 4 000 et 5 000 espèces d'invertébrés (49).

Les dromadaires représentent 8,92% du bétail élevé aux Emirats, soit 392 660 individus (données de 2014 d'après le Ministère de l'Environnement et du Changement Climatique des Emirats (59)), contre 47,29% de moutons, 42,01% de chèvres, 1,14% de bovins et 0,64% d'équidés (Fig. 14). Les EAU font partie des 20 premiers pays ayant la plus forte concentration de dromadaires.

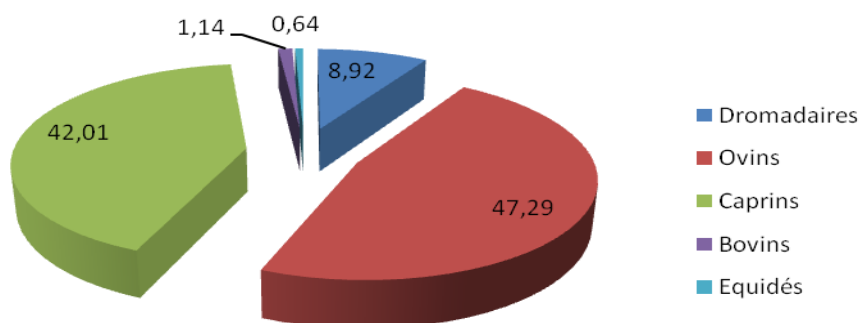


Figure 14 : Part des différentes espèces d'élevage aux Emirats

Les différentes races présentes sont, par exemple, les races *Majahim*, *Al-Hasmiya*, *Al-Khawawir* ou encore *Omani* et *Sudani*. Beaucoup de croisements sont faits entre les races existantes, selon les caractéristiques recherchées chez l'animal.

Les dromadaires sont aujourd'hui utilisés essentiellement aux Emirats pour les courses, les concours de beauté et le cuir. Certains individus ont une forte valeur économique, évaluée à plusieurs millions de Dirham. Ils sont également utilisés, dans une moindre mesure, pour la production de lait (quelques grosses fermes existent dans le pays, avec plusieurs milliers de têtes par établissement) et de viande (moins populaire), dans les zoos et comme attraction touristique.

Les élevages de dromadaires sont présents dans tous les Emirats (Fig. 15). En général ces fermes comptent moins de 100 dromadaires, sauf les grosses structures qui en possèdent plusieurs milliers parfois. Ces grosses exploitations, appartenant notamment aux Sheikhs, comprennent des animaux élevés pour les courses, pour les concours de beauté et pour la reproduction en général (surtout pour les dromadaires de course).

Les fermes laitières sont également de très grosses exploitations (plusieurs milliers de têtes) mais sont très peu nombreuses : seules deux gros élevages existent aux Emirats, à Dubaï et Al Ain.

La majorité des habitants possèdent quelques dromadaires, dont l'élevage reste traditionnel et non commercial, pour le prestige familial.

La plupart des élevages contient exclusivement des dromadaires, seuls quelques élevages, généralement de taille modeste, sont multi-espèces.

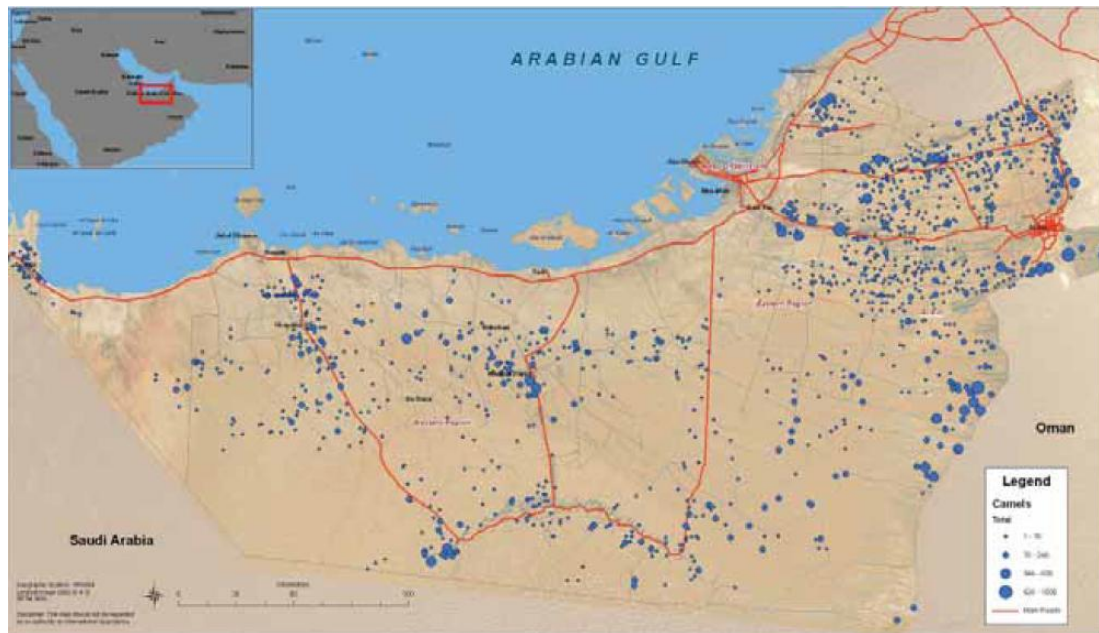


Figure 15 : Distribution et densité des troupeaux de dromadaires d'après Abdelfattah *et al.* (49), légende : les troupeaux sont représentés par les ronds bleus, la taille du rond est d'autant plus grande que la densité est élevée

Les élevages comptent beaucoup plus de femelles que de mâles, étant donné que celles-ci peuvent être élevées en communauté, contrairement aux mâles qui sont souvent seuls dans un troupeau, afin d'éviter les comportements agonistiques (Fig. 16 et 17).

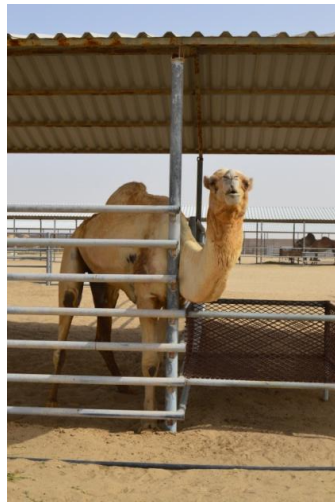


Figure 16 : Mâle isolé (cliché J. Merlin)



Figure 17 : Groupe de femelles (cliché J. Merlin)

Les animaux sont gardés dans des enclos extérieurs, pourvus en général d'une partie ombragée sous un toit de tôle (Fig. 18).



Figure 18 : Exemple d'enclos présent aux Emirats (cliché J. Merlin)

Les mouvements d'animaux sont relativement importants notamment pour les courses avec, en 2015, 82 643 dromadaires participant à des courses dans les pays voisins et 83 446 dromadaires de pays voisins participant à des courses aux Emirats (59). Ceci est un facteur important à prendre en compte dans la propagation du surra.

Les affections principales retrouvées chez les dromadaires aux Emirats sont les suivantes : la brucellose, la tuberculose bovine, le charbon, le camel pox, la fièvre de la Vallée du Rift, la fièvre catarrhale ovine, la rage et la trypanosomose (59).

### 3. La trypanosomose aux Emirats

Le trypanosome est le seul parasite sanguin diagnostiqué chez le dromadaire aux Emirats (36). Sa distribution géographique suit celle des dromadaires (10) et ceux-ci semblent appartenir à l'espèce la plus sensible au parasite dans le pays, et constitueraient le principal réservoir de la maladie (10). *Trypanosoma evansi* serait la seule espèce de trypanosomes présente dans ce pays (1), mais au vu du climat aride et très chaud du pays, assez peu favorable aux vecteurs, la trypanosomose à *T. evansi* est de relativement moindre importance aux Emirats par rapport à d'autres pays.

Les vecteurs potentiels de la maladie identifiés à ce jour aux EAU sont *Tabanus accensus*, *Tabanus polygonus* et *Stomoxys calcitrans* (36). On retrouve également des tiques de l'espèce *Hyalomma dromedarrii* (49).

La séroprévalence atteignait 15% dans les années 90 puis a chuté jusqu'à 5% suite à l'emploi massif de la mélarsomine comme trypanocide les années suivantes. Ce chiffre tend à augmenter depuis 2012 (Fig. 19), possiblement en raison de l'introduction de nouveaux animaux venant de contrées voisines non indemnes d'après Schuster *et al.* (36), les races locales n'étant que sporadiquement atteintes par la maladie d'après des observations microscopiques d'échantillons sanguins. Les souches retrouvées chez ces races sembleraient moins virulentes que celles isolées aux territoires d'Oman par exemple, d'après les observations du Central Veterinary Research Laboratory (CVRL) de Dubaï (test par inoculation dans des rongeurs de laboratoires, données non publiées) (36). Cette augmentation pourrait aussi s'expliquer par des phénomènes de résistance aux traitements utilisés ou une mauvaise gestion sanitaire de la maladie.

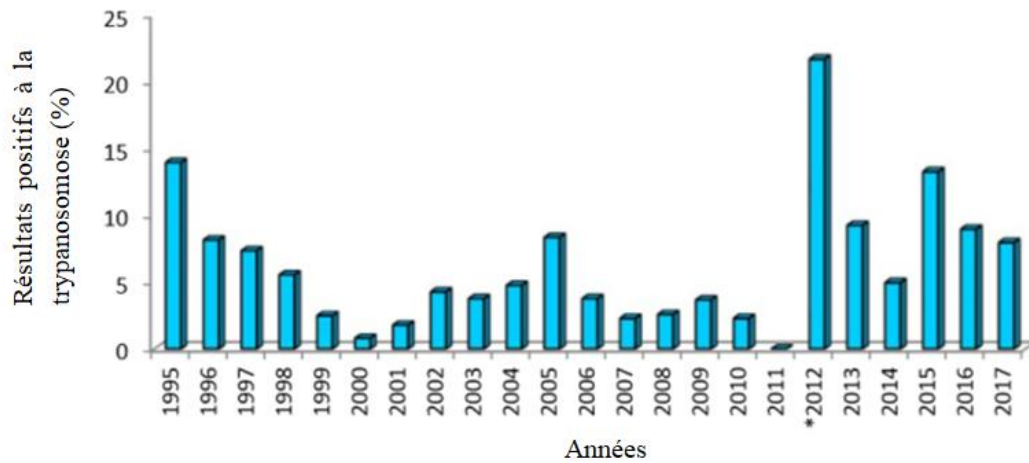


Figure 19 : Evolution de la séroprévalence (test ELISA) de la trypanosomose chez le dromadaire aux Emirats sur 22 ans d'après les prélèvements reçus par le CVRL d'après le rapport annuel de 2017 du CVRL (60)

Le CVRL a détecté des trypanosomes sur frottis sanguin chez 18 dromadaires sur 596 testés en 2016 et 2 sur 462 testés en 2017 (60).

La situation est sensiblement similaire en Arabie Saoudite (climat et types d'élevages proches), pays voisin des Emirats.



## ***E. Méthodes diagnostiques***

Le diagnostic clinique permet de suspecter une infection chez un individu mais les signes cliniques n'étant pas pathognomoniques, fluctuants, et très tenus en début d'infection, il doit être associé à d'autres méthodes afin d'avoir un diagnostic de certitude (28).

L'Organisation Mondiale de la Santé prône l'utilisation de méthodes répondant, tant que faire se peut, aux critères ASSURED : Abordable, Sensible, Spécifique, « User-friendly » ou facile d'utilisation, Rapide et Robuste, « Equipment-free » ou ne nécessitant pas d'équipement spécifique, « Deliverable to end users » ou utilisable sur le terrain (61).

Actuellement, un test fiable et bon marché, disponible sous forme de kit, fait encore défaut, ce pourquoi les recherches à ce sujet restent une priorité aujourd'hui. La diversité des espèces hôtes pour lesquelles des tests doivent être développés représente également un problème majeur quand à la standardisation de ces tests (2).

### **1. Prélèvements**

Les prélèvements qui peuvent être réalisés sur l'animal vivant sont les suivants : sang, lymphe, liquide synovial, LCR, écoulement séreux ou muqueux d'origine génital ou oculaire, sérosité des œdèmes (10,26).

D'autres prélèvements peuvent être effectués sur l'avorton ou l'animal mort lors de l'autopsie (foie, rate, nœud lymphatique, sang du cœur, des reins, des organes génitaux...) (10).

Les parasites étant plus concentrés au niveau de petits vaisseaux, il est parfois plus judicieux, lors de faible parasitémie par exemple, de faire un prélèvement sanguin au niveau de capillaires de l'oreille ou de la queue. Cependant, un prélèvement à la veine jugulaire est la plupart du temps satisfaisant et le sang est plus facile à collecter à ce niveau (57).

Les prélèvements sanguins réalisés sur tubes secs se conservent 6 à 10 heures au frais (15-20°C) tandis que les prélèvements réalisés sur tubes avec anticoagulant se conservent au froid (0-4°C). De manière générale, les échantillons sont conservés au froid, voire congelés ou cryoconservés dans de l'azote liquide pour un transport très long, si l'analyse n'est pas immédiate (26).

### **2. Analyses hématologiques**

Concernant les signes hématologiques, on peut retrouver une anémie (hémolytique et extravasculaire (37)) (32,42). On peut voir, dans les phases précoces de l'infection, des images d'hémolyse, d'hémophagocytose, d'anisocytose, de leucocytose avec lymphocytose, monocytose, neutrophilie et éosinophilie (1,32,43).

Les animaux infectés ont généralement un taux d'hématocrite plus bas, chutant à 25% voire 10% dans certains cas (8,31,42). Cette valeur d'hématocrite donne une notion de pronostic (9). Différents auteurs ont tenté de définir une valeur diagnostique permettant de déceler une infection, mais cette donnée est à relier au contexte clinique : elle dépend également de l'âge des animaux, du sexe, le d'état d'hydratation de l'animal... En effet, les mâles sembleraient avoir un taux d'hématocrite plus faible ainsi que les jeunes animaux d'après (22). L'étude de Berlin *et al.* (30) montre même une différence entre les animaux infectés symptomatiques qui présentent une anémie sévère, et les porteurs sains qui présentent des valeurs d'hématocrite normales ou très légèrement diminuées, sans anémie détectable.

On note parfois une augmentation du taux de méthémoglobinisation (42), la formation de complexes immuns, l'apparition d'une CIVD ou une expansion du système des phagocytes mononucléés.

### **3. Analyses biochimiques**

Les signes biochimiques peuvent se traduire par une hypoprotéïnémie associée à une hypergammaglobulinémie, une diminution du taux d'albumine, une augmentation de l'urée, une diminution de la concentration en fer, une diminution du taux de glucose (inversement proportionnelle au nombre de parasites (32)), une diminution des taux de calcium, chlore, potassium et sodium, une augmentation du stress oxydatif traduit par l'augmentation du taux de NO (production de radicaux libres), de malondialdéhyde (MDA) (peroxydation des lipides) et une diminution de l'activité antioxydante érythrocytaire (superoxyde dismutase (mais pas lors d'affection aiguë), glutathione et ascorbate) (32,42,43).

On peut également noter une augmentation des taux d'urée (notamment chez les femelles gestantes), une augmentation des SDH, ALAT et ASAT (1,32,42,43).

### **4. Analyses nécropsiques**

On peut remarquer à l'autopsie, en phase aiguë, des hémorragies largement disséminées, notamment au niveau du muscle cardiaque, un cœur élargi, une congestion vasculaire, une splénomégalie, des zones de nécrose focale dans le foie et la rate, une hyperplasie lymphoïde généralisée (1), une infiltration leucocytaire dans différents organes (foie, rate, reins, nœuds lymphatiques) en cas de parasitisme sévère, une adénomégalie avec un aspect succulent des nœuds lymphatiques, une hépatomégalie associée à une congestion passive, des reins pâles et brillants, du liquide en quantité plus abondante au niveau du thorax, des poumons ou du sac péricardique par exemple, de l'œdème sous-cutané.

Sur des cas plus chroniques, on observera une carcasse cachectique, souvent déshydratée, avec parfois des zones d'ulcérations au niveau des points de pression chez les animaux ne parvenant plus à se relever, une pâleur des muscles, un sang clair et très liquide, un cœur élargi voire une effusion péricardique, la présence d'œdème dans les tissus, des nœuds lymphatiques et une rate souvent d'aspect normal (8,11).

Une infection intra-utérine du fœtus d'une ânesse induite expérimentalement à été décrite par Kumar *et al.* (34) : le nouveau-né présentait, avant la prise de colostrum, une parasitémie, sans production d'anticorps associés, des phénomènes hémorragiques disséminés dans le foie, les reins, le cortex et la rate, avec un foie très remanié, des foyers de nécrose, une congestion associée à quelques foyers d'infiltration lymphocytaire, une infiltration de macrophages dans la capsule splénique, des nœuds lymphatiques succulents.

On peut faire une analyse microscopique ou une analyse PCR sur les échantillons prélevés, dans la limite des prélèvements possibles en fonction de la date du décès de l'animal et les conditions de conservation du cadavre.

## 5. Tests parasitologiques ou analyses microscopiques

Ces tests ont souvent une faible sensibilité, d'autant plus que la parasitémie à un caractère transitoire et fluctuant, la trypanosomose peut donc être sous-diagnostiquée par ces techniques (31).

Les méthodes de « **quantitative buffy coat** », **lyse et centrifugation** et **centrifugation en silicone** autrefois utilisées ont été abandonnées (26).

Il est possible de faire un diagnostic parasitologique à partir de la **dissection de vecteurs** par un examen microscopique sur un prélèvement de glandes salivaires. Cette technique est uniquement utilisée pour des études épidémiologiques (24) et est très difficilement utilisable dans le cas de *T. evansi* étant donné la multiplicité de vecteurs mécaniques existants et la non persistance du parasite dans l'insecte au-delà de quelques heures.

L'échantillon pour ces tests sera la plupart du temps du sang sur anticoagulant (26). L'analyse de l'échantillon doit être effectuée dans les heures suivant le prélèvement, car le parasite est lysé relativement rapidement (persistance 2 à 48 heures dans le prélèvement, selon la température de conservation du tube). De plus, il sera plus facilement visible au microscope s'il est encore très mobile (6).

Différents artéfacts peuvent être confondus avec des trypanosomes lors d'observation microscopique : les thrombocytes altérés, les dépôts de colorants ou des micro-organismes présents dans les colorants par exemple (35,57).

Les méthodes parasitologiques seront intéressantes pour identifier le parasite, au moins le sous-genre, sur la base de critères morphologiques et morphométriques (6) :

- présence de parasites de forme similaire (infection monomorphe), ou de formes différentes (infection polymorphe ou infection mixte par différentes espèces)
- présence ou absence d'un flagelle libre
- taille du parasite et forme (de sa partie postérieure notamment)
- taille et position du kinétoplaste
- degré de développement de la membrane ondulante

Il faut examiner un grand nombre de parasites pour obtenir un diagnostic précis de l'espèce ou les espèces mises en cause dans la maladie. La qualité de la coloration et la richesse du prélèvement seront cruciales dans ce diagnostic différentiel (13).

### a) Méthodes directes

#### (1) *Goutte de sang frais*

La technique de la goutte de sang frais ou « Wet Blood Film » (WBF) consiste à examiner une goutte de sang frais de 2 à 3 microlitres entre lame et lamelle (Fig. 20), et identifier les trypanosomes vivants au microscope optique (généralement au grossissement x200 à x400), soit directement, soit indirectement par la mobilité des érythrocytes, déplacés par les parasites présents. L'utilisation d'un microscope à fond noir ou à contraste de phase permet une meilleure visualisation des parasites. 40 à 50 champs sont observés (6,26).

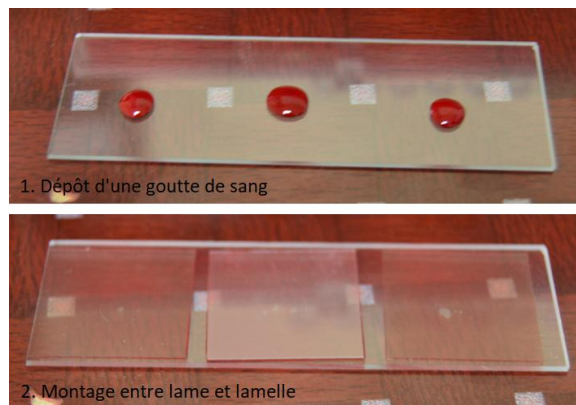


Figure 20 : Préparation de gouttes de sang frais d'animaux suspects pour analyse microscopique (clichés J. Merlin)

Cette méthode est simple, peu coûteuse, et permet d'établir un diagnostic de certitude si des parasites sont présents. Cependant, l'identification de l'espèce est impossible par cette technique, elle requiert la présence d'un laboratoire à proximité ou l'utilisation d'un microscope de terrain et présente une faible sensibilité analytique de  $10^4$  à  $10^6$  trypanosomes/ml (6,24,26). Une sensibilité de terrain de 24,32% est donnée par l'étude de Singh *et al.* (PCR comme test de référence) (29), tandis que Monzon *et al.* (62) l'estime à 53,8% dans une autre étude. Nous n'avons pas trouvé de valeur chiffrée de spécificité dans la littérature pour cette technique.

Cette technique présente donc une faible valeur prédictive négative ou VPN (probabilité que l'individu soit sain si le test est négatif), mais sans doute une assez bonne valeur prédictive positive ou VPP (probabilité que l'individu soit infecté si le test est positif) : elle est intéressante pour des résultats positifs uniquement.

La même technique peut s'appliquer à de la lymphe. Elle est très peu utilisée (24).

## (2) *Goutte épaisse*

La technique de la goutte épaisse ou « Thick blood smear » correspond à une goutte de sang frais de 6-8 microlitres déposée sur une lame et étalée de manière concentrique sur 2 cm de diamètre à l'aide du coin d'une autre lame. Celle-ci est ensuite séchée et passée quelques secondes dans l'eau distillée pour provoquer une hémolyse. La lame est colorée au Giemsa sans être préalablement fixée (30 minutes de coloration). Cette coloration permet de lyser les hématies, ce qui permet de mettre en évidence les parasites présents plus facilement. D'autres colorations rapides peuvent également être utilisées (RAL 555, Diff Quick...). L'observation microscopique s'effectue au grossissement x400 à x1000 à l'immersion de préférence.

Cette méthode présente les mêmes avantages que l'observation de sang frais entre lame et lamelle. Elle présente également l'avantage de concentrer le contenu d'une goutte de sang sur une petite zone, ce qui permet de voir des parasites plus rapidement. Cependant, le diagnostic ne peut pas être réalisé immédiatement (surtout avec une coloration au Giemsa), les trypanosomes peuvent être altérés par le procédé et donc l'identification de l'espèce sera impossible en cas d'infection mixte, la sensibilité analytique du test est limitée, de l'ordre de  $10^4$  à  $10^5$  trypanosomes/ml (26). La sensibilité de terrain est de 44,67% (culture *in vivo* pris comme test de référence) dans l'étude de Pathak *et al.* (63). Nous n'avons pas trouvé de valeur chiffrée de spécificité dans la littérature pour cette technique.

Cette technique est applicable sur un échantillon de lymphe (6,24,26).

### (3) *Frottis*

Le frottis ou « Thin blood smear » (TBS) se réalise en déposant une goutte de sang de 3-4 microlitres à l'extrémité d'une lame puis en l'étalant à l'aide d'une seconde lame. Une fixation au méthanol (3 minutes) puis une coloration au Giemsa (ou coloration Diff-Quik, RAL 555...) sont effectuées. L'échantillon est observé au microscope au grossissements x400 puis x1000 pour identifier les espèces de parasites présentes (Fig. 21). 50 à 100 champs doivent être examinés au grossissement x400 puis x1000 à l'immersion pour considérer la lame comme négative. Si un trypanosome est visible, 20 champs supplémentaires doivent être observés pour vérifier si d'autres espèces sont présentes ou non. Les parasites sont généralement concentrés au niveau de la tête du frottis.

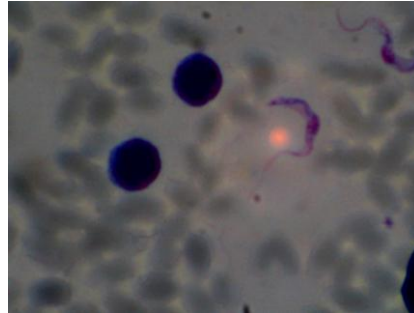


Figure 21 : Frottis coloré observé au microscope optique (x1000) mettant en évidence le parasite (cliché A. Hatem)

La sensibilité analytique du frottis est faible : de l'ordre de  $10^5$  trypanosomes/ml (26) à plus de  $5 \cdot 10^5$  trypanosomes/ml (6,31) selon les études. La sensibilité de terrain a été estimée à 10,8% (31), 27,02% (29) ou 45,6% (62) selon les études. Cette technique trouve donc son intérêt dans l'identification d'espèce après avoir réalisé une observation en goutte épaisse par exemple. Nous n'avons pas trouvé de valeur chiffrée de spécificité dans la littérature pour cette technique.

Cette technique est aussi applicable sur un prélèvement de lymphe. L'identification d'espèce est possible comme avec le frottis sanguin, mais cette méthode n'est pas adaptée au diagnostic car les lymphocytes ne sont pas lysés par la coloration, rendant la visualisation des parasites difficiles et nécessitant un étalement très fin (6,24,26).

Souvent, les deux techniques précédentes sont réalisées sur la même lame comme suit (Figure 22) (26).

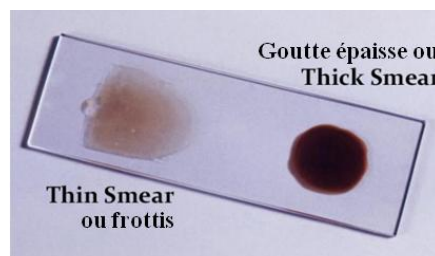


Figure 22 : Frottis sanguin et goutte épaisse, modifié d'après Sagar (64)

Il est également possible d'effectuer un frottis à partir de matériel cérébral (« Brain smear ») : un prélèvement de matière grise est préféré car cette région contient de nombreux capillaires susceptibles d'héberger le parasite. L'échantillon est déposé sur une lame puis écrasé à l'aide d'une seconde lame, fournissant deux frottis à analyser. La fixation et coloration est identique à celle d'un frottis sanguin. Cette méthode n'est pas souvent utilisée pour le diagnostic de trypanosomose mais permet d'élucider la cause de symptômes nerveux, pouvant être provoqués par divers agents comme *Babesia*, *Theileria*, la rage ou encore la listériose (57).

Les techniques précédentes peuvent également être utilisées sur du liquide d'œdème (6).

## b) Méthodes de concentration

Les méthodes d'observation microscopique après concentration ont une meilleure sensibilité analytique que les méthodes directes, de l'ordre de 100 à 200 trypanosomes/ml (10). La sensibilité de terrain de ces techniques varie de 46% à 88,2% selon les techniques et les études.

### (1) Méthode de Woo

La méthode de Woo est également appelée « Hematocrit Centrifugation Technique » (HCT) ou examen direct du *buffy coat* (« *Buffy Coat* examination »).

Le *buffy coat* correspond, après centrifugation d'un échantillon de sang total associé à un anticoagulant, à la couche située entre le plasma et les érythrocytes, contenant les leucocytes et plaquettes. Les trypanosomes ont tendance, à cause de leur gravité spécifique, à se concentrer à la limite entre le plasma et le *buffy coat* ou dans le *buffy coat*.

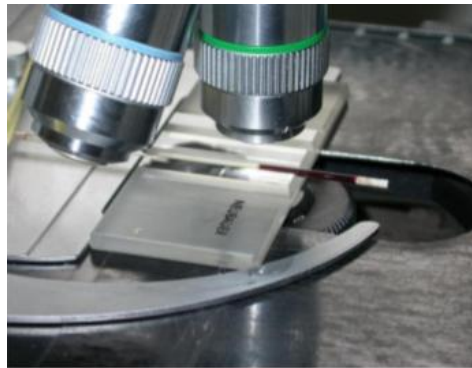


Figure 23 : Dispositif d'examen du *buffy coat* par observation microscopique d'après Desquesnes (26)

Un échantillon sanguin prélevé sur tube EDTA ou hépariné est centrifugé, le *buffy coat* est récupéré puis placé entre lame et lamelle pour être examiné au microscope directement (x100-x200), éventuellement en fermant le diaphragme. Les trypanosomes sont situés en périphérie de la lamelle.

Une autre variante est la centrifugation en micro-tubes à hématoците (« **Micro-Hématocrit Centrifugation Technique** » **mHCT**), avec une centrifugation à 12 000 tpm pendant 5 minutes pour observer les parasites au niveau de la zone d'intérêt directement à travers le tube, celui-ci étant placé sur une cellule de Neubauer ou un porte-tube capillaire (le tube est placé horizontalement sur une lame dans une gouttière formée par deux morceaux de lames collées à la première) (Fig. 24). Le taux d'hématocrite est directement lisible sur le tube via un abaque, apportant une information sur le degré d'anémie, et la lecture microscopique est réalisée à l'immersion directement sur le tube (x400), en faisant tourner celui-ci régulièrement pour observer tout le *buffy coat*.

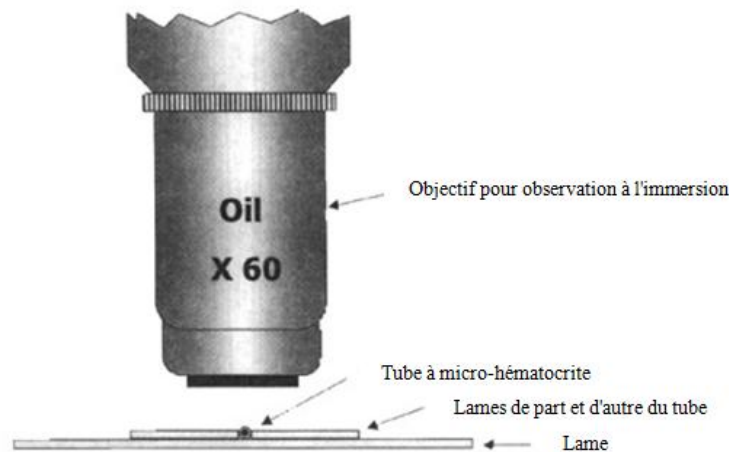


Figure 24 : Montage pour examen direct du *buffy coat*, modifiée d'après Uilenberg (24)

La sensibilité analytique de cette méthode est supérieure aux méthodes microscopiques directes, de l'ordre de 50 à 200 trypanosomes/ml (6) ou  $10^2$  à  $10^3$  trypanosomes/ml selon les études (24,26). La sensibilité de terrain de ce test est estimée à 46% (65), 69,6% (66) ou 71,7% (62) selon les études. La sensibilité est d'autant plus grande que l'échantillon est frais et les trypanosomes mobiles : il faut donc conserver l'échantillon au frais, faire l'analyse dans les 2 à 4h si possible et immédiatement après centrifugation. Nous n'avons pas trouvé de valeur chiffrée de spécificité dans la littérature pour cette technique. Cette technique est utilisable sur le terrain, facile d'utilisation, mais requiert un équipement spécifique et ne permet pas l'identification de l'espèce du parasite (2,6,24,26).

## (2) *Méthode de Murray*

La méthode de Murray ou technique du *buffy coat* par contraste de phase ou sur fond noir (Darkground/phase contrast *buffy coat* methode DG/BCM) est relativement semblable à la méthode de Woo. Seule l'analyse microscopique diffère dans cette technique.

Le *buffy coat* est récupéré après centrifugation ou le tube à micro-hématocrite est coupé avec une pointe diamant 0,5 à 1 mm en-dessous de la jonction entre le *buffy coat* et la couche d'hématies, incluant la couche supérieure des globules rouges (l'autre côté est éventuellement coupé au niveau de la jonction avec le plasma) afin de déposer le contenu du *buffy coat* sur une lame (Fig. 25). L'échantillon est éventuellement mélangé sur la lame avant d'ajouter une lamelle. Le matériel dense est écrasé avec la lamelle pour permettre une meilleure observation microscopique (x200-x500). Celle-ci peut être réalisée avec un microscope classique, un microscope à fond noir ou à contraste de phase, ces derniers permettant de voir les parasites plus aisément par un éclairage spécifique qui améliore le contraste. Environ 200 champs doivent être observés au grossissement x400 pour déceler des trypanosomes.

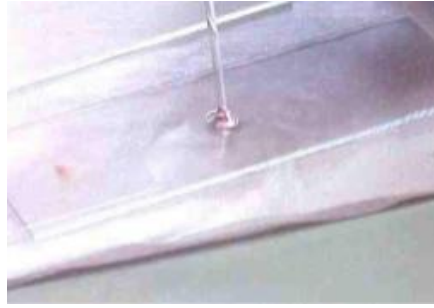


Figure 25 : Dépôt du *buffy coat* sur une lame d'après Desquesnes (26)

Ceci peut permettre d'augmenter légèrement la sensibilité par rapport à la méthode précédente. Néanmoins, ceci n'est pas toujours le cas, la sensibilité de terrain obtenue par Monzon *et al.* (62) étant de 63,4%, donc inférieure à celle trouvée pour la technique de Woo. De plus, la récolte du *buffy coat* nécessite une certaine technicité et la qualité de la technique est donc variable selon le manipulateur. Une coloration peut être réalisée et permet de faire un diagnostic spécifique du parasite, mais le fait de retirer la lamelle peut altérer la qualité du prélèvement et donc diminuer la sensibilité de la technique une fois la lame colorée. Il est préférable d'utiliser la technique de Woo puis de réaliser un étalement de *buffy coat* qui sera coloré pour identification de l'espèce en cas de positivité (6,24,26). Nous n'avons pas trouvé de valeur chiffrée de spécificité dans la littérature pour cette technique.

La sensibilité de la méthode du *buffy coat* peut être encore améliorée par une double centrifugation : 1 500 µl de sang sont centrifugés, le *buffy coat* est placé dans un tube à micro-hématocrite puis centrifugé à nouveau, le *buffy coat* de la deuxième centrifugation est observé au microscope. Cette méthode est coûteuse, délicate dans la récolte du *buffy coat* et chronophage. Elle est rarement utilisée (26).

Ces deux dernières techniques permettant de mesurer le taux d'hématocrite, elles peuvent être intéressantes à utiliser dans le cas d'un programme de surveillance pour sélectionner des échantillons suspects en vue d'une analyse PCR ultérieure. Elles peuvent être utilisées sur de grands effectifs, mais requièrent un matériel spécifique (6,26).

### (3) *Chromatographie en mini colonne d'échange d'anions*

La chromatographie en mini colonne d'échange d'anions (Mini-anion exchange centrifugation technique maECT) consiste à faire passer l'échantillon (*buffy coat* ou sang total hépariné) à travers une colonne chromatographique à échange d'anions composée d'une plaque de diéthyl amino-ethyl (DEAE)-cellulose équilibrée par une solution tampon (tampon phosphate salé (phosphate buffered saline PBS) ou tampon phosphate salé glucosé (phosphate buffered saline glucose PSG)). Cette plaque contenant des molécules chargées positivement, elle permet la séparation des molécules analysées en fonction de leur charge avec une force de liaison à la plaque dépendant du degré de la charge négative de la molécule. Les cellules de l'hôte étant chargées négativement par rapport aux trypanosomes, elles sont adsorbées sur la colonne, dont le pH et les conditions ioniques sont adaptées à l'espèce analysée, tandis que les trypanosomes sont élués, récoltés, puis centrifugés (525 à 1000g pendant 10 minutes), avant que le culot soit examiné au microscope (x100-x200).

Il est recommandé d'utiliser un tube hépariné (non chélateur du Ca) et de réaliser l'analyse dans les 30 min ainsi que d'éviter l'accumulation de poussière dans le prélèvement, ceci pouvant altérer l'interprétation microscopique.



Cette technique était initialement utilisée comme technique de purification des parasites dans le sang (pour la préparation d'antigènes par exemple), mais a été adaptée, chez l'Homme, à une utilisation diagnostique. Cette méthode pourrait être utilisée comme méthode de détection d'un faible taux de parasitisme sur le terrain.

Elle présente une bonne sensibilité analytique (10 fois plus élevée si la méthode est appliquée sur un *buffy coat*) : détection de moins de 100 trypanosomes/ml pour un volume sanguin de 350  $\mu$ l (67) ou  $10^2$  à  $10^3$  trypanosomes/ml (26) selon les études. La sensibilité de terrain est évaluée à 88% par Lumsden *et al.* (65). Nous n'avons pas trouvé de valeur chiffrée de spécificité dans la littérature pour cette technique. Elle est cependant relativement chronophage et très coûteuse et n'est pas adaptée à l'analyse d'un grand nombre d'échantillons (2,6,26,68).

### **c) Méthodes de culture**

#### **(1) Culture in vitro**

La culture *in vitro* des différentes espèces de trypanosomes est difficile et délicate, donnant des résultats irréguliers (biais de sélection selon les espèces ou les souches), est coûteuse et nécessite des protocoles adaptés. Elle est donc très peu utilisée, l'espèce *T. theileri*, non pathogène, étant la seule à se cultiver facilement à ce jour. Un protocole a été décrit pour *T. brucei*, permettant la culture des formes procycliques, mais nécessite un matériel spécifique et un temps de culture très long, n'étant pas adapté à une utilisation à grande échelle (26).

#### **(2) Culture in vivo**

La culture *in vivo* correspond à une inoculation à des rongeurs (rats ou souris) de laboratoire (mouse inoculation MI). Les trypanosomes présents chez des animaux subcliniques ou présentant une faible parasitémie peuvent être révélés par l'inoculation du sang à tester chez des rats ou souris de laboratoire. Cette technique doit être utilisée uniquement lorsqu'elle peut être justifiée, étant donné que la tendance actuelle est à la limitation de l'utilisation d'animaux d'expérimentation. Les rats sont généralement plus faciles à infecter. Une inoculation intrapéritonéale du sang à analyser est effectuée, après ajout d'anticoagulant, dans au moins 2 rongeurs. Les quantités à injecter sont de 0,1 à 1 ml pour une souris et 0,5 à 1,5 ml pour un rat. Un prélèvement à la veine caudale latérale est réalisé 48 heures après inoculation (une goutte peut suffire), puis l'échantillon est analysé par un examen microscopique. Il est préférable de réitérer les examens microscopiques pendant 2 semaines à 2 mois et au moins 2 fois par semaine, car la parasitémie est variable et les souches de trypanosomes ont une pathogénicité variable : certaines sont visibles dans le sang du rongeur en moins de 48h et provoquent la mort de celui-ci en quelques jours, tandis que d'autres mettent plusieurs jours à apparaître et peuvent perdurer chez l'animal pendant plusieurs semaines. La période d'incubation moyenne est de  $5 \pm 2$  jours.

La sensibilité analytique de cette technique est très importante (accrue par examen du *buffy coat*) : 1,25 trypanosomes/ml (6,24), 20-50 trypanosomes/ml (10) ou  $10-10^3$  trypanosomes/ml (26) selon les études. La sensibilité de terrain est de 86,4% dans l'étude de Njiru *et al.* (28) et 88,2% dans l'étude de Monzon *et al.* (62). La sensibilité de cette méthode varie en fonction des souches de trypanosomes et de la sensibilité des animaux de laboratoire infectés (sensibilité accrue avec des animaux immunosupprimés (28), mais plus cher). Nous n'avons pas trouvé de valeur chiffrée de spécificité dans la littérature pour cette technique. Cette méthode très intéressante en tant qu'outils de recherche permettant la modélisation d'infection par des trypanosomes avec des conditions standardisées, mais elle n'est pas réalisable en routine.

Elle sera donc utilisée pour :

- l'isolement de souches d'intérêt particulier (suspicion de chimiorésistance, pathogénicité élevée)
- des animaux suspects vivants dans une zone non infectée ou destinés à aller dans une zone indemne ou de grande valeur économique
- la production de parasites en grande quantité pour la fabrication d'antigènes (6,24,26).

#### **d) Sensibilité comparée des tests parasitologiques**

La sensibilité analytique correspond à la plus petite quantité de parasites détectable dans un échantillon. Elle est calculée et donne une indication, mais est à différencier de la sensibilité réelle sur le terrain, qui est la probabilité de détecter par un technique diagnostique un animal infecté. Cette dernière dépend du stade de l'infection, du statut immunitaire de l'hôte, de sa susceptibilité, de l'espèce parasitaire concernée... Elle doit donc être ré-estimée sur le terrain afin de prendre en compte ce contexte.

D'après Uilenberg (24), la sensibilité des techniques directes et de concentration classées par ordre décroissant est la suivante : méthode de Murray, méthode de Woo, goutte épaisse, goutte de sang frais, frottis sanguin.

La sensibilité des méthodes parasitologiques peut être améliorée par utilisation des méthodes de Woo et inoculation dans des rongeurs (26). Cependant, ces dernières techniques sont plus chronophages, coûteuses, et posent un problème éthique pour l'inoculation *in vivo*.

Le Tableau V rassemble l'ensemble des caractéristiques de chaque technique parasitologique<sup>1</sup>.

Tableau V : tableau récapitulatif des techniques parasitologiques, modifié d'après Desquesnes (26)

Technique	Sensibilité analytique (trypanosomes/ml)	Sensibilité de terrain (%)	Spécificité	Avantages	Inconvénients
<b>Examens microscopiques directs</b>					
<b>Goutte de sang frais</b>	10 <sup>4</sup> -10 <sup>6</sup> (6,24,26)	24,32 (29), 53,8 (62)	Faible	Simple, rapide, économique	Sensibilité faible
<b>Goutte épaisse</b>	10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup> (26)	44,67 (63)	Faible	Simple, économique	Sensibilité faible, diagnostic retardé
<b>Etallement sanguin</b>	10 <sup>5</sup> (26), > 500 000 (6,31)	10,8 (31), 27,02 (29), 45,6 (62)	Sous-genre	Spécifique, simple, économique	Sensibilité faible, diagnostic retardé
<b>Techniques de concentration</b>					
<b>Woo</b>	10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup> (24,26), 50-200 (6)	46 (65), 69,6 (66), 71,7 (62)	Sous-genre	Spécifique, sensible, rapide, valeur d'hématocrite	Analyse à faire rapidement
<b>Murray</b>	10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup> (26)	63,4 (62)	Sous-genre	Spécifique, sensible, valeur d'hématocrite	Analyse à faire rapidement, chronophage
<b>maECT</b>	10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup> (26)	88 (65)	Sous-genre	Isolement des parasites	Long, coûteux
<b>Culture</b>					
<b>In vitro</b>	10-10 <sup>2</sup> (26)	/	Espèce ou genre	Sensibilité pour certaines espèces	Long, coûteux, résultat différé, pas de protocole réellement adapté aujourd'hui
<b>In vivo - inoculation rongeurs</b>	10-10 <sup>3</sup> (26), 1,25 (6,24), 20-50 (10)	86,4 (28), 88,2 (62)	Espèce ou genre	Très sensible	Incertain, long, coûteux, éthique

## 6. Tests sérologiques

Ces techniques sont plus sensibles, mais il n'est pas possible de distinguer les infections en cours de celles passées si l'on détecte des anticorps dirigés contre le parasite, qui persistent dans l'organisme après une infection pendant quelques mois (1,31,41). Toutefois, si l'on détecte une séropositivité plus de 4 mois après un traitement, on peut fortement suspecter une infection active (26).

Ces tests sont standardisés et utilisés en recherche, dans des études épidémiologiques, ou pour contrôler la validité d'une méthode de lutte, mais semblent moins adaptés à une utilisation de terrain (24). Ils sont néanmoins recommandés par l'OIE, car plus sensibles que les tests parasitologiques (35).

La fluctuation antigénique existante en cas d'infection et les infections au stade précoce peuvent amener à des faux négatifs avec ces techniques.

Il existe souvent des réactions croisées avec d'autres espèces de trypanosomes pathogènes que sont *T. vivax* (en Amérique du Sud) ou *T. equiperdum* (En Asie du Sud-Est) (2,31). Il est donc important dans les régions où sont présents plusieurs de ces parasites d'utiliser plusieurs méthodes sérologiques différentes associées à des méthodes parasitologiques ou à la PCR (2).

<sup>1</sup> La culture *in vivo* est plus sensible que les techniques mHCT et CATT/*T. evansi* (technique sérologique décrite plus loin) d'après Njiru *et al.* (28).

Historiquement, différentes techniques ont été utilisées, comme la **floculation**, le **test au formol**, la **précipitation du chlorure de mercure**, ou la **mesure de turbidité du timolol**, qui mesurent une augmentation des globulines sériques comme témoin d'infection, mais ne sont pas spécifiques d'infections à *T. evansi*. Ces tests ne sont plus d'actualité, mise à part le **test au formol** qui est parfois encore utilisé chez le dromadaire. Ce dernier consiste en l'ajout de quelques gouttes de formaldéhyde dans 1 ml de sérum à tester. Le résultat est positif quand le sérum coagule immédiatement et prend une couleur blanche. Il est négatif quand cette réaction met plus de 30 minutes à apparaître ou qu'aucune réaction n'a lieu. Au vu des propriétés cancérogènes et toxiques du formol, et de la non spécificité du test, il n'est plutôt pas recommandé (6).

D'autres tests ont été utilisés pour détecter des anticorps spécifiques d'antigènes de trypanosome, comme des tests d'agglutination directs ou indirects ou des tests de fixation du complément, qui ne sont plus utilisés aujourd'hui (6).

Les tests actuels sont préférentiellement réalisés sur du plasma ou sérum. Chez les camélidés, il faut éviter l'utilisation de sérum déposé sur papier filtre pour les analyses nécessitant un long transport, en raison de la structure particulière de leurs anticorps, et privilégier un envoi de sérum congelé (26). Il est important d'utiliser des tests validés et standardisés afin d'avoir des résultats fiables. Il est aussi important de prendre en compte la variabilité des souches à *T. evansi* (souches de type A ou de type B selon les régions par exemple) (6).

#### **a) Détection d'anticorps ou tests indirects**

##### **(1) Détection d'immunoglobulines G**

###### **(a) Immunofluorescence indirecte**

L'Immunofluorescence indirecte (IFI) est aussi nommée « Indirect immunofluorescence antibody test » (IFAT).

En ce qui concerne la préparation des lames : des trypanosomes sont cultivés dans des animaux de laboratoire, le sang des animaux infectés est ensuite prélevé et les trypanosomes sont extraits via une chromatographie en minicolonne d'échange d'anions, puis fixés sur une lame par un mélange d'acétone froid (80%), de formol (0,25%) et de sérum physiologique. Les trypanosomes fixés constituent l'antigène du test. Le sérum à tester contient, ou non, l'anticorps primaire correspondant à un anticorps anti-trypanosome. Après avoir laissé réagir le mélange sérum/antigène pendant 30 minutes à l'étuve, celui-ci est rincé. Une protéine A constituant l'anticorps secondaire est ajoutée sur le mélange, conjuguée à une substance fluorescente (fluorescéine en général) détectable par microscopie à fluorescence (Fig. 26 et 27). Après 30 minutes, la lame est rincée et le résultat est lisible. Le résultat est positif quand une fluorescence est détectée et le sérum peut être titré (titrage des anticorps) en effectuant plusieurs dilutions pour déterminer la dilution maximale permettant la détection d'une fluorescence (6,26).

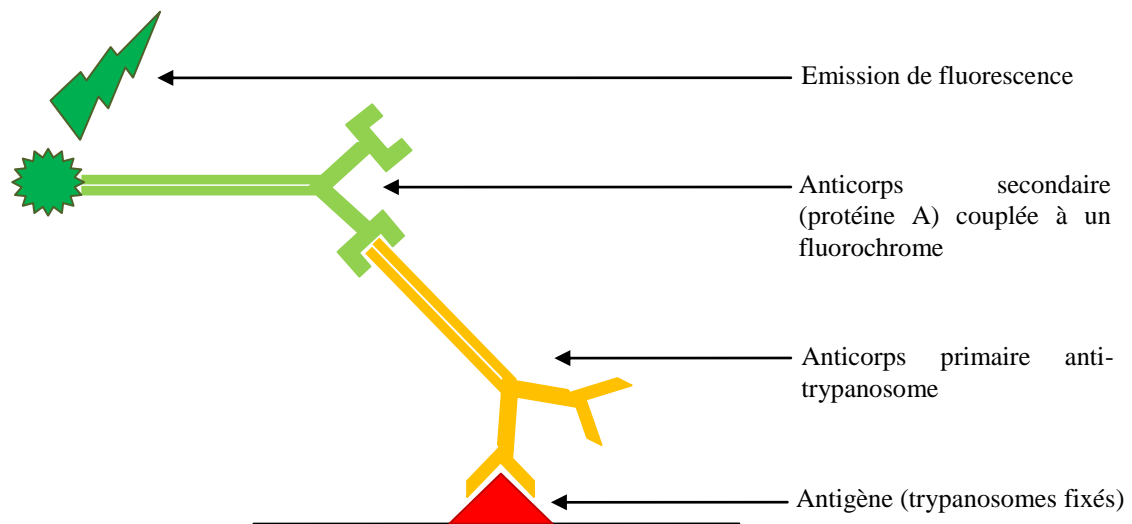


Figure 26 : Principe de l'IFI

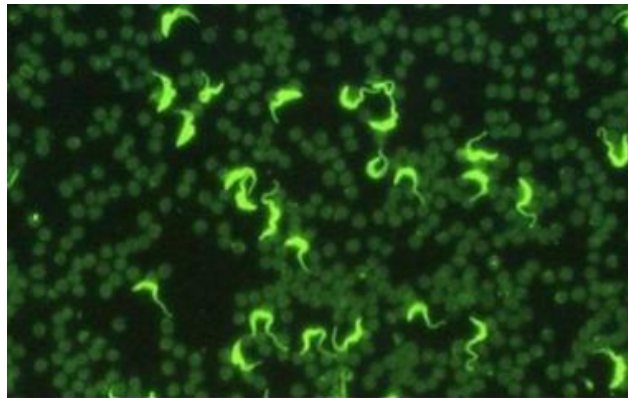


Figure 27 : Visualisation de trypanosomes par immunofluorescence indirecte, d'après Desquesnes (26)

La séroconversion se produisant entre 60 et 90 jours, cette technique ne peut être utilisée en début d'infection. L'IFI est plus sensible que le CATT/*T. evansi*, probablement car elle permet la détection d'animaux aparasitémiq, mais est moins spécifique. Une sensibilité de terrain de 92,30% et une spécificité de 75,5% sont observées dans l'étude de Dia *et al.* (69). Nous n'avons pas trouvé de valeur chiffrée de spécificité dans la littérature pour cette technique. L'interprétation du test est subjective et sa reproductibilité a parfois été remise en question (peu fiable lorsque la fluorescence est faible), c'est pourquoi un test ELISA est plutôt recommandé par l'OIE (6,26).

L'antigène peut être produit facilement mais ce test nécessite d'être réalisé en laboratoire et le conjugué est cher, l'analyse se fait sur un nombre de sérums limité, prend du temps, et il n'est pas possible de différencier l'espèce de trypanosome impliquée avec cette technique (24). L'IFI peut être utilisée pour des études à petite échelle, et est bien adaptée à du diagnostic individuel (6,26).

## (b) ELISA indirect

L'« Enzyme Linked Immunosorbent Assay » (ELISA) indirect est basé sur le même principe que le test d'immunofluorescence, mais la conjugaison est réalisée avec une enzyme provoquant une réaction colorée à l'ajout de son substrat, détectée par la mesure de la densité optique. La préparation antigénique, fixée au fond de puits, provient de *T. evansi* lysés (« whole cell lysate antigenic preparation » ou Te-WCL ELISA) ou correspond à des anticorps monoclonaux purifiés ou recombinants, comme la protéine RoTat 1.2 VSG ou encore la concanavaline A (appelé Te-GP ELISA) (6,26,41).

Il est conseillé d'utiliser des anticorps anti-IgG monospécifiques, mais ceux-ci n'étant actuellement pas disponibles pour le dromadaire, il est possible d'utiliser des protéines non spécifiques, capables de fixer le fragment Fc de l'immunoglobuline, comme la protéine A, dont la validité a été attestée chez le dromadaire (6).

Ce test détecte des immunoglobulines G, donc plutôt des infections non récentes (10,38). La détection d'IgM est théoriquement possible mais les résultats sont trop variables (26).

Le seuil de positivité du test est déterminé, pour l'espèce considérée, sur la base d'études comparatives de résultats d'animaux indemnes et parasités. Un résultat sera positif quand la VPP est supérieure à la valeur seuil établie dans l'espèce considérée (6).

Cette technique, automatisée et standardisée, permet d'analyser un grand nombre de sérums en même temps, de faibles quantités de sérum et conjugué sont nécessaires, mais elle nécessite un équipement spécifique du laboratoire. Elle est relativement coûteuse (moins que l'IFI), notamment pour la production des antigènes.

Elle est assez peu sensible, et la sensibilité est accrue avec l'antigène RoTat 1.2 VSG (24,41), mais l'utilisation d'un ELISA basé sur cette VSG peut conduire à des faux négatifs, étant donné l'existence de souches qui en sont dépourvues. La sensibilité de terrain du Te-GP ELISA est de seulement 50% dans l'étude de Dia *et al.* (69) et celle du Te-WCL ELISA de 56,75% d'après l'étude de Singh *et al.* (29).

Cette technique est très spécifique de genre d'après certaines études : 86,1% dans l'étude de Dia *et al.* (69), 90-95% dans l'étude de Desquesnes *et al.* (10), toutefois d'autres études déclarent que les anticorps monoclonaux manquent de spécificité entre espèces de trypanosomes, et le Te-WCL ELISA présente de nombreuses réactions croisées, notamment avec *T. vivax*, *T. congolense* ou encore *T. cruzi*, ce qui rend son interprétation compliquée et l'identification de l'espèce difficile dans les régions où plusieurs espèces de trypanosomes sont présentes (ce qui n'est pas le cas aux EAU) (6,26,41). Un ELISA basé sur des antigènes solubles n'est pas spécifique d'une souche et permettrait de rendre le test plus universel (6).

Elle serait plus sensible et spécifique que les tests parasitologiques (directs surtout) et plus spécifique que le CATT/*T.evansi*, et appropriée pour détecter les animaux non infectés, par exemple dans le cas de vérification du statut indemne pour des animaux devant être transportés ou en quarantaine (2,6,38,41). Elle est adaptée au dépistage de masse (2,26).

Cependant, les résultats obtenus par ELISA jusqu'à présent sont non satisfaisants car irréguliers (26).

Il existe également un test direct.

## (2) *Détection d'immunoglobulines M : Test d'agglutination sur carte*

Le test d'agglutination sur carte détectant *T. evansi* (« Card agglutination test for Trypanosomosis/*T. evansi* » CATT/*T. evansi*) fait partie de ceux recommandés par l'OIE pour la détection des anticorps (IgM) contre *T. evansi* (35). C'est le seul test commercialisé actuellement.

Les immunoglobulines M, pentavalentes, peuvent fixer plusieurs trypanosomes et former une trame d'agglutination visible à l'œil nu (26). Le test est donc basé sur l'utilisation d'antigènes recombinants (VSG RoTat 1.2), ou de trypanosomes fixés et colorés, jouant le rôle d'antigène. Les glycoprotéines de surfaces variables et invariantes vont participer à la réaction d'agglutination. L'échantillon peut être du sang total, du sérum ou du plasma. L'échantillon à analyser, dilué généralement préalablement à 20% dans une solution tampon (la dilution peut aller de 1/4 à 1/8), est mélangé dans des zones circulaires précises sur un support plastique, avec la préparation antigénique fixée sur des billes de latex. La carte est placée sur un agitateur rotateur à 70 tpm pendant 5 minutes. La formation d'un agglutinat bleu représente une réponse positive au test. Il est possible de réaliser un titrage des anticorps par des dilutions successives du sérum, en déterminant la dilution maximale pour obtenir un agglutinat (2,6).

Ce test détecte des immunoglobulines M, donc plutôt les infections débutantes ou des infections non-récentes avec une circulation récente du parasite dans le sang (10). Ce test peut détecter des infections actives avec une bonne valeur prédictive positive (6,26). Cependant, certains auteurs supposent qu'il existe également une détection d'IgG, car la détection des anticorps chez un animal guéri dépasse plusieurs mois voire plusieurs années (38).

Ce test est facile à réaliser mais l'interprétation des résultats n'est pas toujours évidente (24). Le coût est intermédiaire et permet d'analyser un relativement grand nombre de sérums en même temps (6). C'est le seul test sérologique applicable sur le terrain, avec un résultat immédiat, à utiliser pour la détection d'animaux infectés (bonne corrélation entre détection et infection clinique ou subclinique (1)), afin de cibler les animaux nécessitant un traitement trypanocide (6).

Ce test peut donner des réactions croisées avec *T. vivax* et *T. congolense* (26). Des faux négatifs sont dus à une disponibilité fluctuante des IgM dans le sang, celles-ci étant consommées de manière irrégulière dans la lutte contre le parasite, et peuvent également apparaître pour des souches ne contenant pas la VSG RoTat 1.2 si celle-ci est utilisée comme antigène recombinant (28). Des faux positifs (2 à 5%) peuvent survenir lors d'agglutinations non spécifiques (26).

La sensibilité de terrain est plus ou moins bonne selon les études : 80,76% d'après Dia *et al.* (69), 80,2% d'après Berlin *et al.* (30), contre 65,5% d'après Njiru *et al.* (28) et à peine 42,5% d'après Fikru *et al.* (31). La sensibilité est variable selon les hôtes, mais ce test est très sensible chez les chevaux et les dromadaires (10,26).

Ce test possède une grande spécificité : 98,5% d'après Berlin *et al.* (30), contre 83,8% d'après Dia *et al.* (69) ou 80,4% d'après Fikru *et al.* (31).

La validation de son usage pour de nouvelles espèces n'est pas toujours automatique et doit être confirmée préalablement à son utilisation sur le terrain à grande échelle (2). Dans les régions où des traitements sont réalisés fréquemment, il est conseillé de confirmer un résultat positif par une autre technique, pour distinguer une infection active d'un contact passé avec le parasite (28).

D'autres tests d'agglutination sur billes de latex ont été développés (SURATEX<sup>®</sup> par exemple) mais les différentes études utilisant ces tests n'ont pas encore réussi à démontrer leur efficacité et ces tests sont encore en cours d'évaluation (2,6).

### (3) *Autres tests indirects*

#### (a) **Trypanolyse immunomédiée**

Encore appelée test d'immuno-trypanolyse (« Immune trypanolysis test » TL), elle constitue un test fonctionnel de référence dans certaines études.

Cette technique consiste en l'utilisation d'une population de clones de *T. evansi* vivants, exprimant tous la protéine VSG RoTat 1.2. En présence d'anticorps spécifiques trypanolytiques (le type d'anticorps visé par cette méthode sérologique n'est pas rapporté dans la littérature) et du complément (complément de cochon d'Inde utilisé dans ce test), les trypanosomes sont lysés par activation du complément par le complexe antigène-anticorps. L'échantillon peut être du sérum, plasma ou sang total. L'échantillon à tester, contenant ou non les anticorps trypanolytiques, est préalablement dilué au 1/4, puis incubé pendant 1h avec le sérum de cobaye contenant le complément. Les parasites sont ensuite observés par microscopie optique, préférentiellement à contraste de phase ou à fond noir, et le test est considéré positif lorsqu'il y a plus de 50% de lyse (2,6,26,35).

Ce test présente une haute sensibilité et beaucoup d'études le prennent comme test de référence. Van Meirvenne *et al.* (70) ont trouvé une sensibilité de terrain allant jusqu'à 98% pour *T. b. gambiense*. Cette sensibilité peut toutefois être variable selon les anticorps utilisés et la dilution du sérum à tester. Il nécessite la production de trypanosomes par inoculation dans des rongeurs de laboratoire et est donc très coûteux (250€/test), long et nécessite le sacrifice de plusieurs animaux. Ce test sera utilisé majoritairement pour confirmer un résultat positif, en raison de sa grande spécificité. Nous n'avons pas trouvé de valeur chiffrée de spécificité dans la littérature pour cette technique. Il peut également être intéressant pour un dépistage d'animaux issus d'une zone infectée et destinés à être exportés en zone indemne. Ce test ne pourra être utilisé que pour des animaux exprimant des anticorps dirigés contre les souches de type A contenant la protéine VSG RoTat 1.2 et ne pourra pas être utilisé à grande échelle (2,6,26).

#### (b) **Immunochromatographie sur bandelette**

La technique d'immunochromatographie sur bandelette, appelée Surra Sero K-SeT, permet la détection d'anticorps spécifiques de la protéine VSG RoTat 1.2 grâce à l'utilisation d'un recombinant de cette protéine, produit par une levure (*Pichia pastoris*). L'échantillon peut être du sang total, du sérum ou du plasma. Celui-ci est placé sur la zone de dépôt du test, puis le solvant est ajouté. Le résultat est lu 15 minutes après. La membrane du test contient la protéine recombinante VSG RoTat 1.2. Les anticorps (le type d'anticorps détecté n'est pas précisé dans la littérature), s'ils sont présents, vont migrer sur la membrane et se combiner à l'antigène, lui-même conjugué à des nano-particules d'or, puis le complexe formé va migrer jusqu'à la zone de lecture contenant d'autres anticorps reconnaissant ce complexe. L'accumulation des nano-particules d'or, conjuguées au complexe antigène-anticorps, forme



une ligne rouge à cet endroit, signant un test positif. Le test est positif quand une réaction colorée est observée au niveau de la zone de résultat et de la zone de contrôle, négatif quand la réaction colorée est uniquement observée dans la zone de contrôle, et invalide si la zone de contrôle est non colorée.

La spécificité de terrain du test est plus faible que le test CATT/*T. evansi* : 95,8% contre 99,2% chez le dromadaire (existence possible de réactions croisées), mais sa sensibilité de terrain est bien meilleure : 97,8% contre 87,3% d'après Birhanu *et al.* (35). Cette technique est utilisable sur le terrain car le test est fourni en kit, donc ne demande pas de matériel spécifique, est thermostable et transportable.

Dans l'avenir, cette technique pourrait être développée, en association avec la protéine recombinante VSG RoTat 1.2, avec des recombinants d'autres protéines : des protéines de surface invariantes comme l'ISG75, ou encore la protéine GM6, afin d'améliorer la sensibilité du test. (35)

Cependant, cette technique n'est actuellement pas recommandée car non fiable du fait de son très récent développement et du très peu d'études réalisées sur le terrain basées sur cette méthode.

## **b) Détection d'antigènes ou tests directs**

### **(1) ELISA direct**

Le principe est le même que le test indirect mais la détection va porter sur les antigènes circulants de trypanosomes, l'anticorps correspondant étant fixé au fond d'un puits. Les trypanosomes ayant des antigènes de surface variables et seuls quelques variants étant présents à leur surface lors du prélèvement sanguin, leur détection semble difficile à moins de posséder tous les variants possibles des anticorps correspondant. C'est pourquoi ce test est basé sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre des antigènes endogènes, invariants.

Il existe des faux positifs et des réactions croisées entre les espèces de trypanosomes. La sensibilité du test est souvent faible et irrégulière car il est basé sur la détection des antigènes libérés lors de la mort des parasites. Le test est donc négatif en début d'évolution et lors de variations antigéniques du parasite, ses nouveaux antigènes de surface n'étant pas encore détectés par le système immunitaire de l'hôte, et devient positif lorsque les antigènes de surfaces sont à nouveau reconnus, provoquant la lyse des parasites (24).

L'ELISA indirect reste plus largement utilisé pour le diagnostic de cette maladie.

### **(2) Electrophorèse d'isoenzymes**

La distinction entre *T. evansi* et *T. brucei* pourrait se faire par électrophorèse d'isoenzymes (8). Cette technique n'est pas utilisée en routine et la distinction entre les deux espèces reste très difficile à ce jour.

### (3) Immunoblot ou Westernblot

Ces techniques consistent en une détection de protéines (comme RoTat 1.2 VSG) ou des antigènes de *T. evansi* lysés (Whole-Cell Antigen ou WCL) par des anticorps spécifiques suite à une électrophorèse et transfert sur une membrane des éléments à tester. Il existe des faux négatifs (34). Ces techniques sont très peu utilisées pour le diagnostic du surra, mais sont plutôt utilisées pour des études expérimentales.

### (4) Détection d'antigènes circulants

La détection d'antigènes circulants dans le sang ou plasma est une autre technique permettant de mettre en évidence une infection active, cependant plusieurs essais n'ont pas montré de résultats satisfaisants permettant d'utiliser cette technique en routine à ce jour (6).

Le Tableau VI résume les techniques sérologiques existantes, pour le diagnostic de cette maladie.

Tableau VI : Techniques sérologiques utilisables dans le diagnostic de la trypanosomose à *T. evansi*, légende : les techniques grisées ne sont pas recommandées mais sont données pour information

Technique	Sensibilité de terrain (%)	Spécificité	Avantages	Inconvénients
<b>Méthodes sérologiques indirectes</b>				
<b>Détection d'IgG</b>				
<b>IFI</b>	92,30 (69)	Genre, Moyenne : 75,5% (69)	Bonne méthode de diagnostic individuel, très sensible	Pas de détection précoce, coûteux, chronophage, diagnostic retardé
<b>ELISA indirect</b>	50 (Te-GP ELISA) (69), 56,75 (Te-WCL ELISA) (29)	Genre, Bonne : 86,1% (69), 90-95% (10)	Spécificité, standardisation et automatisation, diagnostic de masse	Sensibilité, pas de détection précoce, résultats irréguliers et espèce dépendante, diagnostic retardé, coûteux
<b>TL</b>	Très bonne	Espèce ou genre, très bonne	Très sensible et spécifique, pour la confirmation de résultat positif	Coûteux, long, éthique, diagnostic retardé, seulement détection du type A
<b>Surra Sero K-Set</b>	97,8 (35)	Très bonne : 95,8% (35)	Très sensible et spécifique, rapide (diagnostic sur le terrain)	Détection du type A seulement, peu d'études réalisées
<b>Détection d'IgM</b>				
<b>CATT/<i>T. evansi</i></b>	80,76 (69), 80,2 (30), 65,5 (28), 42,5 (31)	Genre, très bonne : 98,5% (30), 83,8% (69), 80,4% (31)	Détection d'infections actives, rapide (diagnostic sur le terrain)	Réactions croisées, ± détection du type A seul, technique à valider pour chaque espèce considérée
<b>Méthodes sérologiques directes</b>				
<b>ELISA direct</b>	Faible et irrégulière	Genre, moyenne	standardisation et automatisation, diagnostic de masse, infection active	Coûteux, résultats irréguliers
<b>Electrophorèse d'isoenzymes</b>	/	Espèce	Diagnostic d'espèce	Long, diagnostic retardé, analyse sur de faibles effectifs
<b>Immunoblot/Westernblot</b>	/	/	/	Long, diagnostic retardé, analyse sur de faibles effectifs
<b>Ag circulants</b>	/	/	Infection active	Résultats non satisfaisants

## 7. Tests moléculaires

Ces techniques permettent la détection d'infections actives, l'ADN de trypanosomes ne perdurant pas plus de 24 à 48h dans le sang de son hôte, une fois lysés (6).

### a) PCR

Globalement à ce jour, aucun jeu d'amorces n'est reconnu universellement comme permettant de distinguer *T. evansi* des autres espèces de *Trypanozoons*, la distinction avec *T. equiperdum* étant encore plus délicate (26).

L'échantillon peut être de l'ADN déjà extrait, du sang total, ou encore le *buffy coat*, conservé au frais. Les échantillons préparés avec du phénol-chloroforme permettent d'obtenir la meilleure sensibilité et la meilleure conservation de l'ADN récolté. Cependant, cette méthode est chronophage et nécessite l'utilisation de produits toxiques. D'autres méthodes plus rapides et économiques ont vu le jour (Chelex<sup>®</sup> par exemple) et des kits commerciaux sont disponibles, mais le coût de ces derniers est encore très élevé et donc non adapté à une utilisation de masse, et la conservation de l'ADN n'est que de quelques semaines (10,26).

Ce test est très cher actuellement et n'est donc pas toujours utilisable sur le terrain (6,24). Il nécessite un matériel spécifique et du personnel qualifié (26), mais il constitue un outil épidémiologique intéressant car il permet l'analyse de nombreux échantillons à la fois et est très spécifique et sensible (2,26).

Il existe plusieurs types de PCR utilisés : des PCR monospécifiques, multi-spécifiques, et des techniques de PCR plus récentes (LAMP par exemple).

#### (1) PCR mono-spécifiques

Des séquences répétées (satellites) ou spécifiques d'ADN peuvent être amplifiées (26) afin d'identifier et classer les trypanosomes. On retrouve par exemple l'utilisation de microsattellites, d'analyses AFLP (Amplified Restriction Fragment Length Polymorphism), d'ISSR-PCR (Inter Sequence Simple Repeat-PCR), ou l'amplification de gènes ou groupes de gènes spécifiques comme MORF2, ESAGs 6 et 7, VSG RoTat 1.2 ou EVA (21,22,26). En voici quelques exemples :

- les amorces TEPAN permettent de cibler une séquence répétée, utilisable pour détecter *T. evansi* (26)
- les amorces TBR permettent l'amplification d'une séquence répétée d'ADN satellite spécifique du groupe *Trypanozoon* (26)
- les amorces pMURTec ciblent une région répétée spécifique du groupe *Trypanozoon* (28)
- la région codante répétée polymorphique MORF2 (polymorphic repetitive coding region MORF2), correspond à un groupe de gènes codant pour un transporteur du glucose situé sur le chromosome X de *T. b. brucei*, et permettrait la distinction entre *T. evansi* de types A et B (22)
- les gènes ESAGs 6 et 7 (Expression-Site-Associated Genes 6 and 7), codent pour des récepteurs à la transferrine (21)
- les amorces ciblant la région du génome RoTat 1.2 permettent l'identification de *T. evansi* de type A (souches dyskinétoplastiques ou non) (21,22,31)
- la PCR ciblant la région EVA correspond à l'amplification d'une région des minicercles d'ADN kinétoplastiques de *T. evansi*. La région EVAB correspond à une région spécifique du type B (22,28,31). L'existence de souches dyskinétoplastiques rend l'utilisation des minicercles d'ADN non appropriée pour distinguer toutes les souches de *T. evansi*. En

revanche, les souches de *T. evansi* étant toutes dépourvues au moins partiellement de maxicercles d'ADN, la détection de cet ADN par PCR pourrait permettre de distinguer *T. evansi* des autres *Trypanozoons* dans une certaine mesure (sauf pour certaines souches de *T. equiperdum* dans lesquelles un défaut au moins partiel de maxicercles d'ADN a été constaté) (20,22).

La PCR monospécifique sera positive si le produit amplifié est de la taille attendue, mais les autres produits visibles sont non spécifiques et donc considérés comme négatifs (26).

### (2) *PCR multi-spécifiques*

L'ARN ribosomal est souvent utilisé pour étudier la diversité génétique car il est très conservé, des protozoaires aux métazoaires, mais présente de très légères différences permettant de faire la distinction entre différentes espèces (20). Une PCR multi-spécifique a ainsi vu le jour, basée sur une technique d'amplification de l'espaceur interne transcrit numéro 1 (Internal Transcribed Spacer region 1 ITS1) de l'ADN ribosomal des trypanosomes. Cette région est hautement conservée au sein d'une espèce mais pas d'une espèce à l'autre. L'ITS1 est entourée des séquences hautement conservées 18S et 5.8S. Des amorces ciblant ces parties (TRYP1 par exemple) sont facilement définies, permettant la production de produits de PCR de longueur différentes selon l'espèce de trypanosome concernée par l'amplification.

Une autre région ITS, dite ITS2, peut être intéressante à utiliser pour détecter les différences subtiles entre *T. brucei* et *T. evansi* et *T. equiperdum*, mais ne permettrait pas de faire la différence entre *T. evansi* et *T. equiperdum* (20,21).

Il est possible d'obtenir des produits de taille différente de celle attendue avec cette technique, ces produits nécessitant un séquençage, car il arrive d'amplifier d'autres parasites avec cette PCR (babésies, leishmanies...). Le contexte épidémiologique doit donc être clairement défini au préalable afin de réaliser une interprétation correcte (26).

La PCR ITS permet d'identifier les différents taxons de trypanosomes via une seule épreuve. Son coût est donc réduit par rapport aux PCR monospécifiques, mais sa sensibilité est plus faible et l'interprétation peut être difficile pour les produits amplifiés dont la taille est mal définie (26).

### (3) *Autres techniques récentes*

Il existe une méthode d'amplification à température constante (loop-mediated amplification technique LAMP), d'apparition plus récente, très coûteuse et non validée à ce jour pour une application sur le terrain. Elle présenterait l'avantage de ne pas nécessiter de traitement en laboratoire et une visualisation directe des résultats d'amplification. Ce dernier point reste discuté, une migration sur gel étant en fait souvent nécessaire. Il existe des faux positifs avec cette technique (26).

Une autre technique, basée sur la PCR quantitative en temps réel TaqMan, très sensible, est actuellement en étude, mais n'est pas conclusive pour le moment (2,10).

#### (4) Amorces et sensibilité comparées des techniques PCR

Le gold standard actuel est la PCR monospécifique par amplification de microsatellites (26).

Il existe un risque de faux négatif lors de faible parasitisme (moins de 1 trypanosome/ml) (26,41), à cause de facteurs inhibiteurs présents dans le sang, ou si la spécificité de l'amorce est trop importante (séquence VSG RoTat 1.2 pour les souches de type B par exemple) (26). Il faut éviter les risques de contamination par un autre type d'ADN (faux positif) et faire des contrôles réguliers.

Globalement, la PCR est une technique très sensible pour la détection d'une infection, mais cette sensibilité analytique est estimée, pour la PCR la plus sensible (TBR) et la méthode de préparation de l'ADN la plus sensible (phénol-chloroforme), à 1 à 5 trypanosomes/ml (6,57) ou 5 à 10 trypanosomes/ml (10) selon les études. La sensibilité de terrain est très variable selon les études : de 39,1% (PCR ITS-1) à 52,9% (PCR RoTat 1.2) selon les PCR comparées dans l'étude de Fikru *et al.* (31), 97,2% (PCR pMURTec et EVA) dans l'étude de Njiru *et al.* (28). Ces valeurs de sensibilité de terrain semblent presque faibles en comparaison de la sensibilité analytique. Une PCR ciblant une séquence répétée d'ADN satellite a une sensibilité forte, à cause des nombreuses répétitions de séquence. En revanche, la PCR ciblant la région ITS1 ou une séquence unique aura une sensibilité moyenne (26). La PCR ciblant la VSG RoTat 1.2 aurait une sensibilité analytique de 1 trypanosome/ml (14). La technique la plus sensible est celles utilisant les amorces TBR (10).

L'utilisation de *buffy coat* permet d'augmenter la sensibilité de la technique (26).

La PCR sera plus sensible chez les hôtes plus sensibles à la maladie comme le dromadaire ou le cheval.

Sa spécificité est bonne mais dépend du type d'amorces utilisées : de 85,9% (PCR RoTat 1.2) à 99,4% (PCR ITS-1) dans l'étude de Fikru *et al.* (31) par exemple.

Les caractéristiques des différentes amorces utilisables pour *T. evansi* sont résumées en annexe (Annexe 1) et les propriétés des PCR correspondantes sont indiquées dans le Tableau VII.

Tableau VII : Propriétés des techniques PCR les plus adaptées dans la détection de *T. evansi*

Spectre de détection	Nom de la PCR	Sensibilité	Spécificité	Avantages	Inconvénients
<b>PCR monospécifiques</b>					
<i>T. evansi</i>	PCR RoTat1.2	52,9% (31)	Très spécifique, 85,9% (31)	Spécificité	Détection des souches contenant la VSG RoTat 1.2 seulement
<i>T. evansi</i> type B	EVAB	/	Très spécifique	Spécificité	Détection du type B seulement
<i>Trypanozoon</i>	TBR	Très sensible, proche de 100% (71)	Genre	Très sensible	Ne permet pas de faire de distinction d'espèce

## b) Sondes d'ADN

Cette technique est basée sur l'utilisation de sondes d'ADN (DNA-probes) spécifiques afin de détecter l'ADN de *T. evansi* dans le sang ou les tissus d'un individu infecté. L'échantillon est chauffé afin de séparer les brins d'ADN puis fixé sur une membrane, sur laquelle sont ensuite ajoutées les sondes combinées à des isotopes radioactifs. Une mesure de la radioactivité permet d'attester de la présence d'une hybridation de la sonde utilisée et donc de la présence d'ADN de *T. evansi*.

Cette technique permet d'analyser un grand nombre d'échantillons simultanément. La spécificité est variable : certaines sondes sont communes au sous-genre *Trypanozoon*, ce qui ne permet pas de distinguer l'espèce présente dans l'échantillon, alors que d'autres sont très spécifiques. Elle nécessite une formation et des infrastructures spécifiques, étant donné l'utilisation de composés radioactifs, ce pourquoi elle n'est pas utilisée en routine, d'autant que les sondes ne sont pas commercialisées. Les isotopes radioactifs peuvent être remplacés par des enzymes permettant une détection par ELISA, mais la sensibilité de telles sondes est bien inférieure aux sondes radioactives (6,24).

Aujourd'hui, la PCR est plus largement utilisée car moins lourde et n'utilisant pas d'isotopes radioactifs.

## 8. Recommandations

Il n'existe aucun test parasitologique ou sérologique capable de distinguer avec certitude *T. evansi* des autres espèces du groupe *Trypanozoon*. Même les tests moléculaires peinent à faire cette distinction. Le diagnostic de surra doit donc être basé sur une association de signes cliniques, contexte épidémiologique et résultats d'examens complémentaires (26).

Un animal est considéré négatif si l'ELISA-*T. evansi* (conjugué à la protéine A), le CATT/*T. evansi*, la PCR TBR et l'observation microscopique sont négatifs. Il est considéré comme infecté si l'examen microscopique ou la culture sur rongeurs sont positifs. Son statut parasitaire est suspect s'il est positif à la PCR TBR (ou autres amorces permettant la détection de *T. evansi*). Il est alors prélevé à nouveau une semaine plus tard et re-testé : s'il est positif, le cas est confirmé. Il est dit séropositif s'il est positif au test ELISA ou au CATT/*T. evansi* (6,26). Le Tableau VIII résume le statut de l'animal en fonction des résultats des tests effectués.

Tableau VIII : Statut d'un animal suspect de trypanosomose à *T. evansi* en fonction des résultats des tests effectués

Statut/Test	ELISA (protéine A)	CATT/ <i>T. evansi</i>	PCR (TBR)	Observation microscopique	Culture <i>in vivo</i>
<b>Infecté</b>			+ (2 fois à 1 semaine d'intervalle)	+ OU	+
<b>Séropositif</b>	+ OU	+			
<b>Non infecté</b>	- ET	- ET	- ET	-	

Dans le cas d'infection aiguë ou aux stades précoces de la maladie, quand la parasitémie est relativement élevée, il est possible d'utiliser des méthodes d'identification microscopique directes. En revanche, lorsque la parasitémie est plus faible, en cas d'infection chronique ou avancée, les méthodes microscopiques de concentration ou l'inoculation dans des rongeurs de laboratoire sont plutôt recommandées par l'OIE (6).

Pour l'identification de porteurs sains, l'inoculation dans des rongeurs est préconisée. La PCR permet d'avoir une meilleure sensibilité mais, pouvant donner des faux négatifs lorsque la parasitémie est basse, ces résultats doivent être confirmés par des méthodes sérologiques (6). En zone d'endémie, l'utilisation des techniques parasitologiques peut être suffisante pour établir un diagnostic (6).

Pour avoir une confirmation définitive du diagnostic chez des animaux suspects, l'inoculation dans des rongeurs semble être la technique la plus appropriée, cependant l'utilisation d'animaux d'expérimentation ne devra être autorisée que si elle est véritablement nécessaire et justifiée (6).

Pour un diagnostic de troupeau, il est préférable de prélever un grand nombre d'animaux pour augmenter la sensibilité de la méthode diagnostique. Une fois l'infection confirmée, un diagnostic individuel, d'abord clinique voire post-mortem (mais les signes associés ne sont pas pathognomoniques, d'où la nécessité de confirmation par d'autres méthodes pour un diagnostic de certitude), peut être réalisé afin de déterminer les animaux à traiter. Des mesures préventives doivent être mises en place sans délai en parallèle des mesures curatives, ainsi que des contrôles réguliers de l'état sanitaire du troupeau, voire garder des échantillons pour les envoyer dans un laboratoire spécialisé. Pour des cas individuels, on peut répéter les analyses dans le temps afin d'augmenter la sensibilité du diagnostic, si une infection est suspectée.

L'identification de *T. evansi* n'est pas aisée et seule une association de tests coûteux et chronophages donnent une bonne sensibilité et spécificité. Toutefois, il est important de rappeler qu'il n'est pas nécessaire de faire un diagnostic d'espèce chez le dromadaire, *T. evansi* étant le seul trypanosome aux Emirats (24). Seule l'identification de trypanosomoses suffit donc pour faire un diagnostic de surra dans ce pays et mettre en place un traitement. En revanche, une surveillance régulière et l'identification d'espèces pour s'assurer qu'il n'y a pas de nouvelle espèce de trypanosome qui circule sont intéressants pour le pays et l'épidémiologie de ces maladies.

## ***F. Méthodes thérapeutiques***

### **1. Généralités**

Le contrôle de la maladie passe aujourd'hui principalement par l'utilisation de molécules trypanocides lors d'infection déclarée. Des méthodes prophylactiques chimiques ou mécaniques sont parfois mises en place, mais restent aujourd'hui largement sous-utilisées et seraient un volet essentiel à développer afin de mieux contrôler les infections à *T. evansi*.

Un traitement curatif est un traitement dont la dose vise à éliminer l'ensemble ou une majeure partie des parasites présents chez un animal malade, faisant généralement l'objet d'un traitement individuel (72). Il existe également des molécules pouvant être utilisées comme traitement préventif, traitées dans le paragraphe suivant.

Le but d'un traitement trypanocide n'est pas nécessairement l'élimination de la totalité des parasites présents, mais d'une majorité, permettant une amélioration clinique ainsi qu'un relargage d'antigènes endogènes par les parasites lysés, afin de relancer la réponse immunitaire de l'hôte (10). Ceci aboutit à l'élimination du parasite par l'hôte ou la persistance de *T. evansi* à bas bruit, chez des animaux sub-cliniques ou porteurs chroniques, ceux-ci pouvant alors jouer le rôle de réservoir de la maladie. Le maintien d'un système immunitaire efficace est d'autant plus important chez les animaux gestants en zone d'endémie (10).

La plupart des trypanocides bloquent certaines enzymes ou certaines voies métaboliques essentielles au parasite, mais le mécanisme d'action exact est souvent mal connu (72).

La découverte du tartre émétique comme traitement trypanocide, puis de la suramine ont eu lieu au début du XX<sup>ème</sup> siècle. Il a fallu attendre la fin de la Seconde Guerre Mondiale pour voir apparaître de nouveaux traitements sur le marché : quinapyramine, acéturate de diminazène, chlorure et bromure d'homidium, chlorure d'isométymidium, mélarsomine (la plus récente)... Beaucoup de molécules qui étaient de bonnes candidates pour devenir un traitement trypanocide présentaient des problèmes de toxicité ou d'efficacité sur le terrain. D'autres molécules ont rapidement présenté des problèmes de résistance. Néanmoins, la raison principale du faible nombre de molécules disponibles en pratique pour lutter contre la trypanosomose animale est économique : le marché est trop faible et incertain, ce pourquoi les laboratoires ne font pas du développement de nouvelles molécules trypanocides une priorité (72).

### **2. Voies d'administration**

Les voies d'administration utilisées sont les voies sous-cutanée, intramusculaire ou intraveineuse en général.

L'absorption par voie sous-cutanée est la plus lente, la molécule étant progressivement absorbée via le réseau lymphatique et capillaire local, ce qui peut être intéressant pour les traitements prophylactiques ou les molécules toxiques par voie systémique. Cette voie peut en revanche engendrer de la douleur, des réactions au point d'injection voire des nécroses. Les injections sont préférentiellement réalisées au niveau de l'encolure chez le dromadaire (72).

L'absorption par voie intramusculaire est plus rapide, étant donné que les muscles sont richement vascularisés. Elle est privilégiée pour les substances irritantes ou douloureuses à l'injection (même si l'injection intramusculaire peut être douloureuse lors d'injection de gros



volumes). Cette voie peut aussi engendrer l'apparition de zones de nécrose, le muscle étant remplacé par une substance fibreuse. Il faut éviter les injections dans les régions très musculées ou dans les membres, cet acte pouvant provoquer l'apparition de boiteries. L'injection se fera dans les muscles du cou (même si l'absorption est plus lente à ce niveau), dans le tiers moyen de l'encolure, à mi-distance entre la colonne vertébrale et la limite supérieure de l'encolure. En cas de substance irritante ou de gros volumes à injecter, on privilégiera 2 injections de part et d'autre de l'encolure. Si l'injection dans l'encolure n'est pas possible, elle peut être réalisée dans la croupe (72).

La voie intraveineuse est utilisée pour les substances irritantes au point d'injection, pour avoir une action rapide (c'est rarement le cas pour un traitement trypanocide), ou encore pour administrer de gros volumes de médicament. Elle est utilisée pour l'administration d'isométymidium chez le dromadaire, et requiert une certaine expérience. Elle se fait généralement dans la veine jugulaire, l'accès étant relativement aisé. L'injection intraveineuse doit être réalisée lentement, pour éviter les effets toxiques des molécules à action systémique, pouvant aller jusqu'au choc, l'accès aux différents organes étant quasiment immédiat par cette voie. Les tissus entourant la veine sont sensibles aux substances irritantes et une injection périveineuse peut entraîner une nécrose, voir une rupture de la veine, généralement fatale : il est donc important de vérifier la bonne localisation de l'aiguille avant et après l'injection du trypanocide en créant une dépression pour constater la montée de sang dans la seringue. Il faut privilégier l'utilisation d'aiguilles de gros diamètre et de 5 cm de long (72).

### 3. Molécules utilisées

#### a) Mélsarsomine

La mélsarsomine est commercialisée par Merial (Rhône Mérieux initialement) depuis 1985 sous le nom de Cymelarsan® (39,56), sous la forme de dichlorhydrate de mélsarsomine (Fig. 28). Elle est utilisée comme traitement curatif uniquement. C'est la première molécule recommandée chez le dromadaire.



Figure 28 : Flacon de Cymelarsan® (cliché J. Merlin)

#### (1) Pharmacie chimique

##### (a) Origine

La mélsarsomine a été synthétisée pour la première fois par Friedheim en 1982, à partir d'un autre composé arsenical, le melarsen-oxyde, composé non hydrosoluble. Cette synthèse avait pour but d'améliorer la solubilité de la molécule dans l'eau, pour améliorer sa stabilité, cette molécule étant utilisée jusqu'alors dans le traitement de maladies causées par des trypanosomes ou filaires (73).

## (b) Structure et classification

Cette molécule de dichlorhydrate de bis (aminoéthylthio) - 4 - mélamino - phénylarsanine (10,74), est une mélamino-phénylarsanine résultant de la conjugaison d'une molécule de mélarsen-oxyde avec deux chlorhydrate de cystéamine, formant les chaînes latérales (Fig. 29) (75).

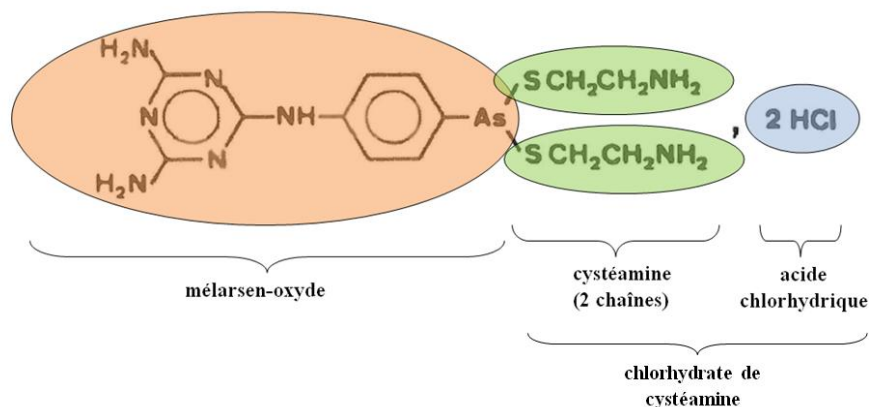


Figure 29 : structure de la mélsarsomine (sous forme de dichlorhydrate), modifiée d'après le dossier d'AMM (74)

Les arsenicaux sont très peu utilisés chez les animaux, contrairement à l'homme notamment avec le mélsarsoprol, traitement contre la maladie du sommeil (39), qui diffère de la mélsarsomine par ses chaînes latérales reliées à la molécule d'arsenic.

## (c) Propriétés physico-chimiques

Le dichlorhydrate de mélsarsomine, encore appelée mélsarsamine, mélarsen-oxyde cystéamine ou RM110, est un dérivé arsenical (9) trivalent soluble dans l'eau ( $\log P = -0,77$ ) (39,76) dont le poids moléculaire est de 501,3 g/mol (77).

La molécule de mélarsen-oxyde a une activité trypanocide ou macrofilaricide propre : en effet, l'activité de la mélsarsomine est peu dépendante des deux chaînes latérales, puisque la transformation de la mélsarsomine en de mélarsen-oxyde non hydrosoluble après administration n'altère pas spécialement l'efficacité de la molécule (77). L'activité antiparasitaire des dérivés de l'arsenic est principalement attribuable à l'affinité pour le soufre des fonctions thiols des molécules biologiques (78).

Le chlorhydrate de cystéamine est un sel acide hydrosoluble (79), qui permet d'augmenter l'hydrosolubilité de la molécule de mélarsen-oxyde qui est plutôt lipophile (cependant le  $\log P = 0,42$ , peu élevé, reflèterait une tendance lipophile moins claire, mais une molécule plutôt amphiphile) et sous forme ionisée au pH physiologique (80).

Les données de pKa ne sont pas disponibles dans la littérature pour cette molécule.

Les spectres de détection ultra-violet et de fluorescence de la mélsarsomine sont représentés dans la [Figure 30](#).

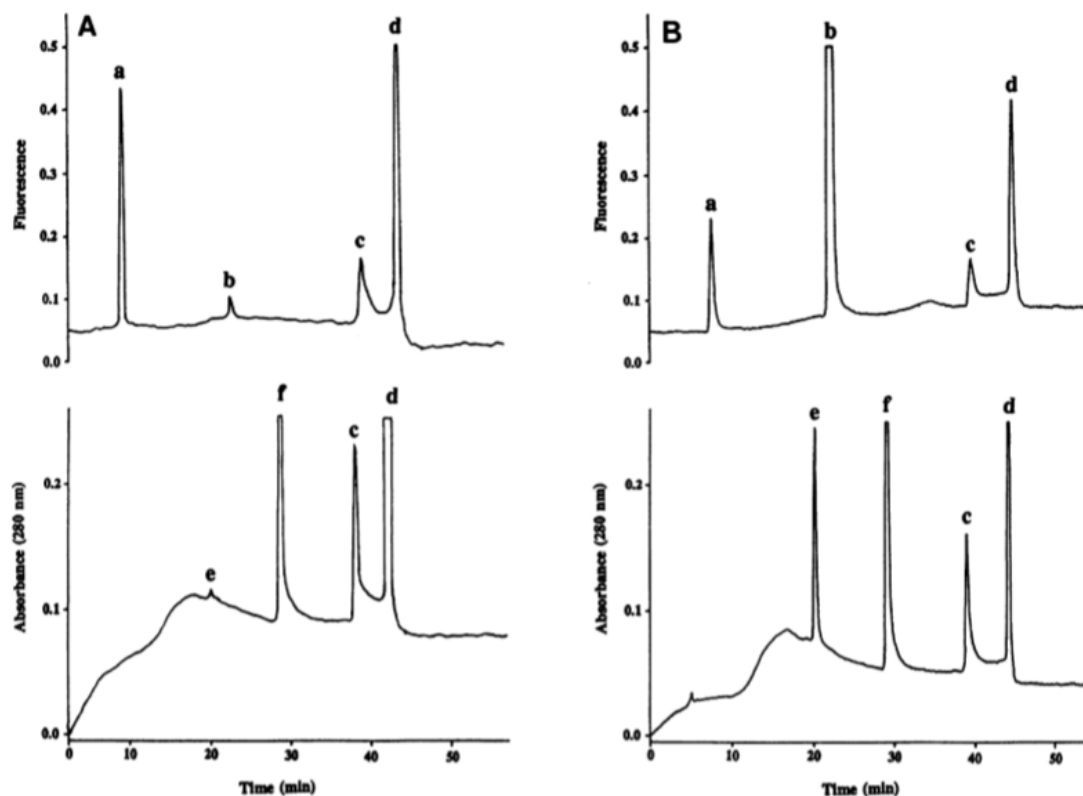


Figure 30 : Spectres ultra-violet visible et de fluorescence du dichlorhydrate de mélsarsomine réalisés immédiatement après dissolution dans l'eau (A) et après 114h (B), légende : les pics représentent la cystéamine (a), la cystamine (b), la molécule de mélsarsomine ayant perdu une chaîne cystéamine (c), le dichlorhydrate de mélsarsomine (d), le mélarsen (e) et le mélarsen-oxyde (f), d'après Berger et Fairlamb.(75)

Après dissolution dans l'eau, il se forme immédiatement un mélange équilibré de mélsarsomine, mélsarsomine dont une chaîne latérale est manquante (appelée MelCy-1 par Berger et Fairlamb (75)), mélarsen-oxyde et cystéamine. Plus tard, en conditions aérobies, la cystéamine est oxydée et forme la cystamine et le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , permettant ainsi l'oxydation du mélarsen-oxyde en mélarsen. L'activité du mélarsen pentavalent est grandement réduite comparée à l'activité du mélarsen-oxyde trivalent, c'est pourquoi il est recommandé d'utiliser le produit de manière extemporanée, son activité antiparasitaire réduisant avec le temps (75).

## (2) *Pharmacologie*

### (a) **Activité anti-protozoaire**

#### (i) Mécanisme d'action

La mélsarsomine inhibe la trypanothione disulfure reductase, enzyme spécifique des kynétoplastidés, qui régénère le trypanothion à partir du trypanothion disulfure et de NADPH. Le trypanothion est une molécule antioxydante (similaire au glutathion) indispensable à la survie du parasite (19,78).

La molécule pénètre à l'intérieur du parasite via des transporteurs spécifiques dits P2 ou *TbAT1* (81).

## (ii) Spectre d'action et espèces cibles

Ce médicament est le dernier trypanocide sorti sur le marché. Il a été développé spécifiquement contre *T. evansi* chez le dromadaire, étant donné que les autres médicaments présents dans les années 80 sur le marché rencontraient des problèmes de résistance (suramine, quinapyramine) ou n'étaient pas suffisamment efficaces contre ce trypanosome (isométymidium) (72). Il a permis de réduire la prévalence de la trypanosomose du dromadaire due à *T. evansi* au Maroc de 58 à 19% en 1 an (1).

La molécule permet également de traiter la trypanosomose chez le cheval et le bétail (hors AMM), mais à des doses plus importantes (au-delà de 0,5 mg/kg), et peut soigner la maladie aux différents stades de l'infection (81).

La mélarsomine est active contre tous les trypanosomes du groupe *Trypanozoon* (et de manière plus efficace que le mélarsoprol). Elle n'est pas active contre *T. congolense* (74).

Elle est également macrofilaricide : elle est notamment active contre *dirofilaria immitis* (Immiticide<sup>®</sup> chez le chien) (39,82).

## (iii) Résistances

Une récurrence de l'infection ou la persistance d'une anémie pourrait s'expliquer par d'autres facteurs que le parasite lui-même comme la restriction de nourriture et d'eau pendant la saison sèche par exemple. Mais les cas récurrents rapportés par Berlin *et al.* (30) montraient une persistance de l'anémie et de l'émaciation malgré le traitement, favorisant plutôt une hypothèse de non efficacité du traitement mis en place et donc de résistance au traitement. D'autres cas de récurrences ont également été rapportés (7,38).

La perte des transporteurs P2 ou leur perte d'activité ont pu amener au développement de résistance à la mélarsomine chez certaines souches et peut expliquer l'apparition de résistances-croisées avec d'autres molécules utilisant ces récepteurs (diminazène notamment) (81).

Cependant, elle s'est montrée efficace sur des cas d'infections à *T. evansi* chez le bétail résistantes à la suramine (81).

## (b) Pharmacocinétique

### (i) Résorption

L'injection intramusculaire profonde est à privilégier, dans les muscles du cou, à faire en deux points d'injection de chaque côté du cou pour les petits animaux ou les individus maigres (83). La biodisponibilité est excellente par cette voie, avec une absorption totale et rapide de la mélarsomine.

L'injection sous-cutanée a également été testée et la biodisponibilité par cette voie est équivalente à la voie intramusculaire. Cependant, il existe plus de réactions secondaires par voie sous-cutanée, ce pourquoi la voie intramusculaire est recommandée (74).

Il existe une bonne résorption par voie intraveineuse également, mais cette voie n'est pas conseillée. Une injection intraveineuse entraîne immédiatement une concentration très importante dans le plasma sans libération progressive du principe actif et pourrait amener à

des effets secondaires non négligeables, bien qu'aucune donnée ne soit disponible sur ces effets actuellement pour cette molécule (74).

#### (ii) Distribution

La molécule se distribue dans le sang, mais aussi largement dans les tissus extra-vasculaires : des résidus ont aussi été retrouvés dans la graisse, le foie et les reins, d'après les études de pharmacocinétique du dossier d'AMM (74). Le volume de distribution chez le chien est de 0,7 L/kg (84).

Chez le chien, le pic de concentration plasmatique est estimé à environ 11 minutes après injection intramusculaire (82,84).

Le mélarsoprol, molécule très proche de la mélarsomine, a montré dans une étude menée par Schillinger et Röttcher (1986), sa capacité à guérir des souris infectées à des stades avancés, au cours desquelles le parasite avait passé la barrière hémato-méningée, mais demandait le respect strict de la posologie, l'index thérapeutique étant extrêmement faible (8).

Il a été montré par Jennings (1988, 1990) que la difluorométhylornithine (DFMO) permettait d'augmenter l'efficacité des arsenicaux sur des trypanosomes réfugiés au niveau du système nerveux central, tous les arsenicaux testés, dont la mélarsomine, présentant sensiblement la même efficacité (77).

Cependant, la mélarsomine seule, qui est sous forme ionisée au pH physiologique, ne semble pas capable de traverser la barrière hémato-méningée ou en trop faible concentration pour être efficace.

#### (iii) Biotransformations et élimination

La molécule se transforme rapidement en mélarsen-oxyde après administration, cette molécule étant tout aussi active que la mélarsomine contre le parasite.

Dans le plasma, une rémanence d'au moins 24 heures permet une activité trypanocide d'assez courte durée. Les parasites ne sont plus visibles dans le sang dans les 12 à 24 heures suivant l'injection (30,56), voire dès 30 minutes post-traitement d'après Anene *et al.* (85). Cette molécule a donc un effet résiduel négligeable et n'est pas une molécule utilisable en prophylaxie (72).

Chez le chien, le temps de demi-vie plasmatique (temps au bout duquel la moitié de la dose administrée est éliminée du plasma) est d'environ 4 minutes et le temps de demi-vie biologique (temps au bout duquel la moitié de la dose administrée est éliminée de l'organisme) est de 3 heures (82,84).

Les données sur l'élimination de la molécule ne sont pas disponibles dans la littérature.

Les délais d'attente conseillés sont, pour la viande, les abats et le lait, de 14 jours.

#### (c) Effets toxiques et indésirables

C'est une molécule dont la toxicité est modérée, avec une bonne tolérance à la dose recommandée et à double dose, malgré son appartenance aux dérivés de l'arsenic (74).

C'est le seul trypanocide utilisable sur les femelles gestantes (83), qui est non tératogène et non mutagène (74).

Les effets secondaires décrits par voie intramusculaire sont une réaction au point d'injection (gonflement, sudation, nodule fibreux, plus rarement un petit foyer de nécrose), une salivation, un épiphora, une motilité accrue de la paroi intestinale, des trémulations musculaires et une miction augmentée. On ne note pas d'effet secondaire particulier chez les femelles gestantes (30,39,40,83).

Il existe de possibles effets secondaires transitoires systémiques et locaux :

- Musa *et al.* (40) décrit chez un animal avec pneumonie traité par du Cymelarsan® un décubitus latéral, une incapacité à se lever et détresse respiratoire pendant 15 min après l'injection.

- à des doses beaucoup plus élevées (3,75 mg/kg) Tager-Kagan *et al.* (39) a observé des signes de nervosité, avec un animal qui se lève et se recouche sans arrêt, 15 min après l'injection (IM ou SC) et pendant 3 heures, associé à une neutrophilie et une lymphocytopenie dans les jours suivant l'administration du traitement.

En injection sous-cutanée, une réaction locale au point d'injection peut apparaître, généralement plus importante que par voie intramusculaire (40,56).

Il existe un risque de réaction pseudo-anaphylactique en cas de parasitisme sévère ou infection chronique de stade avancé, ce pourquoi il peut être intéressant d'ajouter un traitement anti-histaminique au traitement trypanocide dans ce cas. Les parasites lysés en grand nombre peuvent en effet entraîner une réaction inflammatoire très importante ou relarguer des antigènes ou toxines provoquant cette réaction.

Berlin *et al.* (30) décrit le cas d'un dromadaire parasité qui, suite à l'injection, s'est effondré puis est décédé dans les 3 heures suivantes. Un second cas a été décrit par les mêmes auteurs, l'animal s'étant effondré dans les 15 minutes suivant l'injection et présentant des signes neurologiques et des muqueuses cyanosées. Cependant, les manifestations cliniques ont disparu dans les heures suivantes, sans traitement.

### (3) *Thérapeutique*

#### (a) **Forme galénique et préparation**

La mélarsomine est présentée sous forme de poudre blanche lyophilisée (74), à diluer dans 20 ml d'eau pour préparation injectable afin d'obtenir une solution à 0,5%. Elle est à préparer de manière extemporanée seulement, pour éviter la formation trop précoce de mélarsen-oxyde non hydrosoluble (77).

#### (b) **Posologie**

La posologie recommandée par le laboratoire est de 0,25 mg/kg. Une dose de 0,5 mg/kg serait cependant à privilégier d'après Desquesnes *et al.* et Uilenberg (10,72), pour obtenir un effet stérilisant lors de commerce international, cette dose ayant également été utilisée avec succès pour le traitement du foyer apparu en Espagne en 2008 (38).

Les paramètres hématologiques et biochimiques se normalisent dans les 3 semaines suivant le traitement d'après (43).

## b) Diminazène

Le diminazène est employé sous forme d'acéturate de diminazène dans le traitement de la trypanosomose. Il est à utiliser en curatif chez le dromadaire à défaut de la mélarsomine si celle-ci est non disponible.

### (1) Pharmacie chimique

#### (a) Origine, structure et classification

Le diminazène, ou 4 - [2 - (4 - carbamimidoylphenyl) imino]hydrazinyl] benzenecarboximidamide, est de la classe des diamidines aromatiques, décrit pour la première fois en 1955 (19). Il est composé de deux amidinophényl reliés par un pont triazène (Fig. 31). Il est associé à une molécule d'acide acéturique dans les produits commercialisés.

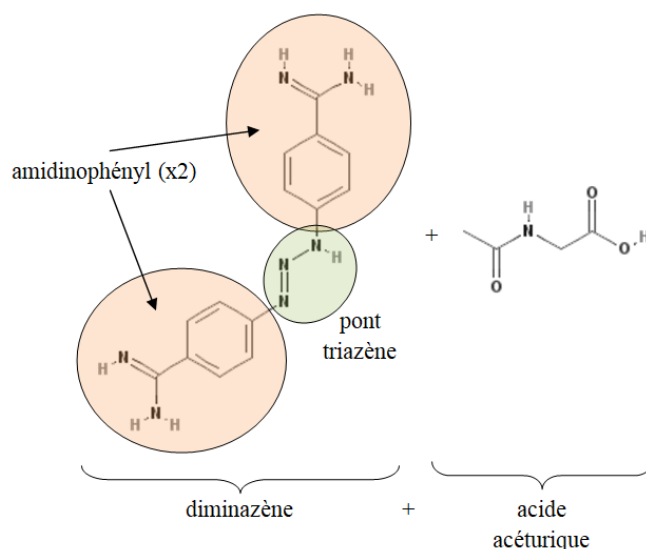


Figure 31 : Structure de l'acéturate de diminazène, modifiée d'après Pubchem (86)

#### (b) Propriétés physico-chimiques

Le diminazène est une base ( $pK_{a_a} = 12,07$ ,  $pK_{a_b} = 18,96$ ) hydrosoluble ( $\log P = 0,39$ ) (87–89). Il est sous forme de dication au pH physiologique (81). Son poids moléculaire est de 398,427 g/mol (86).

La Figure 32 représente le spectre UV du diminazène associé à la phénazone, dans une solution aqueuse.

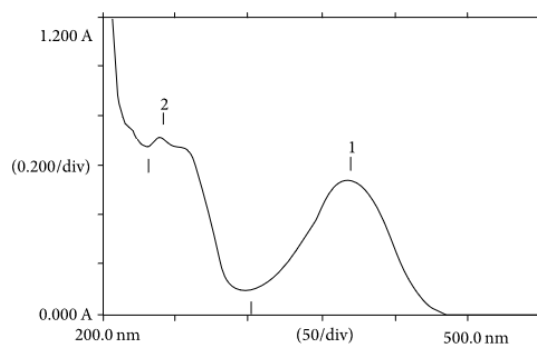


Figure 32 : Spectre UV du diminazène (1) et de la phénazone (2) dans une solution aqueuse d'après Akode *et al.* (90)

## (2) *Pharmacologie*

### (a) **Activité anti-protozoaire**

#### (i) Mécanisme d'action, spectre d'action et espèces cibles

Il bloquerait la glycolyse et la synthèse d'ADN chez le parasite, en ciblant notamment l'ADN kinétoplastique (19,52,87). Il entrerait dans le parasite via ses transporteurs P2 (81).

Il est principalement utilisé chez les bovins et petits ruminants (72) pour contrôler les infections à *babesia* et *trypanosoma* (10). Il est aussi actif contre *theileria annulata*. Il a aussi été utilisé dans les infections à *leishmania*. Il est utilisé hors AMM chez le dromadaire (AMM bovins, ovins, caprins, chevaux, chien).

Son efficacité est diminuée contre le sous-genre *Trypanozoon* par rapport à *T. congolense* et *T. vivax* (72).

#### (ii) Résistances

Des résistances au diminazène ont été rapportées partout dans le monde (10,30). Le mécanisme de résistance au diminazène n'est pas complètement élucidé à ce jour (87).

La perte des transporteurs P2 ou leur perte d'activité pourraient amener à des phénomènes de résistance (81). Les souches akinétoplastiques montreraient également quelques mécanismes de résistances à cette molécule (81).

Il existe des résistances-croisées avec la mélarsomine, et l'existence de résistances-croisées avec la quinapyramine est controversée actuellement : certains auteurs comme Peregrine et Mamman considèrent qu'elles existent, tandis que d'autres comme Giordani sont d'un avis différent (81,87), des travaux pour déterminer l'existence de ces résistances sont en perspective. Il est possible d'utiliser l'isométamidium sur les cas résistants (81).

### (b) **Pharmacocinétique**

#### (i) Résorption

La résorption est rapide par voie intramusculaire et sous-cutanée (mais une partie du produit est probablement retenue au point d'injection puis relarguée plus lentement (91)), mais la biodisponibilité est meilleure par voie intramusculaire, ce pourquoi cette voie est recommandée (il existe une résorption assez rapide par voie orale chez d'autres espèces) (87).

#### (ii) Distribution

La distribution est rapide, biphasique ou triphasique selon les espèces, et très large, dans le plasma et les tissus extravasculaires (résidus retrouvés dans le foie, les reins, le tractus gastro-intestinal, les poumons, les muscles, le cerveau et la graisse). Chez le chien, le diminazène est séquestré rapidement dans le foie puis redistribué aux autres tissus par la suite (91). La demi-vie de distribution varie de 0,41 à 1,88 heures selon les espèces (87). La molécule, étant chargée, ne passe pas la barrière hémato-méningée (81).

Il existe une proportion non négligeable de molécules se liant aux protéines plasmatiques.



### (iii) Biotransformations et élimination

Sa faible rémanence dans le sang de 3 semaines en fait un traitement plutôt curatif. La demi-vie d'élimination est variable selon les espèces, entre 10 et 145 heures (87).

L'élimination de la molécule a lieu rapidement via les urines, les fèces et le lait. Le diminazène est notamment éliminé dans l'urine sous sa forme intacte associée à des métabolites (p-aminobenzamidine et p-amino-benzamide) (81,87).

Le temps d'attente viande est de 21 jours et de 3 jours pour le lait, mais il est conseillé d'attendre plutôt 30 jours pour la viande et 21 jours pour le lait, au vu de la persistance du produit dans l'organisme à faibles doses (on note également une coloration des tissus par le produit pendant quelques jours).

### (c) Effets toxiques et indésirables

Des phénomènes de sudation ont été rapportés par Boyt *et al.* (9) lors d'injection sous-cutané et il existe des effets toxiques voire de la mortalité (au-delà de 4g par animal) suite à l'injection du produit chez le dromadaire (30,72) : tremblements, salivation, réaction locale avec gêne et œdème (39). Globalement, on retrouve des signes de perturbation du système gastro-intestinal, respiratoire, musculo-squelettique et nerveux, et des lésions au niveau du foie, des reins, de la vessie, des poumons, du cœur et du cerveau (87). Ce produit doit donc être utilisé avec précaution dans cette espèce (72).

Cette molécule n'est pas tératogène, mais le caractère mutagène est controversé (87).

## (3) Thérapeutique

### (a) Forme galénique et préparation

Le diminazène est présenté sous forme d'une poudre jaune donnant une solution jaune après dilution (72).

L'antipyrine est souvent utilisée en tant qu'excipient, permettant d'augmenter la solubilité du diminazène et ayant des effets anti-inflammatoires.

La vitamine B12 est souvent associée au diminazène dans les préparations commerciales, car elle est supposée avoir un effet sur l'hématopoïèse et est utilisée dans le traitement de l'anémie, agit en défaveur de la production de méthémoglobine et plus largement du stress oxydatif causé par la présence du parasite.

### (b) Posologie

La dose recommandée pour le traitement curatif des infections par des parasites du groupe *Trypanozoon* est de 7 mg/kg en injection intra-musculaire. La voie sous-cutanée peut être utilisée mais est moins recommandée.

Cependant, la dose de 3,5 mg/kg est le plus souvent utilisée sur le terrain, possiblement car elle correspond à la dose recommandée pour *T. vivax* et *T. congolense* (dose moindre en relation probablement avec une distribution moins large du parasite dans l'organisme (81)). Une dose de 3,5 mg/kg utilisée chez le dromadaire, en zone d'enzootie, risque d'induire des effets indésirables et peut ne pas être suffisante pour éliminer le parasite de l'animal (10).

### (c) Produits commercialisés

L'acéturate de diminazène pouvant être utilisé en cas d'infection à *T. evansi* est commercialisé sous les noms de Berenil<sup>®</sup> (MSD), Piropasmin<sup>®</sup> (VAPCO) (Fig. 33), Veriben<sup>®</sup> et Veriben B12<sup>®</sup> (CEVA), Trypadim<sup>®</sup> (Merial), Nilbery<sup>®</sup> (INTAS) (Fig. 33)...



Figure 33 : Exemple de présentation des trypanocides à base de diminazène (clichés J. Merlin)

### c) Quinapyramine

La quinapyramine est conseillée en traitement plutôt préventif chez le dromadaire.

#### (1) Pharmacie chimique

##### (a) Origine, structure et classification

La quinapyramine a été introduite dans les années 1950. Suite au développement de nombreuses résistances, elle fut retirée du marché dans les années 1970 pour être réintroduite quelques années plus tard en 1984 (92). Elle est aujourd'hui utilisée sous forme de chlorure ou sulfate ou méthylsulfate de quinapyramine plus ou moins combinés selon les produits.

La quinapyramine est une quinoléine pyrimidine, dérivée de l'aminoquinaldine (92), aussi appelée ion 4-Amino-6-((2-amino-1, 6-diméthyl-4-pyrimidinyl) amino)-1méthylquinaldinium (93) (Fig. 34).

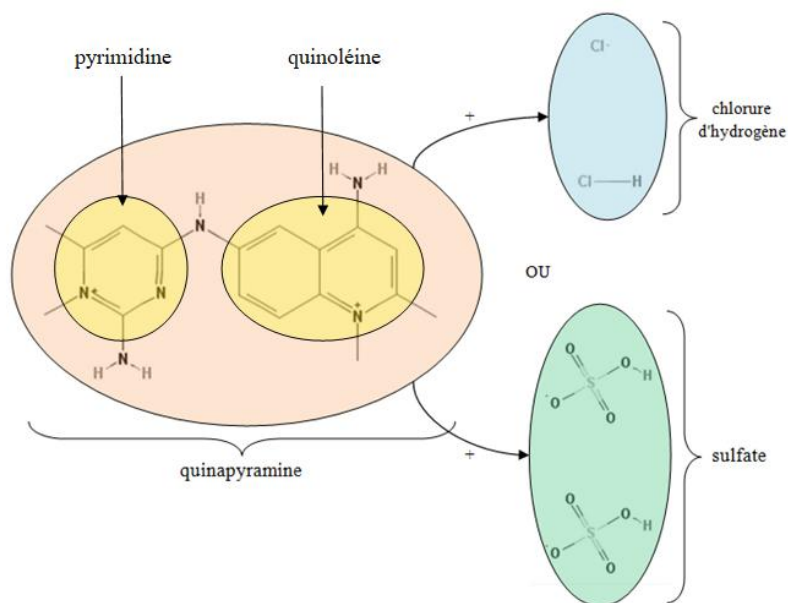


Figure 34 : Structure du sulfate et chlorure de quinapyramine, modifiée d'après Pubchem (94,95)

### (b) Propriétés physico-chimiques

Cette base forte est sous forme de dication au pH physiologique (81). La quinapyramine est soluble dans l'eau ( $\log P = -2,36$  (96)). Son poids moléculaire est de 309,40 g/mol.

Le spectre ultra-violet visible de la quinapyramine est représenté sur la Figure 35, d'après l'étude menée par Manuja *et al.* (93).

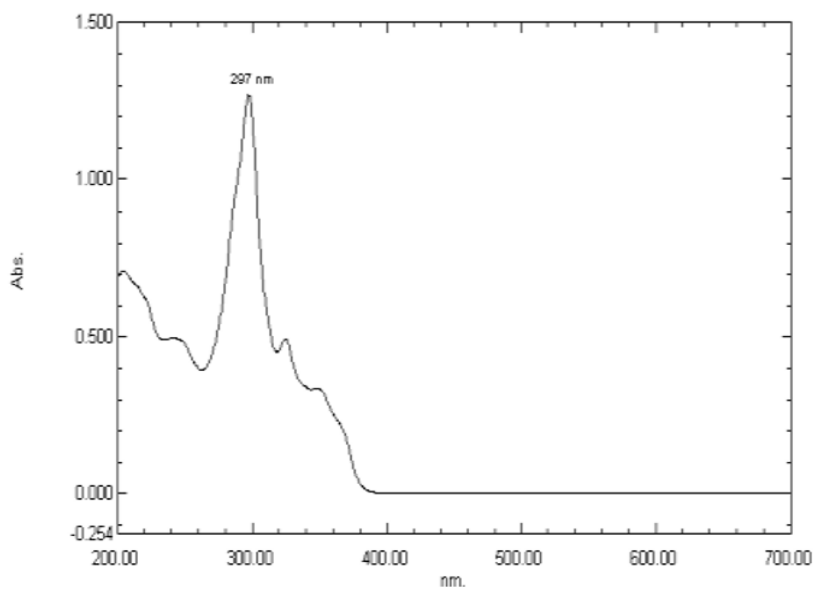


Figure 35 : Spectre UV-visible de la quinapyramine dissoute dans l'eau, d'après Manuja *et al.* (93)

## (2) **Pharmacologie**

### (a) **Activité anti-protozoaire**

#### (i) Mécanisme d'action, spectre d'action et espèces cibles

La quinapyramine inhiberait la synthèse d'ADN et de protéines chez le parasite (et ciblerait la mitochondrie du parasite), mais le mécanisme exact reste inconnu à ce jour (19,81).

Elle est principalement utilisée contre *T. evansi* et *T. brucei* chez le dromadaire et le cheval. Son activité contre *T. vivax* est réduite par rapport aux autres espèces (72). Elle est active contre *T. congolense*, *T. simiae* et *T. equiperdum* (81,92). Elle ne semble pas avoir une très bonne efficacité sur le dromadaire.

#### (ii) Résistances

L'apparition de résistances est assez rapide pour cette molécule. On a pu noter des résistances à la quinapyramine jusqu'à 500 ng/ml (1). Elle n'est plus utilisée chez les bovins en raison de l'apparition de résistances et de sa toxicité chez ces espèces. Des résistances ont aussi été constatées chez le dromadaire en Inde (29).

Elle fait face à des résistances croisées : elle peut favoriser l'apparition de résistances au diminazène, isométymidium, éthidium et homidium (9). Il est tout de même possible d'utiliser l'isométymidium sur certains cas résistants (81).

### (b) **Pharmacocinétique**

#### (i) Résorption

La résorption serait plutôt lente par voie intramusculaire ou sous-cutanée avec une persistance assez longue de la molécule au point d'injection (81).

#### (ii) Distribution

La distribution est large dans le sang et les tissus extra-vasculaires. L'action de la molécule n'est pas immédiate comme pour les molécules précédentes (temps de latence de 24 heures), mais le parasite est éliminé rapidement après ce délai (33).

La quinapyramine s'accumule dans les reins et le foie, ce qui peut mener à une toxicité spécifique ciblant ces organes (81).

La molécule, étant ionisée, ne passe pas la barrière hémato-méningée (81).

#### (iii) Biotransformations et élimination

Des effets chémo prophylactiques ont été notés jusqu'à 4 à 6 mois après injection, probablement en raison d'un relargage progressif de la molécule à partir du point d'injection. La concentration plasmatique de cette molécule diminue rapidement après injection, mais de faibles concentrations sont présentes pendant plusieurs mois.(8,10,81).

La quinapyramine est éliminée par voie urinaire principalement (81). Aucun métabolite de la quinapyramine n'a été décrit dans la littérature à ce jour.

### (c) Effets toxiques et indésirables

La quinapyramine semble causer une irritation sévère et avoir une certaine toxicité (à forte dose surtout), allant de la réaction locale au point d'injection à la néphrotoxicité ou des effets curarisants comme une salivation, des trémulations musculaires, une augmentation de la diurèse, une agitation pendant plus de 2h, une raideur musculaire, voire la mort de l'animal (8).

### (3) Thérapeutique

L'association de sulfate et chlorure de quinapyramine semble être plus efficace que l'utilisation de l'un ou l'autre séparément. Cette association est utilisée pour les traitements prophylactiques (19).

#### (a) Forme galénique et préparation

Elle se présente sous la forme d'une poudre couleur crème, à dissoudre dans de l'eau pour préparation injectable.

#### (b) Posologie

Elle est utilisée en tant que traitement préventif (sulfate de quinapyramine initialement) ou curatif (chlorure de quinapyramine initialement), en injection intramusculaire ou sous-cutanée, à la dose de 3 à 5 mg/kg en curatif, voire 7,4 mg/kg en préventif (jusqu'à 8 mg/kg pour le Triquin® (10)) (28,33).

#### (c) Produits commercialisés

Parmi les produits actuellement commercialisés, on retrouve le Triquin® (Vetoquinol) (Fig. 36), Noroquin® (Norbrook), Trypacide® (Merial), Biquin® (Star Laboratories), Antrycide prosalt® (Virbac), ou encore Asipyr-V® (ALS) (Fig. 36)...



Figure 36 : Exemples de présentation de trypanocides à base de quinapyramine (clichés J. Merlin)

## d) Isoméamidium

L'isoméamidium est un traitement plutôt utilisé en préventif chez le dromadaire, bien qu'il ait des propriétés de traitement préventif et curatif utilisables chez d'autres espèces.

### (1) Pharmacie chimique

#### (a) Origine, structure et classification

Le chlorure d'isoméamidium est un dérivé de la phénanthridine, agent intercalant de l'ADN (9), introduit sur le marché en 1961 (19).

Aussi appelé 3-Amino-8-[3-[3-(aminoiminométhyl)phényl]-1-triazényl]-5-éthyl-6-phénylphénanthridinium chloride, il est formé à partir de la conjugaison d'une molécule d'homidium et de la partie amidinophényl de la molécule de diminazène, reliées par un pont triazène (Fig. 37) (81).

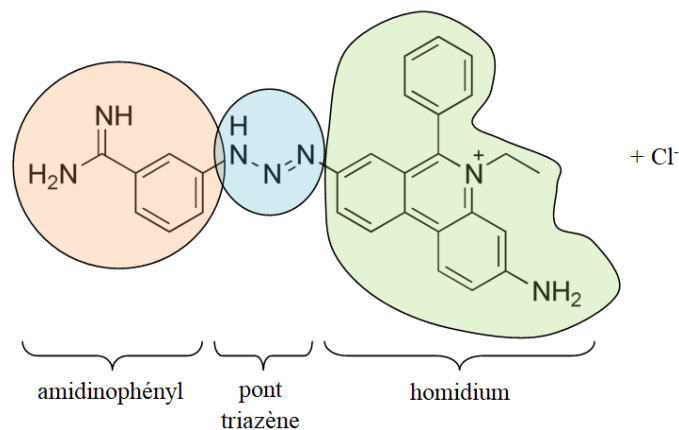


Figure 37 : Structure du chlorure d'isoméamidium, modifiée d'après Giordani *et al.* (81)

#### (b) Propriétés physico-chimiques

Il est sous forme de dication au pH physiologique et a des propriétés amphiphiles ( $\log P = 1,26$  (97)) (81). Son poids moléculaire est de 496,01 g/mol (97).

Les préparations commerciales contiennent 70% d'isoméamidium, le reste étant composé des 2 isomères de la molécule, voire d'homidium. Les différences d'activités entre ces formes n'ont pas été évaluées mais seraient intéressantes à investiguer, étant donné que les isomères n'ont pas les mêmes propriétés que la molécule d'isoméamidium (92).

### (2) Pharmacologie

#### (a) Activité anti-protazoaire

##### (i) Mécanisme d'action, spectre d'action et espèces cibles

Cette molécule est un agent intercalant qui cible spécifiquement l'ADN kinétoplastique du parasite, et s'accumule également dans la mitochondrie (81).

L'isoméamidium est principalement internalisé dans le parasite via ses récepteurs P2, bien qu'une diffusion passive soit possible (81).

L'isoméamidium est actif contre *T. congolense*, *T. vivax* et est moins actif contre *T. brucei* et *T. evansi* (81). Il peut être utilisé chez les ruminants, le cheval et le dromadaire, bien que les doses varient selon les espèces et parasites ciblés.

#### (ii) Résistances

Des phénomènes de résistance ont été constatés. Une perte ou perte d'activité des transporteurs P2 peut amener au développement de résistance à cette molécule. Les souches akinétoplastiques présentent des phénomènes de résistance à cette molécule (81).

Des résistances-croisées avec la suramine et le diminazène ont été notées, bien que l'existence de résistances-croisées avec le diminazène soit controversée. L'isoméamidium et le diminazène peuvent cependant être utilisés en alternance pour limiter le développement de résistance (notion de « sanative pair » expliquée en partie I.H.3.f)2a)) (10,81).

### (b) Pharmacocinétique

#### (i) Résorption

Le relargage de la molécule se fait progressivement depuis le site d'injection, la résorption est donc lente par voie intramusculaire (81).

#### (ii) Distribution

Le pic de concentration plasmatique est atteint au bout d'une heure, puis diminue relativement rapidement pendant la première semaine après le traitement, pour diminuer plus lentement après (81).

Sa distribution dans les tissus extra-vasculaires est rapide, et le volume de distribution est large, la molécule s'accumulant plus amplement dans ces tissus que dans le sang (92). L'isoméamidium s'accumule dans les reins, le foie et la rate (81). La molécule, étant ionisée, ne passe pas la barrière hémato-méningée (81).

#### (iii) Biotransformations et élimination

Sa rémanence varie de 2 à 4 mois (parfois 6 mois) selon la pression infectieuse présente dans la région considérée : en zone de forte pression, la rémanence est courte même pour des dosages élevés.

L'élimination de la molécule se fait principalement par voie biliaire. L'existence de métabolites actifs et phénomènes de biotransformations n'est pas encore pleinement élucidée. L'excrétion par le lait ou les urines est très faible (92).

Le délai d'attente pour la consommation de produits issus de ces animaux est de 23 jours, mais il est conseillé d'attendre 3 à 6 mois (pour une injection de 1 mg/kg) vu la rémanence importante de la molécule (10).

### (c) Effets toxiques et indésirables

Il est *a priori* non cancérigène contrairement aux autres dérivés de la phénanthridine cités plus loin (10), et non tératogène (19).

Cette molécule est globalement plutôt mal tolérée chez le dromadaire : tremblements, salivation, l'injection intramusculaire peut engendrer des réactions locales sévères (8,72), ainsi que l'apparition de nécrose musculaire, une fibrose secondaire et une distension et raideur des muscles lorsqu'elle est utilisée sur une longue période (39,72).

Elle présente une certaine toxicité hépatique et un traitement répété à l'isométymidium suivi de diminazène peut provoquer des dommages hépatiques voir entraîner la mort de l'animal (constaté chez le bétail) : il faut laisser un intervalle d'au moins 15 jours entre les traitements (72). Des traitements répétés tous les 2 mois à 1 mg/kg sont à proscrire sur des périodes étendues.

Ces administrations répétées peuvent entraîner une perte de poids importante chez des animaux sous nourris.

### (3) *Thérapeutique*

#### (a) **Forme galénique et préparation**

Il se présente sous la forme d'une poudre rouge foncée donnant une solution marron-rouge une fois diluée.

#### (b) **Posologie**

Il est utilisé comme traitement curatif ou préventif (plutôt chimioprophylaxie). La dose recommandée pour *T. evansi* en traitement préventif chez le dromadaire est de 1 à 2 mg/kg, en injection intramusculaire profonde car ce produit est très irritant (voie sous-cutanée à proscrire). Cependant, la dose de 1 mg/kg chez le dromadaire ne permettrait que de limiter les signes cliniques pendant 2 à 3 semaines sans éliminer l'agent pathogène, mais la molécule est tout de même assez mal tolérée au-delà (7).

#### (c) **Produits commercialisés**

Les produits commercialisés sont le Trypamidium Samorin<sup>®</sup> (Merial), Veridium<sup>®</sup> (CEVA), Trypano-Forte<sup>®</sup> (Hanvet) (Fig. 38) ou encore Securidium<sup>®</sup> (Laprovét)...



Figure 38 : Exemple de présentation de traitement à base d'isométymidium, le Trypano-Forte<sup>®</sup> (cliché J. Merlin)

Le tableau IX résume les différentes caractéristiques des trypanocides utilisés chez le dromadaire contre *T. evansi*.



Tableau IX : Résumé des caractéristiques des trypanocides actuellement recommandés dans le traitement de la trypanosomose à *T. evansi* chez le dromadaire

Molécule	Prophylactique/ Curatif	Type	Mode d'action	Passage de la barrière hémato-méningée	Spectre	Espèces de destination	Résistances	Dose	Voie d'injection	Rémanence	Toxicité	Noms commerciaux
<b>Mélsarsomine (chlorhydrate)</b>	Curatif (1er)	Dérivé arsenical	Inhibition de la trypanothione disulfure réductase	Non	<i>Trypanozoon</i> , <i>Dirofilaria immitis</i>	Dromadaire, chien	Oui, résistances croisées : diminazène	0,25 mg/kg injection unique	IM	Très courte (quelques heures à jours)	Modérée : réaction locale, salivation, épiphora, hyperpéristaltisme, trémulation musculaire, miction, agitation, possible réaction pseudo-anaphylactique, non tératogène	Cymelarsan®
<b>Diminazène (acéturate)</b>	Curatif (2ème)	Diamidine aromatique	Inhibition de la glycolyse et de la synthèse d'ADN kynétoplastique	Non	<i>Babesia spp.</i> , <i>Trypanosoma spp.</i> (activité diminuée pour <i>Trypanozoon</i> ), <i>Leishmania spp.</i> , <i>Theileria annulata</i>	Bovins, petits ruminants, dromadaire (hors AMM)	Oui, résistances croisées : mélsarsomine, ± quinapyramine, (isoméamidium)	7 mg/kg injection unique	IM	3 semaines	Modérée à importante : tremblements, salivation, réaction locale, signes respiratoires, gastro-intestinaux, nerveux, mutagène?	Berenil®, Piroplasmin®, Veriben®, Trypadim®, Nilbery®...
<b>Quinapyramine (sulfate/chlorure)</b>	Prophylactique (et curatif)	Dérivé d'aminoquinaldine	Inhibition de la synthèse d'ADN kynétoplastique et de protéines	Non	<i>Trypanozoon</i> , <i>T. congolense</i> , <i>T. simiae</i> , activité diminuée pour <i>T. vivax</i>	Cheval, dromadaire	Oui, résistances croisées : diminazène, isoméamidium, éthidium, homidium	3-5 mg/kg (curatif), jusqu'à 8 mg/kg (préventif) injection unique	IM, SC	4 à 6 mois	Importante à forte dose : réaction locale, néphrotoxicité, hépatotoxicité, salivation, tremblements, miction, agitation, raideur, voire mort	Triquin®, Noroquin®, Trypacid®, Biquin®, Antrycide prosalt®, Asipyr-V®...
<b>Isoméamidium (chlorure)</b>	Prophylactique (et curatif)	Dérivé de la phénantridine	Agent intercalent de l'ADN kynétoplastique	Non	<i>T. congolense</i> , <i>T. vivax</i> , activité diminuée pour <i>T. brucei</i> et <i>T. evansi</i>	Ruminants, cheval, dromadaire	Oui, résistances croisées : diminazène, (quinapyramine), suramine	1-2 mg/kg injection unique	IM profonde	2 à 4 mois (voire 6 mois)	Modérée à importante : tremblements, salivation, réaction locale, nécrose musculaire, hépatotoxicité, raideur et distension des muscles, non cancérogène, non tératogène	Trypamidium-Samorin®, Veridium®, Trypano-Forte®, Securidium®...

## e) Autres molécules

### (1) Molécules historiques

Le **tartre émétique ou tartrate de potassium et d'antimoine** est le premier traitement efficace contre la trypanosomose animale découvert, qui n'est plus utilisé aujourd'hui. Plusieurs injections intraveineuses (produit très irritant) étaient nécessaires afin d'éliminer le parasite (72).

La **suramine** est un dérivé de l'urée (9), le plus vieux trypanocide encore utilisé aujourd'hui (81). Introduit sur le marché en 1921, elle active contre les infections à *Trypanozoon* et *T. simiae* (également active contre certaines microfilaires) (72), et a beaucoup été utilisée chez les dromadaires et chevaux, mais étant globalement plutôt mal tolérée chez le dromadaire, avec apparition de tremblements, salivation, réaction locale avec gêne et oedème, et des phénomènes de résistances étant largement apparus en Afrique (30,56), la molécule est plutôt non recommandée dans le traitement de *T. evansi* chez le dromadaire.

Le **bromure de dimidium** est un des premiers trypanocides découvert qui a été utilisé sur les bovins. Il n'est plus utilisé aujourd'hui à cause de sa toxicité aiguë : apparition d'un phénomène de photosensibilisation important, suivi généralement du décès de l'animal suite à des nécroses et surinfections (72).

Le **chlorure et bromure d'éthidium** ont été utilisés en Afrique notamment, mais sont absolument non recommandés aux vues de leur caractère hautement mutagène et donc toxique à la fois pour l'animal et le manipulateur ainsi que leur propriété à favoriser l'apparition de résistances aux autres trypanocides (9).

Le **bromure de pyrithidium**, autrefois commercialisé sous le nom de Prothidiurn<sup>®</sup>, a été abandonné suite à l'apparition de résistances, et de réactions locales et systémiques trop importantes.

Le **chlorure et bromure d'homidium** sont des dérivés de la phénanthridine, entrant dans la composition de l'isoméтамidium, principalement utilisés chez les bovins et petits ruminants, dans le traitement des infections à *T. vivax*, *T. congolense* et *T. brucei*. Cependant ces molécules ne sont pas indiquées dans le traitement de la trypanosomose à *T. evansi* et n'ont pas d'AMM chez le dromadaire (9,72).

### (2) Molécules en cours d'étude

Aux vues des larges phénomènes de résistance présents, il apparaît essentiel de poursuivre la recherche de nouvelles molécules trypanocides. Ces recherches se concentrent actuellement sur des molécules actives sur la glycolyse ou des enzymes spécifiques du parasite.

Le **chlorhydrate de trybizine** est une nouvelle molécule trypanocide appartenant à la famille des diamino-triazines, actuellement en cours d'étude contre les infections à *T. evansi* chez les bovins et buffles. L'évaluation de son activité contre *T. brucei* a permis de mettre en évidence une efficacité chez des souches résistantes à la mélarsomine ou au diminazène. Cependant, elle présente assez rapidement des problèmes de toxicité. Cette molécule n'est pas non plus capable de passer la barrière hémato-méningée (19).

D'autres composés ont été testés : l' **$\alpha$ -pinene** et la  **$\beta$ -caryophyllene** (composés extraits de la plante *Achyrocline satureioides*) ont permis une augmentation de la durée de vie des animaux infectés sur lesquels elles ont été testées sans pour autant permettre d'établir une dose curative (98), l'association de **nanoparticules lipidiques solides** aux traitements existants comme l'acéturate de diminazène permettrait d'améliorer l'efficacité du traitement en améliorant sa biodisponibilité (99), une combinaison de **cordycépine** et **pentostatine**, bien qu'hépatotoxique et néphrotoxique à forte dose, pourrait constituer un traitement alternatif efficace contre *T. evansi* (100).

#### 4. Recommandations

Les recommandations faites par le centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) sont les suivantes concernant les traitements curatifs utilisables chez le dromadaire : la mélarsomine doit être utilisée en première intention, puis l'acéturate de diminazène à défaut (10).

D'après plusieurs études, la stratégie la plus efficace serait d'utiliser des traitements ciblés sur les animaux se révélant infectés par une combinaison de méthodes diagnostiques, en utilisant les molécules les plus efficaces, tout en établissant un système de surveillance afin de renforcer les contrôles, notamment en dépistant les porteurs sains qui sont une véritable menace pour les autres animaux naïfs, et d'attester de l'efficacité des traitements mis en place (10).

Lors d'infection risquant d'être létale, dans le cas d'exportation à l'international ou encore dans le cas d'introduction d'un animal dans un élevage indemne, on privilégiera la destruction de tous les parasites présents chez l'hôte, pour éviter les cas de portage et les transmissions à d'autres individus (10).

Les trypanocides doivent être administrés le plus rapidement possible (dans l'idéal le jour-même) après leur reconstitution, la plupart étant des produits conservés sous forme de poudre ou tablettes à dissoudre ou mettre en suspension dans de l'eau stérile, en raison de leur faible stabilité en solution aqueuse (9).

L'efficacité d'élimination du produit est souvent réduite chez des animaux avec une atteinte hépatique ou rénale, il faudra donc réduire les doses chez ces animaux et utiliser les produits avec plus de précaution (72).

De même, il existe une surestimation du dosage chez les animaux trop gras (c'est rarement le cas chez le dromadaire), car la proportion de fluides corporels par rapport au poids total de l'animal est réduite. Cette surestimation peut amener au développement d'effets toxiques.

Les excipients associés aux trypanocides dans les préparations commerciales ont un rôle complémentaire mineur (9).

Il est toujours préférable d'associer ce traitement à un traitement symptomatique (complémentation en fer, en vitamines, anti-inflammatoires...) et privilégier des bonnes conditions environnementales (nourriture en quantité suffisante et de bonne qualité, repos, environnement calme...) pour améliorer l'état de l'animal (9), afin de soutenir au mieux l'animal immunodéprimé (72). Il faut toutefois prendre garde à l'association de certaines molécules qui peut être toxique (72).

## **5. Conclusion sur les traitements curatifs**

Il est important de mettre en place plusieurs techniques de lutte contre la maladie, en fonction du type d'élevage, pour lutter efficacement contre la trypanosomose, aucune mesure isolée ne permettant seule le contrôle de la maladie. On parle de « lutte ou gestion intégrée ». Les techniques prophylactiques sont d'autant plus importantes qu'un phénomène de résistance s'est développé dans une région. Il est important de discuter des différentes possibilités de traitement avec l'éleveur ou le personnel qui s'occupe des animaux (72).

Une approche combinant différentes molécules aux effets synergiques serait à privilégier dans le futur pour pallier aux phénomènes de résistance se développant (98).

## G. Méthodes prophylactiques

Actuellement, la maladie est principalement contrôlée par des traitements médicamenteux préventifs. Cependant, cette approche est insuffisante pour assurer une protection pérenne des animaux contre la maladie, d'autres méthodes devant lui être associées.

La maladie étant principalement transmise par des espèces vectrices, la première cible visée par les mesures prophylactiques autres que médicamenteuses sera le vecteur de la maladie, animé ou inanimé.

On retrouve ainsi des mesures prophylactiques médicamenteuses, d'autres moyens chimiques, des mesures hygiéniques et des moyens physiques pour lutter contre le vecteur.

### 1. Mesures préventives dirigées contre le parasite

#### a) Trypanocides prophylactiques

Un traitement médicamenteux préventif est un médicament dont une dose est administrée à un animal sain (ou possiblement infecté) pour le protéger contre une infection sur une période correspondant à la rémanence du produit utilisé (selon la dose) (9).

Un traitement préventif est réalisé lorsque un nombre d'animaux trop important contracte la maladie de manière trop fréquente ou que les animaux sont atteints à un moment où le traitement curatif est impossible (transhumance par exemple). Cela implique une certaine rémanence du produit : un produit préventif peut être curatif mais un trypanocide curatif ne peut pas forcément être utilisé comme un traitement préventif, si sa rémanence est trop faible. Attention à bien respecter le délai entre chaque traitement, pour éviter une accumulation du produit et donc une certaine toxicité ou un sous-dosage du produit, en fin de période de rémanence, qui ne permettrait plus d'empêcher le développement du parasite (Fig. 39). Cet intervalle dépendra de la rémanence du produit et de la pression infectieuse (72).

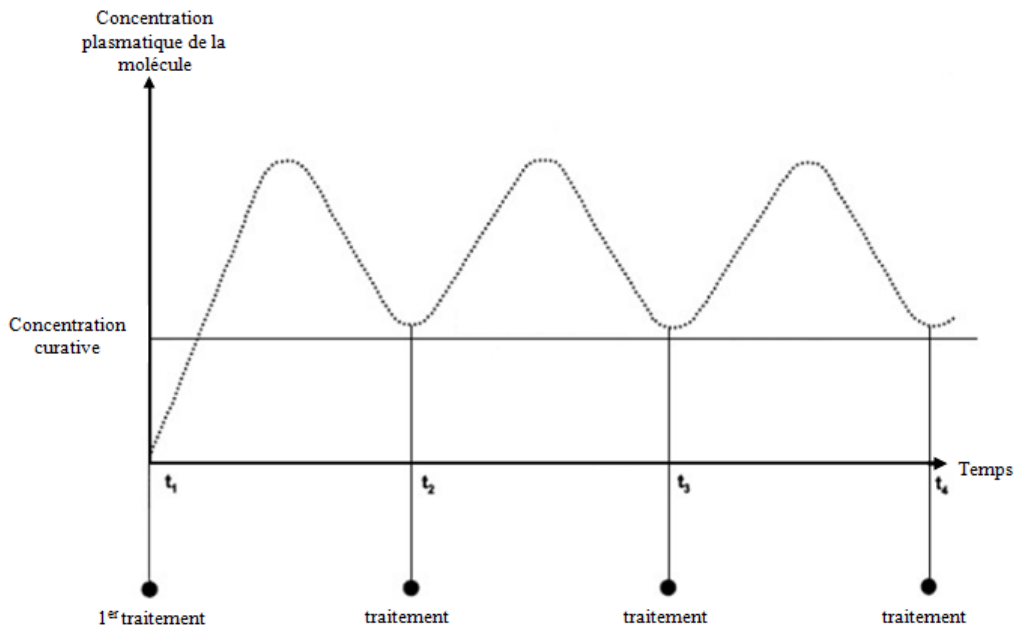


Figure 39 : Principe d'un traitement préventif réitéré - concentration en fonction du temps d'après Uilenberg (72)

Les molécules utilisées forment un dépôt local au point d'injection et sont libérées de manière progressive dans la circulation sanguine ou sont attachées à des protéines circulantes, et sont relarguées progressivement (72).

De manière générale, les traitements préventifs ont tendance à sélectionner des parasites résistants, ce pourquoi il est important de respecter les délais entre chaque traitements et de faire suivre le traitement préventif par un traitement curatif avec une molécule d'une autre catégorie chimique (9).

Il est important de considérer, dans un traitement prophylactique, la notion de risque infectieux, correspondant au taux d'infection (nombre de vecteurs mécaniques infectés) auquel les animaux d'un troupeau sont exposés sur une période donnée. Ceci peut parfois influencer sur la durée d'efficacité d'un traitement préventif : plus ce risque est important et plus la durée est réduite. Ce phénomène n'est pas encore élucidé (72).

Estimer précisément ce risque est très difficile, étant donné la multitude de vecteurs possibles pour *T. evansi*, vivants ou inanimés : il faudrait arriver à déterminer la quantité de vecteurs infectés sur une zone (attrapés par des pièges à insectes puis disséqués par exemple), ce qui est quasiment irréalisable en pratique. Il n'est donc possible d'avoir qu'une estimation grossière de ce risque, pour déterminer la durée de traitement efficace dans un contexte donné.

Le chlorure d'isométymidium ou la quinapyramine sont les molécules recommandées en préventif par le CIRAD chez le dromadaire (10).

Pour les animaux sensibles en zones à risque, il est conseillé de traiter tous les 4 mois en préventif et de réaliser au moins une fois par an un traitement curatif, et si le risque est saisonnier, on conseille de traiter uniquement sur la période à risque (9).

Chez les bovins, l'acéturate de diminazène peut être utilisé, en période à risque élevé, à la dose de 3,5 mg/kg une fois par mois en injection sous-cutanée, en zone d'enzootie, cela permettant de maintenir une immunité de portage, le produit contrôlant l'infection et empêchant le parasite d'induire une maladie grave (9). En l'absence de donnée chez le dromadaire, et la posologie recommandée dans cette espèce étant plus élevée (7 mg/kg), il est difficile de se prononcer sur la validité de ce protocole prophylactique dans cette espèce. Des études expérimentales ultérieures seraient à envisager.

Là où le risque de contamination est plus important sur une période de l'année, en général à la fin de la saison des pluies, il est recommandé de faire un traitement préventif 2 semaines avant le début de la période à risque. Le reste du temps, seuls des traitements curatifs sont conseillés.

Pour les transhumances en régions à risque, il est recommandé de traiter la veille du départ (protection de plusieurs mois avec l'isométymidium) puis de traiter à l'arrivée avec de la mélarsomine par exemple pour éliminer les parasites résistants au premier traitement et traiter les animaux infectés en fin de prophylaxie (9).

En zone où le risque est négligeable, il est déconseillé de faire des traitements préventifs, mais de traiter uniquement les animaux malades de façon ponctuelle.

## b) Vaccination

Aucun vaccin n'est disponible à ce jour (6).

La diminution d'efficacité du système immunitaire lors d'infection à *T. evansi* peut expliquer la difficulté à créer un vaccin efficace contre cette maladie, bien que des glycoprotéines de surfaces invariantes aient été identifiées. Malgré tout, certains auteurs ont réussi expérimentalement à immuniser des animaux contre ce parasite en ciblant des protéines telles que la  $\beta$ -tubuline, l'actine ou encore des VSG (3).

## 2. Lutte vectorielle

Le contrôle des vecteurs animés est difficile en pratique, étant donnée la diversité des vecteurs potentiels, leur grande mobilité et prolificité (la population totale augmente si seulement 2% des larves atteignent le stade adulte), notamment chez les tabanidés, d'autant que les stades larvaires de ces espèces sont souvent dispersés sur de grandes zones et que les différentes espèces colonisent différentes niches écologiques. L'élimination d'une espèce vectrice peut favoriser le développement d'une autre. Par conséquent, un contrôle écologique des vecteurs n'est pas envisageable. *Stomoxys* a quant à lui une répartition bien plus proche de celle du troupeau, il peut donc être plus facilement contrôlé en utilisant des méthodes de lutte au sein du lieu d'élevage, mais là encore son contrôle est difficile étant donnée sa prolificité et mobilité (10). L'éradication de ces vecteurs mécaniques est donc non envisageable actuellement, la lutte étant peu efficace (12).

La lutte contre le vecteur n'est pas toujours une lutte totale : elle a pour but de diminuer la densité de vecteurs dans la zone considérée afin de pouvoir faire régresser la maladie et d'avoir un coût acceptable en regard de la production animale visée (72).

Le contrôle des vecteurs peut passer par une destruction du vecteur ou une éviction du contact entre les animaux et le vecteur. L'utilisation de pièges à insectes, d'écrans imprégnés d'insecticides, d'insecticides pulvérisés sur les animaux, l'installation de moustiquaires plus ou moins imprégnées d'insecticides, de lampes UV, de fumée, le fait de rentrer les animaux en bâtiments clos, de les séparer, ou encore la destruction des zones favorables au développement du vecteur sont autant de moyens pouvant être mis en place dans la lutte vectorielle.

### a) Mesures chimiques : insecticides et écrans imprégnés

L'utilisation d'**insecticides** telles que des pyréthriinoïdes, notamment la deltaméthrine, la perméthrine (Stomoxine<sup>®</sup>), la cyperméthrine (Fig. 40) ou encore des organophosphorés comme le diazinon, encore présents dans certains pays (Arabie Saoudite notamment), permet de réduire localement la quantité de vecteurs présents. De plus, les pyréthriinoïdes et les organophosphorés sont réputés efficaces également contre les tiques. Aucune étude de toxicité n'a été faite sur le dromadaire avec ces molécules mais elles peuvent causer des problèmes notamment de fertilité chez les espèces d'expérimentations étudiées et chez les personnes régulièrement exposées (101).



Figure 40 : Exemples d'insecticides utilisés aux Emirats (cliché J. Merlin)

Les produits sont appliqués directement sur l'animal (plus d'insecticides répandus au sol ou dans l'air car beaucoup de problèmes de pollution des eaux, avec une destruction de la faune et de la flore locale, notamment avec le DDT il y a quelques années) sous forme de gouttes, de spray (Fig. 41) ou de *pour on*.



Figure 41 : Aspersion de cyperméthrine sur des dromadaires à leur arrivée au centre de l'Advanced Scientific Group d'Abu Dhabi (cliché J. Merlin)

La fréquence d'application est à adapter en fonction de la rémanence du produit, et sera plus courte durant la saison des pluies (72). Les résistances aux pyréthriinoïdes sont nombreuses. Cette méthode a montré une certaine efficacité sur le terrain, mais l'action de ces produits est relativement courte et nécessite une application fréquente (tous les 15j à 1 mois en général), ce qui aboutit à un coût non négligeable pour avoir un couverture efficace et continue (10).

L'utilisation d'insecticides n'est pas durable dans les zones non closes, étant donné que les insectes reviennent coloniser la zone depuis les zones voisines non traitées dès l'arrêt de l'utilisation des insecticides. Cette stratégie est coûteuse, insatisfaisante, non durable et ne permet pas une protection à 100% contre le trypanosome (10).

L'utilisation d'**écrans imprégnés**, utilisés dans le contrôle des glossines en Afrique, n'a pas encore été testée sur des vecteurs mécaniques à ce jour, mais pourrait être une méthode de lutte intéressante (10).



## b) Mesures hygiéniques

Il est crucial de respecter le changement d'aiguille entre chaque animal ou la stérilisation physique ou chimique du matériel réutilisable (57), ainsi que le port de gants pour éviter la transmission mécanique du parasite. Le sang utilisé pour les transfusions doit également être analysé avant utilisation dans les zones à risque.

## c) Moyens mécaniques

### (1) Pièges à insectes

Les plus efficaces des pièges sont les pièges *Nzi* (Fig. 42) et *Vavoua* (Fig. 43) : le piège de type *Nzi* permet de capturer des grandes espèces de tabanidés et *Stomoxys*, tandis que le piège de type *Vavoua* permet plutôt la capture de petites espèces de tabanidés, *Chrysops* ou encore *Stomoxys*.



Figure 42 : Piège de type *Nzi* d'après Desquesnes (10)



Figure 43 : Piège de type *Vavoua* d'après Desquesnes (10)

Les pièges seront plus ou moins attractifs pour les vecteurs selon leur couleur, forme, motif, s'il y a une substance, dont l'odeur est attractive pour le vecteur, ajoutée au dispositif (acétone,...).

La Figure 44 présente un des types de piège commercialisés aux Emirats.



Figure 44 : Exemple de piège à insectes utilisé aux Emirats (cliché J. Merlin)

Les inconvénients de cette méthode sont que les pièges nécessitent un entretien régulier (remplacement de pièges, entretien de l'espace autour du piège pour qu'il reste visible et accessible) et doivent être maintenus même si la population de vecteurs diminue, pour éviter une recolonisation de la zones par des vecteurs mécaniques (72). L'efficacité réelle dans la lutte antivectorielle n'a pas encore été montrée, ces pièges ayant été utilisés essentiellement pour des études de recherches sur ces vecteurs (10).

### **(2) Fumée**

Une méthode traditionnelle consiste à utiliser la fumée d'un feu contrôlé comme répulsif. Cependant la fumée n'a un effet répulsif que sur une petite zone, et peut être nocive à long terme, pour l'animal comme pour son environnement proche (10).

### **(3) Séparation physique des animaux**

On peut également tenter de contrôler la transmission en évitant le passage du vecteur d'un animal à un autre.

Les tabanidés, après un premier repas sanguin inachevé, ne se déplaceront pas à plus de 50 mètres de l'animal dont ils sont chassés pour aller finir leur repas. Desquesnes *et al.* (10) considèrent qu'une distance de 200 mètres entre les individus est une distance raisonnable pour éviter le passage de l'insecte piqueur d'un animal à un autre. Cette méthode peut être intéressante pour isoler un animal malade ou nouvellement introduit dans un troupeau, un animal destiné à l'export, pour isoler deux troupeaux différents ou encore séparer des espèces de sensibilité différentes à la maladie (par exemple un troupeau de bovins, peu sensibles, et un troupeau de dromadaires ou chevaux, beaucoup plus sensibles à la maladie) et éviter une transmission inter-spécifique.

La Figure 45 représente la zone de quarantaine utilisée par l'Advanced Scientific Group d'Abu Dhabi.



Figure 45 : exemple de zone de quarantaine séparée du reste du troupeau (cliché J. Merlin)

L'utilisation de moustiquaires ou de lampes UV reste anecdotique dans les élevages de dromadaires, notamment aux Emirats, étant donné que la plupart des troupeaux sont en plein air ou sous des bâtiments ouverts et de très grandes tailles, ne permettant pas l'installation de tels dispositifs.

### **3. Prévention d'introduction en zone indemne**

Afin de prévenir l'introduction de la maladie dans une zone indemne, notamment lors de commerce international, il est crucial d'identifier les animaux porteurs sains ou sub-cliniques, grâce aux méthodes diagnostiques précédemment citées.

Plusieurs recommandations sont faites afin d'éviter l'introduction d'animaux malades dans un troupeau naïf :

- deux périodes de quarantaine doivent être appliquées, lors de commerce international de camélidés, de 4 semaines chacune, dans l'élevage exportant et dans l'élevage important l'animal
- pour être apte au commerce international, l'animal doit provenir d'un élevage indemne, d'une zone indemne, et être négatif aux tests de dépistage réalisés deux fois à 3 ou 4 semaines d'intervalle, durant chaque période de quarantaine
- un élevage est considéré être dans une zone indemne s'il n'y a pas eu de cas de Surra rapportés depuis 3 ans sur un rayon de 30 km autour de l'élevage
- un élevage indemne est situé dans une zone indemne, et permet seulement l'introduction d'animaux négatifs aux tests de dépistage de la maladie et provenant d'élevages indemnes en zone indemne. Pour obtenir le statut d'élevage indemne, tous les mammifères présents sur l'élevage doivent obtenir un résultat négatif aux tests de dépistage, deux fois à 3 semaines d'intervalle. Pour maintenir ce statut, tous les mammifères de l'élevage doivent être négatifs à chaque période de tests, ceux-ci étant répétés tous les 10 à 12 mois (10)
- Les tests de dépistage recommandés par l'OIE sont l'utilisation du CATT/*T. evansi* suivi d'un ELISA à 40 jours d'intervalle, puis la réitération des tests sur les échantillons suspects, complété si possible par une analyse PCR (6)

Les animaux à introduire, s'ils sont infectés, pourront donc être refusés, détruits, traités ou mis en quarantaine selon la politique du pays (2).

Lors de l'apparition d'un foyer en zone indemne, il convient d'abord d'identifier les réservoirs ou la source de l'infection par lesquelles les animaux se sont infectés, de vérifier le statut des animaux d'autres espèces vivant en contact avec les dromadaires infectés, de mettre en place des mesures de contrôle et d'éradication pour prévenir une réintroduction future, avant de mettre en place un traitement massif des animaux (32).

## **H. Phénomènes de résistance aux trypanocides**

La résistance à un médicament se définit comme la perte de sensibilité d'une souche particulière d'un agent pathogène à un produit auquel elle était sensible auparavant. Cela se traduit par des échecs de traitements curatifs ou préventifs (72).

L'utilisation prolongée et régulière de médicaments mène inévitablement au développement de résistances de la part de l'agent infectieux concerné. Chaque nouvelle sortie sur le marché de molécule trypanocide a été suivie, quelques années plus tard, par le développement de résistances (72).

Si elles apparaissaient réellement et de manière importante chez les camélidés, étant donné que très peu de molécules sont utilisables, la plus adéquate étant la mélarsomine, la lutte contre la trypanosomose chez le dromadaire deviendrait extrêmement compliquée, étant donné que la maladie est surtout régulée par l'administration régulière de trypanocides.

Des études de résistance sont réalisées avant la commercialisation d'un trypanocide. En général, la méthode consiste à infecter un animal de laboratoire avec l'espèce de trypanosome à tester. Une fois l'infection avérée, le trypanocide étudié est administré à une dose infra-thérapeutique. Le parasite est ensuite transféré à un autre animal, puis l'infection est traitée une fois qu'elle est confirmée. La répétition des traitements à doses croissantes permet d'accélérer le phénomène de résistance et une molécule où l'apparition de résistance en laboratoire est très rapide ne sera pas mise sur le marché (72).

Plusieurs phénomènes de résistance au traitement ou récurrence d'infection ont déjà été rapportés chez le dromadaire, notamment avec l'utilisation de mélarsomine :

- des résistances sont apparues chez *T. evansi*, chez le dromadaire et d'autres espèces, en Afrique, en Asie, en Amérique centrale et du Sud d'après Uilenberg (72)
- dans l'étude de Gutierrez *et al.* (33), 5% des dromadaires traités deux fois de suite avec de la mélarsomine à 0,25 puis 0,5 mg/kg sont restés parasités
- des rechutes chez le dromadaire ont été notées après traitement d'après Enwezor *et al.*(1).

### **1. Réinfection ou résistance au traitement ?**

Il faut tout d'abord bien distinguer le phénomène de résistance réelle défini précédemment, dont l'apparition peut être accélérée par de mauvaises pratiques de lutte contre la maladie (curatives ou préventives), du phénomène de réinfection suite à un traitement, qui peut avoir lieu via un mauvais contrôle des vecteurs, une inoculation iatrogène, l'existence de réservoirs domestiques ou sauvages ou l'introduction d'un nouvel individu infecté.

Il est également important de distinguer la résistance réelle de l'agent pathogène au traitement, d'une résistance clinique c'est-à-dire une sensibilité de l'agent à la molécule utilisée mais un échec de traitement pour d'autres raisons (sous-dosage, inaccessibilité du parasite...).

## **2. Réinfection**

### **a) Réservoirs ou introduction d'animal parasité en zone indemne**

Plusieurs espèces, domestiques ou sauvages (probablement ovins, caprins, petits rongeurs sauvages), peuvent jouer le rôle de réservoirs à trypanosomes et sont donc susceptibles de transmettre le parasite, via un vecteur mécanique plus probablement, aux dromadaires vivant à proximité.

Dans l'étude de Gutierrez *et al.* (33), les auteurs ont notamment évoqué l'existence possible de réservoirs (chèvres, souris, rats, rongeurs sauvages, lapins) ayant permis une réinfection des dromadaires ayant présenté des échecs de traitement.

De plus, la réapparition du parasite dans une région pourrait tout aussi bien être due à une réintroduction de celui-ci par un animal parasité nouvellement introduit qu'à une efficacité partielle du traitement trypanocide utilisé (2).

### **b) Mauvaise prévention en zone d'endémie**

Il est crucial d'associer d'autres méthodes préventives à l'utilisation de trypanocides, une mauvaise prévention pouvant amener plus facilement à des réinfections suite à un traitement par la présence de vecteurs, animés ou non, non contrôlés dans l'environnement de l'animal. Le protocole préventif ou curatif appliqué aux animaux du troupeau doit également être adapté à la situation épidémiologique, et connu pour être efficace dans ce genre de situation.

Il faut, autant que possible, connaître avec exactitude la situation épidémiologique de la région, notamment le risque infectieux et son caractère saisonnier ou non afin d'ajuster au mieux les mesures de lutte. Il est recommandé de mettre en place un traitement prophylactique aux doses plus élevées et à intervalles plus rapprochés, le temps que la situation épidémiologique soit élucidée dans la région concernée, puis baissées après si besoin (72).

## **3. Résistance au traitement**

### **a) Sous-dosages et estimation du poids**

Dans tous les cas, quelque soit le phénomène de résistance mis en jeu, celui-ci apparaîtra d'autant plus rapidement que des concentrations insuffisantes du trypanocide sont administrées à l'animal infecté (72).

Un sous-dosage entraîne un échec de traitement, car la concentration du produit n'étant pas suffisante pour éliminer les parasites présents, il va entraîner la sélection de souches résistantes, qui plusieurs générations après, avec ou sans mutation ajoutée, peuvent résister à des doses de trypanocides deux à trois fois supérieure à la dose thérapeutique habituelle. Seul un changement de catégorie chimique du trypanocide permet de contourner ces résistances. Il faut alterner l'utilisation des produits lorsque l'on constate une diminution d'efficacité clinique apparente (9).

Celui-ci peut avoir lieu dans deux cas :

- une dose réduite est administrée à chaque animal : la dose est diminuée afin de réutiliser le produit sur plusieurs animaux, le produit ne s'est pas dissous correctement dans la solution, la posologie pour bovins est utilisée à la place or la biodisponibilité, soit la quantité de molécules disponibles dans le sang et les tissus, peut être différente selon les espèces (72)
- une sous-estimation du poids par une estimation visuelle entraîne un sous dosage du trypanocide.

Peser les animaux sur une balance reste la méthode de choix pour une estimation exacte du poids, à condition que la balance soit correctement tarée, mais cette méthode est souvent indisponible sur le terrain.

L'utilisation de formules est la seconde méthode à privilégier. Cette technique peut être réalisée même par un manipulateur inexpérimenté, mais, comme la précédente, est très chronophage lorsqu'il s'agit de mettre en place un traitement de masse (72).

La dernière technique consiste à faire une estimation visuelle du poids de l'animal. Cette technique requiert une très bonne expérience de l'observateur et représente la plus grande source d'erreur dans l'estimation d'un dosage (72).

### **b) Sites refuges**

Ce qui est observé chez certaines souches résistantes est leur capacité à disparaître de la circulation sanguine suite à un traitement trypanocide (comme pour les souches sensibles), puis de réapparaître quelques temps plus tard. Il serait donc possible que ces souches aient la capacité de se réfugier dans certains organes comme le cerveau ou les yeux, inaccessibles au traitement ou pas suffisamment pour éliminer tous les parasites (9,10,72). Il s'agit typiquement d'une résistance clinique sans résistance génétique présente chez l'agent pathogène.

### **c) Autres mécanismes de résistance**

Habituellement, un des mécanisme principaux de développement de résistances suite à l'utilisation de médicaments est la sélection d'une population naturellement résistante à la molécule, par le biais de mutations. Les populations sensibles sont détruites mais la population résistante résiste et se développe.

Cette théorie n'est pas forcément vraie pour le trypanosome : certains trypanosomes ont développé des stratégies adaptatives vis-à-vis du système immunitaire de l'hôte, comme un changement régulier des protéines de surface (d'autant que les antigènes varient selon la souche, le type et les sous-espèces d'une même espèce de trypanosome), afin de résister dans un environnement non favorable. L'apparition de résistances médicamenteuses pourrait résulter d'un mécanisme combinant à la fois un phénomène de sélection et une capacité d'adaptation du parasite. Le niveau de résistance peut varier considérablement d'une souche à une autre (72).

Les souches non-résistantes seraient en revanche plus aptes à survivre sur le long terme dans un contexte sans pression de sélection, car on observe quasiment aucune souche résistante dans des lieux où aucun trypanocide n'est utilisé, et on peut voir la réapparition de souches sensibles (provenant d'animaux sauvages ou domestiques non traités) suite à l'arrêt de traitements trypanocides et la disparition progressive des souches résistantes. Il a été démontré que ces souches sensibles étaient a priori plus virulentes et plus vigoureuses que les souches résistantes (72).

D'autres mécanismes possibles pourraient être à l'origine de formes de résistance acquise. On peut citer notamment :

- un changement dans la membrane du parasite, notamment un changement de transporteurs (perte de transporteurs ou perte d'activité) ne permettrait pas au trypanocide de pénétrer correctement dans l'agent pathogène (transporteurs P2 par exemple),
- une modification des enzymes ciblées par le médicament (trypanothione réductase par exemple), rendrait son action létale caduque,
- une élimination du trypanocide hors du parasite par des pompes à efflux.

#### **d) Mauvaise préparation ou utilisation du produit**

En ce qui concerne la préparation du produit, les attitudes suivantes peuvent amener à un phénomène de résistance (9,72) :

- de mauvaises conditions de stockage du produit peut entraîner une réduction d'efficacité,
- un traitement périmé ou un flacon ouvert depuis trop longtemps peut provoquer une altération de la substance active et donc entraîner des échecs de traitements,
- une dilution faite à l'avance du produit va diminuer sa conservation, s'agissant de préparation extemporanée, et donc son efficacité,
- une dilution du produit avec un diluant non stérile ou non adapté risque d'altérer le produit ou le rendre non efficace,
- la concentration efficace du produit n'est pas atteinte car une dilution excessive a été réalisée,
- le produit acheté n'est pas authentique et est sous-dosé par rapport au produit original, il faut donc se méfier et bien choisir ses sources d'approvisionnement pour être certain d'obtenir le bon produit, à la bonne concentration,
- des informations incomplètes sur le packaging, ou non traduits dans la langue du pays peut entraîner un mésusage du trypanocide,
- une confusion est faite entre plusieurs trypanocides de noms similaires : Tropar Forte® (quinapyramine) et Trypano Forte® (isométymidium).

En ce qui concerne le protocole utilisé, les pratiques suivantes sont favorables au développement de résistances (72) :

- un intervalle de temps trop long est laissé entre 2 traitements préventifs,
- l'intervalle entre chaque inspection des animaux est trop long,
- une interruption du traitement prophylactique est faite en zone à risque (rupture de stock, retard à la présentation du troupeau, ...),
- le risque est sous-estimé et un traitement curatif ne suffit pas.

Les molécules prophylactiques, avec une rémanence importante, sont à proscrire en traitement curatif, car elles persistent dans le sang à des doses sublétales pour le parasite bien plus longtemps que les molécules curatives avec un faible effet résiduel et favorisent le développement de résistances. Il faut répéter les administrations pour avoir une concentration suffisante dans le sang, avec ces molécules prophylactiques (72).

D'autres facteurs, liés à l'individu, peuvent altérer la réponse au traitement : la nutrition, l'état hormonal, l'état physiologique et les maladies associées. De plus, un abcès se formant au point d'injection, empêcherait la bonne diffusion du trypanocide (9).



### e) **Mise en évidence d'un phénomène de résistance**

Un animal est infecté soit après un traitement curatif, soit pendant la période de protection supposée d'un traitement préventif. A ce stade, il ne faut pas confondre ce phénomène avec une réinfection ou une durée de protection du traitement préventif plus courte que celle supposée. Pour vérifier s'il s'agit d'un phénomène de résistance, il faut réitérer le traitement avec la même molécule, puis faire une analyse sanguine 10 à 20 jours après afin de vérifier si le parasite est toujours présent ou non.

Pour confirmer une résistance, il faut prélever du sang des animaux en parasitémie, puis l'inoculer dans un animal sain et sensible. Le sang de cet animal est ensuite analysé régulièrement et l'animal est traité avec le trypanocide testé, à la dose recommandée par le laboratoire, dès que des trypanosomes sont détectés. Une persistance ou réapparition des parasites indique qu'une souche résistante était présente dans l'inoculat de départ. Un second groupe d'animaux sensibles est infecté avec cette souche résistante, puis après l'apparition d'une parasitémie, les animaux sont traités avec différentes doses du trypanocide testées pour attester du degré de sensibilité de la souche à ce médicament. Les animaux sont examinés régulièrement et la surveillance doit avoir lieu au moins pendant 3 mois après le traitement afin de déterminer la dose curative à envisager sur cette souche. (Cette expérimentation peut être réalisée sur des rongeurs de laboratoire mais les doses à administrer sont plus élevées et les résultats ne sont pas directement applicables sur le terrain)

D'autres méthodes, non applicables en routine (éventuellement utilisable dans certains laboratoires de référence), peuvent être utilisées pour mettre en évidence une résistance : application de trypanocides sur des cultures de trypanosomes *in vitro*, détermination de la concentration effective du trypanocide dans le sang par ELISA...

Une fois le phénomène de résistance confirmé, il faut prendre en compte les résistances-croisées associées à la molécule pour utiliser un traitement approprié, pour lequel il n'existe pas de résistance-croisée avec la molécule mise en cause, afin d'éliminer les souches résistantes (72). Il faut toujours mettre en place des mesures de lutte en même temps que la mise en place d'expérimentations pour attester de la résistance.

### f) **Attitude à adopter face à un phénomène de résistance**

Il existe différentes solutions pour contrer une résistance :

- une augmentation de la dose du trypanocide utilisé (généralement à proscrire),
- utiliser une autre molécule efficace (notion de « sanative pair »),
- développer une nouvelle molécule.

Tout ceci, en améliorant la prévention et la détection de la maladie.

#### **(1) Augmenter la dose utilisée : une attitude généralement à proscrire**

L'utilisation de la même molécule à une dose plus importante, lors d'apparition de résistance au traitement, ou un traitement de plus longue durée sont à proscrire, car cela va augmenter la pression de sélection, ceci entraînant généralement une aggravation du phénomène de résistance face à la molécule. Il en est de même lorsque l'on utilise une molécule pour laquelle une résistance secondaire est susceptible de se développer, ceci pouvant même entraîner l'apparition de résistance à une troisième molécule. C'est pourquoi il est toujours conseillé de changer de classe thérapeutique, sans compter la toxicité de ces molécules trypanocides à plus fortes doses (72).

En revanche, cette technique pourrait être utilisée pour l'isométymidium : les résistances seraient apparemment abolies par une augmentation de la dose du trypanocide (72). Cependant, on retiendra que cette attitude est généralement à proscrire et déconseillée.

## (2) *Changement de molécule trypanocide*

On parle de résistance individuelle, quand une souche résistante est présente chez un seul individu. Le changement de classe thérapeutique de trypanocide est à privilégier pour faire face à ce phénomène.

Lorsque cette résistance s'est disséminée chez plusieurs individus de la même zone géographique, on parle de résistance de zone (« area resistance »). Il faudra alors utiliser dans cette zone géographique un trypanocide contre lequel la souche reste sensible pendant au moins un an. Il a été montré que la résistance à un trypanocide pouvait perdurer jusqu'à 4 ans sur le terrain (72).

### (a) **Résistances croisées**

La résistance croisée est un phénomène de résistance commun à plusieurs molécules. Ces molécules sont généralement de même classe thérapeutique et on parle de résistance primaire pour la première molécule contre laquelle une résistance s'est développée, et de résistance secondaire pour la seconde.

Le Tableau X résume les résistances croisées existant entre les différents trypanocides utilisables contre *T. evansi* chez le dromadaire.

Tableau X : Résistances croisées entre différents trypanocides d'après Uilenberg (72), légende : Q = quinapyramine, I = chlorure d'isométymidium, D = acéturate de diminazène, M = mélarsomine, + = résistance, - = pas de résistance, ± = possible résistance croisée. NB : la quinapyramine est toxique à doses élevées ce pourquoi elle ne figure pas dans la colonne de droite

Résistance primaire	Résistance croisée						
	A dose curative				A des doses plus élevées		
	Q	I	D	M	I	D	M
Q		+	±	-	-	-	?
I	+		+	-	-	-	?
D	±	+		+	-	+	?
M	-	-	+		?	?	?

D'après ce tableau, la quinapyramine engendre des résistances croisées avec les autres trypanocides.

Des résistances à la mélarsomine pourraient conduire à l'apparition de résistances croisées à d'autres composés arsenicaux voire à l'acéturate de diminazène (72).

### **(b) Notion de « sanative drugs »**

En revanche, d'après le Tableau X, l'isoméamidium élimine les souches résistantes aux autres molécules lorsqu'il est utilisé en seconde intention et élimine les souches résistantes à l'isoméamidium lorsqu'il est utilisé à plus fortes doses.

Whiteside, en 1960, introduit le concept de « sanative pair of drugs », correspondant à une paire de molécule dont une molécule élimine un agent pathogène ayant développé une résistance à l'autre molécule (72,87). Cette molécule va donc permettre de contrer la résistance développée contre la première molécule, et l'utilisation en alternance de ces molécules peut constituer une méthode intéressante pour parer au phénomène de résistance. On peut donc parler de « sanative drug » universelle pour l'isoméamidium.

Il est possible d'utiliser par exemple, les paires diminazène et homidium, ou isoméamidium et diminazène (87).

Il est possible de faire des traitements alternatifs isoméamidium/diminazène lorsqu'une résistance commence à apparaître en faisant par exemple le protocole suivant : isoméamidium tous les 3 mois, diminazène tous les 6 mois en laissant 2 mois entre le diminazène et l'isoméamidium précédent et 1 mois entre le diminazène et l'isoméamidium suivant, afin d'éviter l'induction d'un effet toxique (72).

L'acéturate de diminazène est aussi une bonne molécule de recours donnant de bons résultats, bien qu'elle puisse présenter des résistances croisées avec d'autres trypanocides.

Pour des cas de résistance à la mélarsomine, il semblerait intéressant d'utiliser la quinapyramine ou l'isoméamidium, bien qu'elles soient habituellement recommandées en préventif, aucune résistance croisée n'étant rapportée avec ces molécules à l'heure actuelle.

### ***(3) Amélioration des mesures de surveillance et de détection***

Il faut mettre en place une surveillance accrue du cheptel, en mettant en place des examens complémentaires systématiques sur les animaux présentant des signes cliniques, ou sinon effectuer une surveillance aléatoire sur 10% du cheptel par le biais de prises de sang. On limitera aussi les traitements curatifs aux cas individuels et on évitera les traitements de masse (72).



## II. Le projet : élaboration d'un protocole basé sur une étude de terrain afin d'évaluer la résistance à la mélarsomine

### A. *Objectifs du projet*

Un premier rapport de terrain, établi en 2015 par le docteur Jean-Jacques Pravieux, vétérinaire travaillant pour Merial (Marketing and Technical Manager - VPH and Ruminant - Middle East), suite à un séjour aux Emirats Arabes Unis, a permis de mettre en lumière différents problèmes :

- des difficultés de traitement des animaux parasités, notamment avec la mélarsomine selon plusieurs centres vétérinaires (vétérinaires du Sheikh Sultan Bin Zayed Al Nayhan à Al Ain, Advanced Scientific Group à Abu Dhabi) avec une persistance de la parasitémie après traitement,
- une utilisation du Cymelarsan<sup>®</sup> lors de courses de dromadaires pour augmenter les performances des animaux,
- l'apparition de souches de *T. evansi* particulièrement virulente d'après le CVRL de Dubaï : les souches sont testées par inoculation dans des rongeurs de laboratoires, et les animaux meurent généralement en 6 semaines, contre une semaine en moyenne pour une souche isolée à Oman.

Face à ces constatations, il est apparu important d'investiguer la situation épidémiologique de la maladie aux Emirats, de préciser les pratiques d'utilisation des trypanocides et la gestion de la trypanosomose, afin de voir si celles-ci pourraient contribuer à l'apparition de résistance à la mélarsomine, étant donné que cette molécule est une des seules à pouvoir être utilisée dans le traitement de la trypanosomose à *T. evansi* chez le dromadaire, et est la seule molécule possiblement utilisable chez la femelle gestante. Suite à cette enquête épidémiologique, nous souhaitons confirmer le phénomène de résistance soupçonné par un test expérimental et proposer une posologie adaptée ou une molécule alternative dans le cas d'une résistance.

## ***B. Enquête épidémiologique : réalisation d'un questionnaire***

### **1. Objectifs**

Ce questionnaire a été construit afin de confirmer ou non les tendances décrites précédemment, et d'avoir une vue plus globale de l'ensemble de la situation aux Emirats Arabes Unis.

L'objectif de ce questionnaire était de réaliser une enquête descriptive transversale de terrain afin d'attester de l'épidémiologie de la maladie, son diagnostic, des pratiques de traitement et de prévention contre le parasite, chez le dromadaire, aux Emirats Arabes Unis. Il a été rédigé à l'attention de vétérinaires praticiens, réalisant des soins sur des dromadaires, faisant face aux problèmes causés par le Surra au quotidien.

### **2. Matériel et méthodes**

Le questionnaire a été divisé en quatre parties : épidémiologie de la maladie, diagnostic de l'infection, traitements utilisés, méthodes de prévention.

La partie sur l'épidémiologie comprend des questions sur la prévalence de la maladie, sa saisonnalité, l'influence du statut hormonal, physiologique, de la provenance et de l'âge de l'animal, les éventuelles affections associées à la trypanosomose ainsi que l'influence du rythme nyctéméral sur l'activité du parasite.

La partie sur le diagnostic d'une trypanosomose chez le dromadaire comprend des questions sur les signes cliniques de la maladie et leur évolution au fil des années (intensité, gravité), les examens complémentaires réalisés et les critères de confirmation du diagnostic.

La partie sur le traitement de la maladie a été construite afin d'évaluer les protocoles de première intention mis en place par les vétérinaires, la vérification du statut parasitaire après traitement, les cas d'infections récurrentes ou réinfections ainsi que leur traitement s'il diffère du traitement de première intention, les signes cliniques pouvant présager d'un échec thérapeutique, l'utilisation plus spécifique du Cymelarsan<sup>®</sup> ainsi que l'utilisation des trypanocides dans le cadre des courses de dromadaires.

La partie sur la prévention de la maladie permet de mettre en évidence les traitements préventifs éventuellement mis en place, ainsi que l'utilisation de mesures préventives autres que médicamenteuses (quarantaine, désinfection, contrôle des entrées et sorties, contrôle des vecteurs par des moyens physiques ou chimiques).

Le questionnaire a été rédigé en anglais afin de pouvoir communiquer directement avec les vétérinaires. Le détail des questions est précisé en annexe ([Annexe 2](#)).

Pour la sélection des personnes répondant au questionnaire, il s'agit d'un échantillonnage en grappes : des vétérinaires d'Arabie Saoudite et des Emirats (région de Dubaï, Abu Dhabi et Al Aïn) ([Fig. 46](#)) ont été contactés.

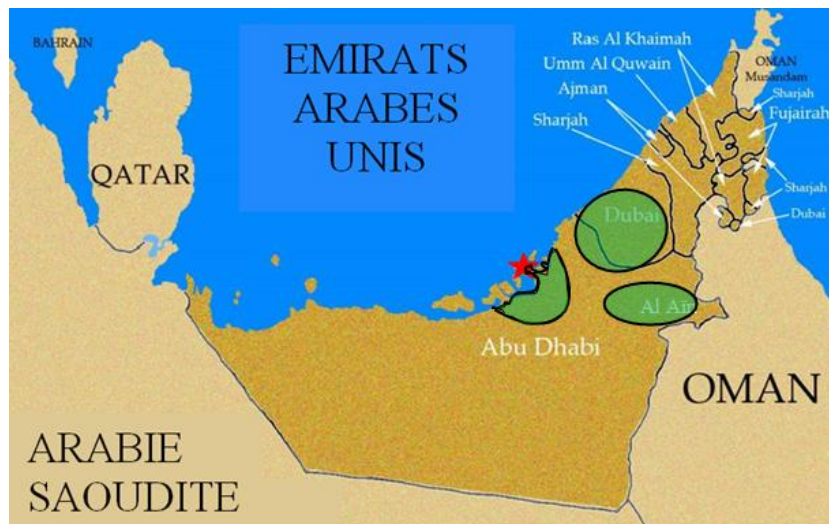


Figure 46 : régions étudiées au travers du questionnaire, carte modifiée à partir de celle du Ministère de l'Environnement et du Changement Climatique des Emirats (59)

Le recueil des données a été réalisé par auto-administration et recueil direct : le questionnaire a été envoyé par mail à un représentant du laboratoire en Arabie Saoudite (Dr Alnahrawy) qui a ensuite distribué les questionnaires aux vétérinaires avec qui il était en contact, entre septembre 2017 et mai 2018. Pour les vétérinaires des Emirats Arabes Unis, les questionnaires ont directement été remplis avec eux par nos soins entre le 13 et le 24 avril 2018 : des vétérinaires praticiens tenant des pharmacies vétérinaires (Fig. 47), et des vétérinaires de grandes fermes privées (laitière, de course) et des vétérinaires travaillant pour un centre de recherche spécialisé dans la reproduction de dromadaires (Advanced Scientific Group ou ASG) ont été rencontrés.



Figure 47 : Exemple de pharmacie visitée pour le remplissage du questionnaire (cliché J. Merlin)

Les données ont été traitées avec les logiciels Excel et le logiciel de statistique SAS 9.3.

### 3. Résultats

Cette étude descriptive a été réalisée à partir de 26 questionnaires (18 d'Arabie Saoudite, 8 des Emirats dont 4 dans la région d'Abu Dhabi, 2 dans la région de Dubaï et 2 dans la région d'Al Aïn). Les résultats présentés sont donc uniquement descriptifs et nous permettent de dégager certaines tendances, sans confirmer statistiquement que ces tendances sont significatives.

Pour les comparaisons par zones, il a été choisi de regrouper les réponses des Emirats, en très faible nombre par région, afin de faire une comparaison par pays plus significative.

Dans les différentes figures présentées ci-après, le terme NR correspond aux non réponses.

## a) Epidémiologie de la maladie

### (1) Prévalence de la maladie

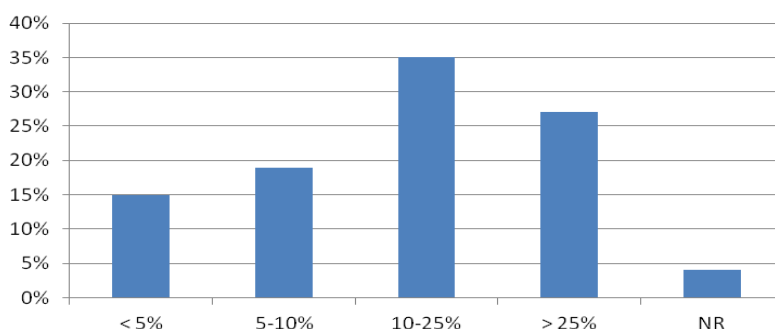


Figure 48 : Taux de prévalence estimé par les vétérinaires interrogés (n=26)

La prévalence semble plus proche des 10 à 25%, voire est supérieure à 25% parfois (Fig. 48). La seule prévalence réelle calculée à partir de mise en évidence du parasite par la technique de la goutte épaisse sur échantillon sanguin est celle de l'ASG d'Abu Dhabi (4%).

Si l'on compare les résultats par zone (Fig. 49) :

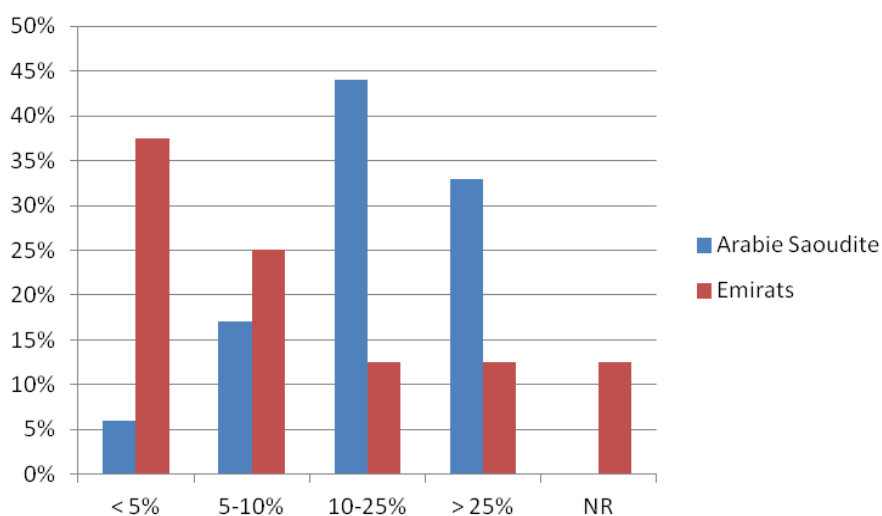


Figure 49 : Taux de prévalence estimé par zone (Arabie Saoudite : n=18, Emirats : n=8)

En Arabie Saoudite, la prévalence estimée semble plus proche des 10 à 25%, voire est supérieure à 25% parfois, tandis qu'aux Emirats, la prévalence semble plus faible (moins de 5%). La prévalence semble assez proche à Abu Dhabi et Dubai (5-10% ou <5%), mais semble plus élevée à Al Ain.

### (2) Taux de mortalité

Les réponses n'ont pas pu être obtenues pour l'Arabie Saoudite, la question ayant été rajoutée secondairement. Les réponses varient de 0 à 10%, mais le taux de mortalité semble en général assez faible aux Emirats.



### (3) Evolution de la prévalence

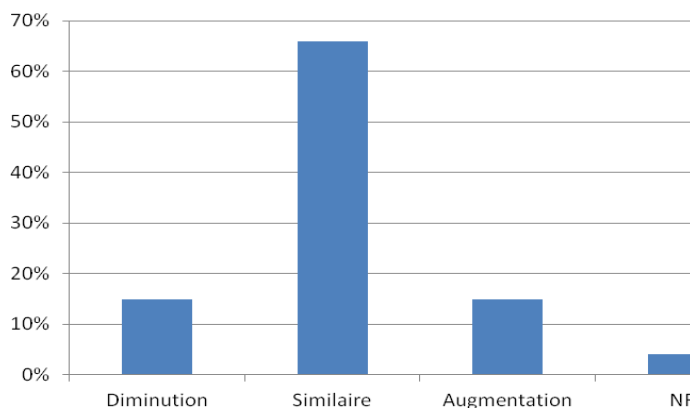


Figure 50 : Evolution de la prévalence actuellement (n=26)

Globalement, la prévalence semble être assez similaire d'une année sur l'autre (Fig. 50). La question a été posée afin d'avoir une tendance d'évolution, étant donné qu'il était difficile d'obtenir des réponses précises sur une évolution de la prévalence annuelle sur plusieurs années (1 à 5 ans).

Si l'on compare les résultats par zone (Fig. 51) :

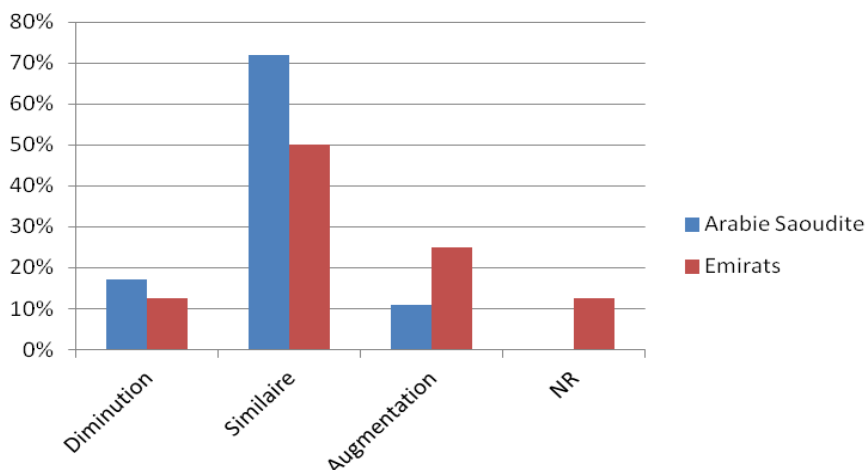


Figure 51 : Evolution de la prévalence actuellement selon les zones (Arabie Saoudite : n=18, Emirats : n=8)

Il semble y avoir une tendance à l'augmentation aux Emirats par rapport à l'Arabie saoudite (25% vs 11%).

### (4) Influence de la saison sur la prévalence

La majorité des vétérinaires (88%) estiment qu'il y a une influence de la saison sur la prévalence. Seulement 8% pensent qu'il n'y a aucune influence (4% de non réponse à cette question).

Parmi les réponses positives (Fig. 52) :

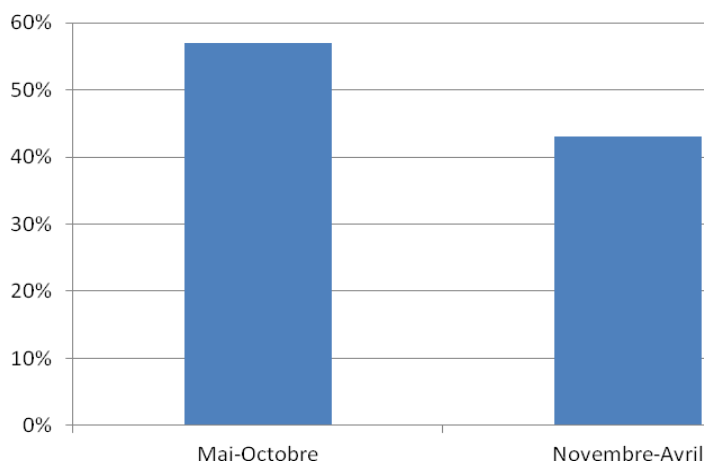


Figure 52 : Influence de la saison sur la prévalence (n=23)

Il y aurait globalement plus de cas à la saison sèche. Il y a une réponse qui correspond au début de la saison des pluies (septembre-décembre).

Si l'on compare les réponses par zone (Fig. 53) :

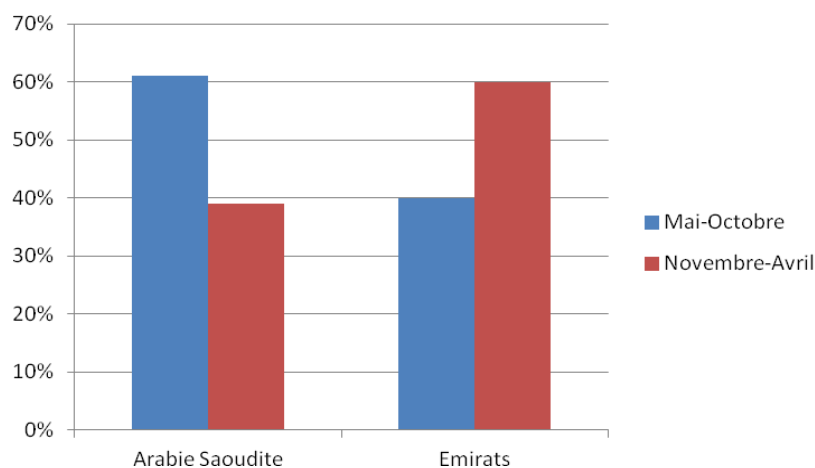


Figure 53 : Influence de la saison sur la prévalence en fonction des zones étudiées (Arabie Saoudite : n=18, Emirats : n=5)

Il semble y avoir une différence de saisonnalité entre les deux pays : la prévalence semble augmenter en saison sèche en Arabie Saoudite, en plutôt en saison des pluies aux Emirats.

### (5) *Influence du sexe sur la prévalence*

58% des vétérinaires estiment qu'il y a une influence du sexe sur la prévalence et 34% estiment que non (8% de non réponse à cette question).

Pour les réponses positives (Fig. 54) :

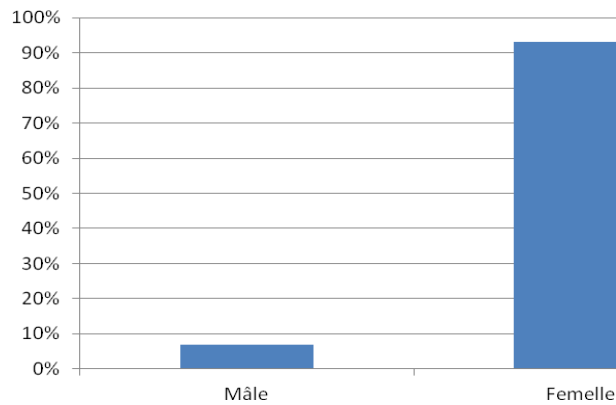


Figure 54 : Influence du sexe sur la prévalence (n=16)

Il semblerait que les femelles soient plus atteintes que les mâles.

#### (6) Tranches d'âges touchées par la maladie

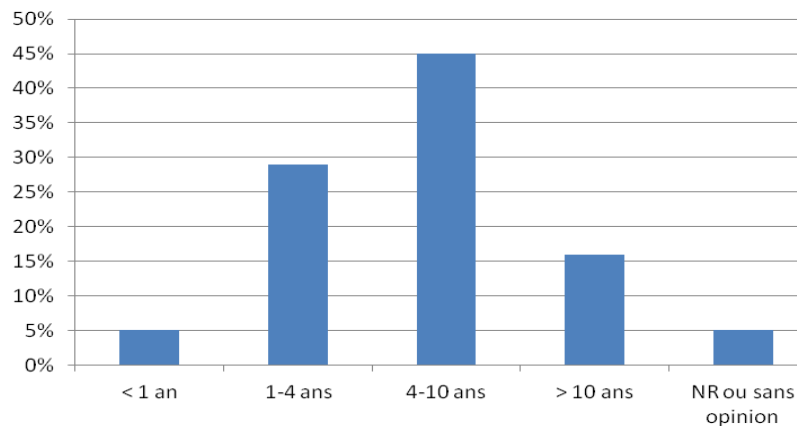


Figure 55 : Tranches d'âges touchées par la trypanosomose (n=38, réponses multiples)

Il semblerait que la majorité des individus touchés aient entre 4 et 10 ans, puis entre 1 et 4 ans. Toutes les catégories semblent tout de même touchées (cas vus à partir de 2 mois d'après un vétérinaire interrogé) (Fig. 55). Une des vétérinaires interrogé aurait déjà vu des trypanosomes sur des animaux de 3 jours, montrant l'existence possible d'infection précoce voire de transmission verticale.

Si l'on compare les résultats par zone (Fig. 56) :

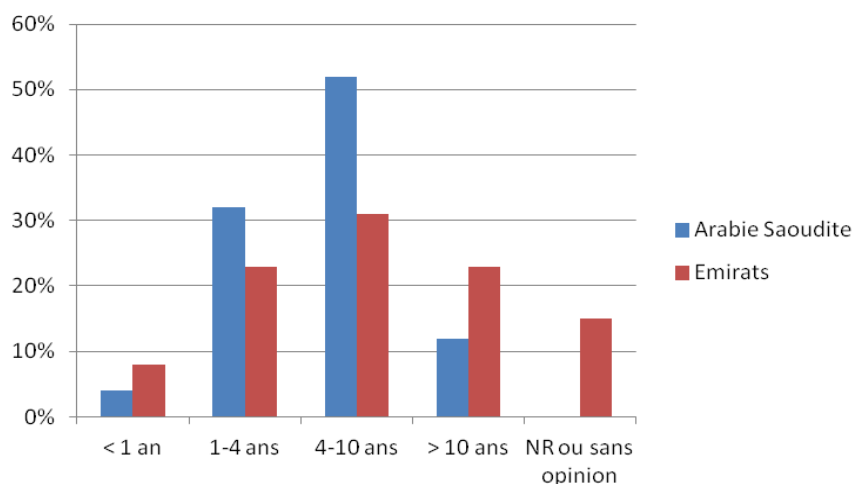


Figure 56 : Tranches d'âges touchées par la trypanosomose selon les zones étudiées (Arabie Saoudite : n=25, Emirats : n=13, réponses multiples)

Il ne semble pas y avoir de différence entre les zones étudiées.

### (7) Influence du statut physiologique

58% des vétérinaires interrogés pensent qu'il existe une influence du statut physiologique sur la survenue de la maladie chez l'individu, tandis que 38% pensent que non (4% de non réponse).

Pour les réponses positives (Fig. 57) :

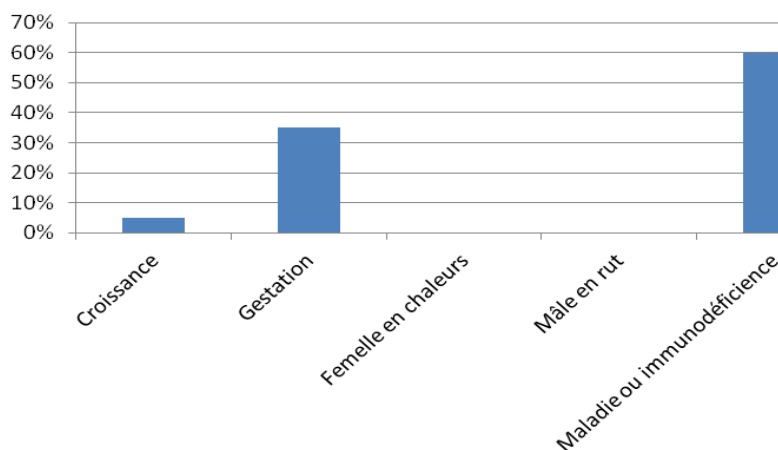


Figure 57 : Influence du statut physiologique sur la survenue de la maladie (n=20, réponses multiples)

La maladie ou immunodéficience puis la gestation semblent être des statuts physiologiques liés à l'apparition de la maladie. Les chaleurs chez les femelles ou le rut chez le mâle ne semblent pas avoir d'influence.

### (8) *Autres affections associées*

54% des vétérinaires interrogés pensent qu'il est fréquent d'observer d'autres affections associées à la trypanosomose, tandis que 35% pensent que non (11% de non réponse).

Concernant les réponses positives (Fig. 58) :

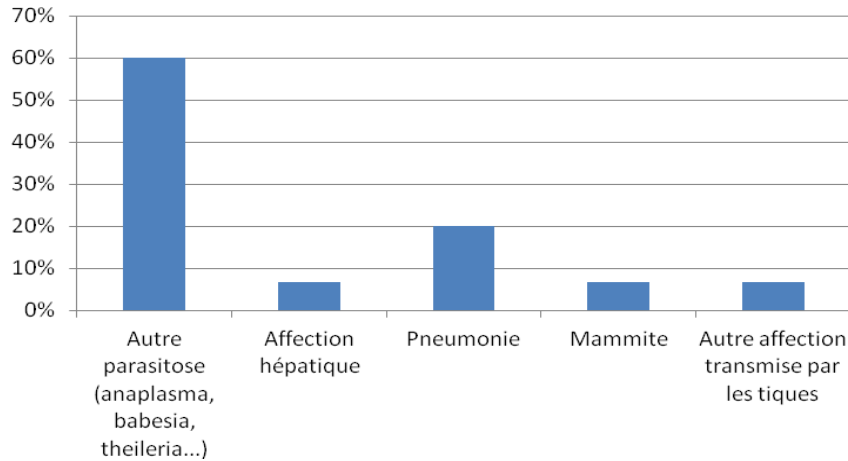


Figure 58 : Autres affections potentiellement associées à la trypanosomose (n=15, réponses multiples)

On trouve une prédominance d'autres parasitoses associées à la trypanosomose, voire des pneumonies.

Si l'on compare les résultats par zone (Fig. 59) :

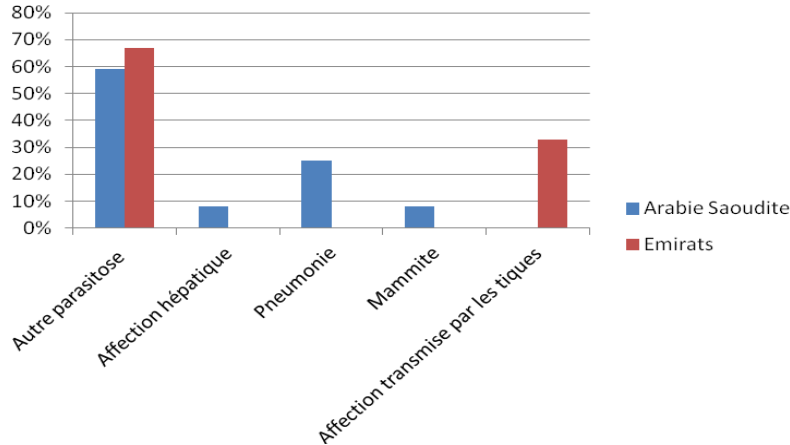


Figure 59 : Autres affections potentiellement associées à la trypanosomose selon les zones étudiées (Arabie Saoudite : n=12, Emirats : n=3, réponses multiples)

On retrouve une prédominance d'autres affections parasitaires pour les deux zones.

### **(9) Influence de l'origine de l'animal**

12% des vétérinaires interrogés pensent qu'il y aurait une influence de l'origine de l'animal (lignée, race ou type d'élevage), tandis que 69% pensent que non (19% de non réponse). Il ne semble donc pas y avoir de réelle influence de l'origine de l'animal sur la prévalence de la maladie.

Parmi les réponses positives, 2 provenances sont mentionnées (dromadaire de Somalie ou du Soudan), mais le faible nombre de réponses ne permet pas de tirer de conclusion sur ces résultats.

### **(10) Influence du rythme nycthéral sur le nombre de parasites dans le sang**

1 seul vétérinaire (4%) interrogé pense qu'il existe une influence du rythme nycthéral sur le nombre de parasites dans le sang, contre 12% qui pensent que non, mais surtout 65% qui sont sans opinion, associé à 19% de non réponse, ceci ne permettant pas de conclure sur la question.

### **(11) Variation du nombre de parasites dans le sang en fonction du sexe**

27% des vétérinaires interrogés pensent qu'il n'existe pas de variation du nombre de parasites dans le sang en fonction du sexe, contre 12% qui pensent que ce nombre serait plus élevé chez les femelles, mais surtout 42% qui sont sans opinion, associé à 19% de non réponse, ceci ne permettant pas de conclure sur la question.

### **(12) Fréquence et types de signes cliniques**

25 vétérinaires sur les 26 ont classé les signes cliniques rencontrés lors de surra par ordre de fréquence (ordre décroissant).

Globalement, l'hyperthermie semble le signe le plus fréquent, puis viennent l'œdème et l'anorexie, l'intolérance à l'effort, l'épiphora, les problèmes de reproduction, le décubitus, la boiterie et les signes nerveux. Les cas d'opacité cornéenne semblent rares (2 réponses sur 25 soit 8%). Les cas asymptomatiques semblent peu notés par les vétérinaires.

Concernant plus spécifiquement l'opacité cornéenne lors de surra (question posée aux Emirats seulement), 62,5% des vétérinaires rencontrés n'en ont jamais vu et 12,5% seulement déclarent en avoir déjà rencontré (25% de non réponse à cette question). Ceci semble donc confirmer la rareté des cas d'opacité cornéenne décrits dans la littérature lors de surra, aux Emirats.

En ce qui concerne l'existence possible de photophobie lors de surra (question posée aux Emirats seulement), 62,5% des vétérinaires interrogés n'en ont jamais vu et 12,5% seulement déclarent en avoir déjà rencontré avec une éviction du contact visuel avec le soleil et une tête plutôt gardée à l'ombre qui pourrait évoquer de la photophobie (25% de non réponse à cette question). Il ne semble donc y avoir quasiment pas de cas de photophobie chez le dromadaire lors de surra, aux Emirats.

### (13) *Fréquence des examens complémentaires*

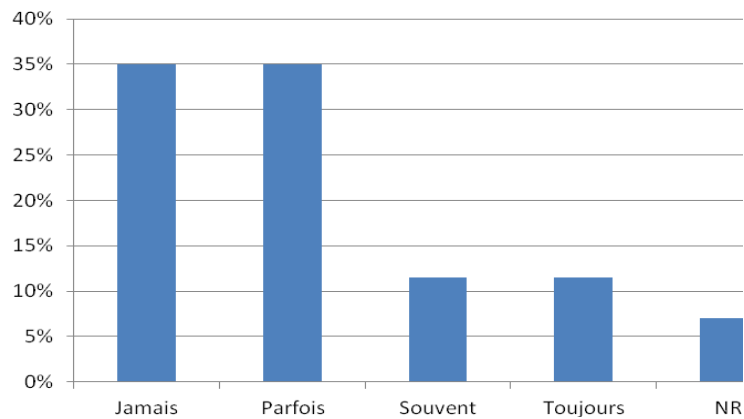


Figure 60 : Fréquence de réalisation d'examens complémentaires (n=26)

La plupart des vétérinaires font très peu d'examens complémentaires ou peu souvent (Fig. 60).

### (14) *Type d'examens complémentaires réalisés*

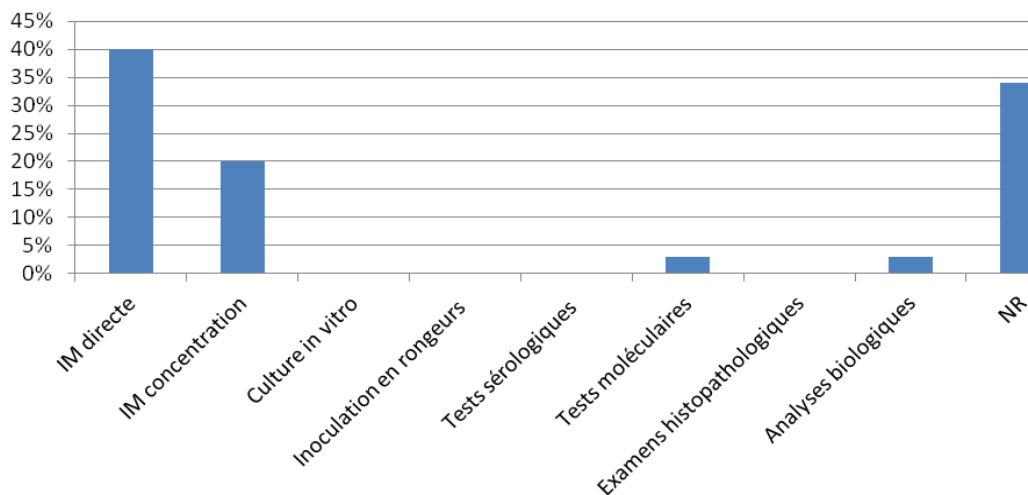


Figure 61 : Types d'examens complémentaires réalisés (n=30, réponses multiples), légende : IM directe = identification microscopique directe, IM concentration = identification microscopique après concentration, Analyses biologiques = analyses hématologiques, biochimiques et test au chlorure de mercure

La majorité effectue des examens microscopiques directs, puis par concentration. Les tests moléculaires sont beaucoup plus rares. La plupart fait un seul type d'examen complémentaire. On notera qu'il existe un grand nombre de non réponse à cette question (34%) (Fig. 61).

Concernant les prélèvements, un vétérinaire nous déclare que 90% des prélèvements faits à la jugulaire ne donnent pas de résultats positifs pour le trypanosome, on obtiendrait de bien meilleurs résultats en prélevant à l'oreille.

## b) Détection d'une infection

### (1) Critères de confirmation d'infection

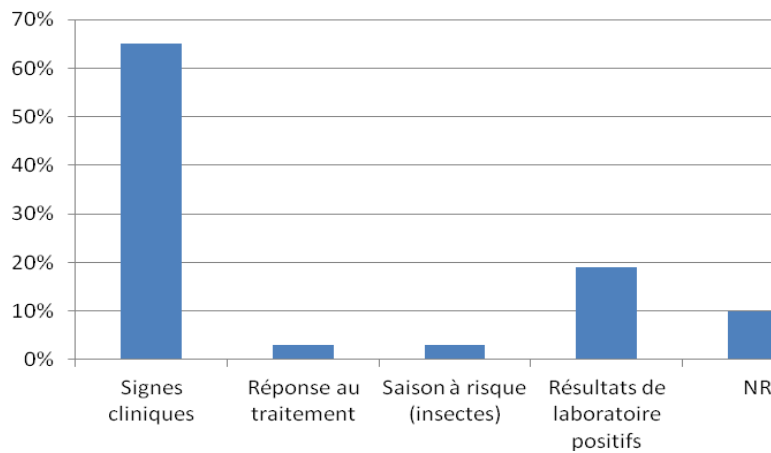


Figure 62 : Critères de confirmation d'infection par *Trypanosoma evansi* (n=31, réponses multiples)

La majorité des vétérinaires interrogés (65%) se basent sur les signes cliniques seuls, puis associés aux résultats des examens de laboratoires (19%) (Fig. 62).

Parmi les signes cliniques leur permettant de confirmer une infection à *T. evansi*, encore une fois, l'épiphora et l'œdème semblent être des signes assez évocateurs de trypanosomose chez les vétérinaires du Moyen-Orient, associé à une altération de l'état général et une hyperthermie.

### (2) Changements dans l'épidémiologie de la maladie ces dernières années

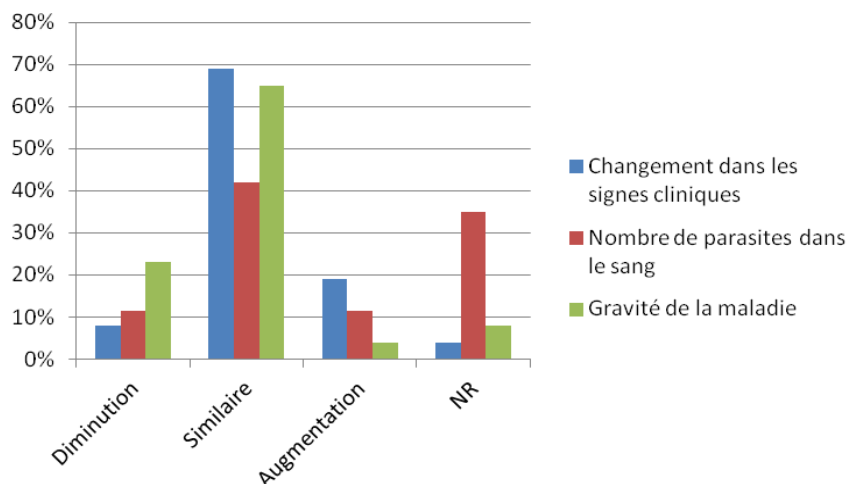


Figure 63 : Changements récents dans l'épidémiologie de la maladie (n=26)

En ce qui concerne les signes cliniques, il semble globalement y avoir peu de changements dans l'apparition de signes cliniques lors de surra ces dernières années (69% des réponses) (Fig. 63).

Pour le nombre de parasites retrouvés dans le sang lors d'examens complémentaires, 35% des vétérinaires n'ont pas pu répondre à cette question, celle-ci est donc difficilement



interprétable, mais il semblerait que 42% des vétérinaires interrogés n'ait pas constaté de réel changement (Fig. 62).

Concernant la gravité de la maladie (notamment l'apparition de formes nerveuses, le taux de mortalité), on ne note pas de changement (voire une diminution d'après 23% des réponses) d'après 65% des vétérinaires interrogés (Fig. 62).

On retrouve les même tendances entre les zones.

### (3) *Intervalle de temps entre le prélèvement et l'analyse de l'échantillon*

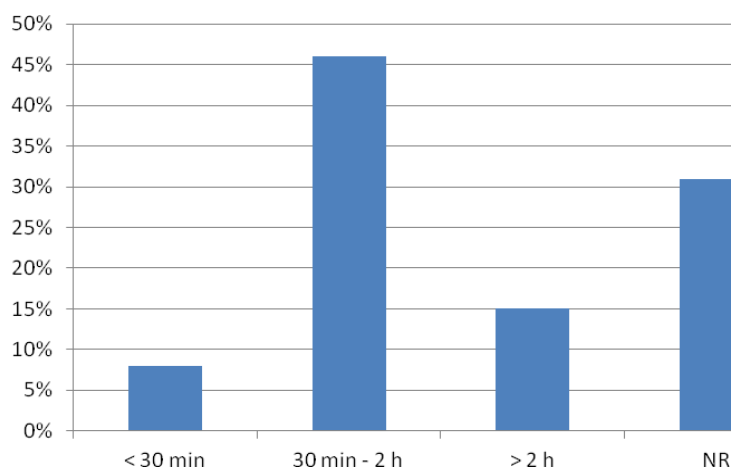


Figure 64 : Intervalle de temps entre le prélèvements et l'analyse de l'échantillon (n=26)

Malgré les 31% de non réponse, pouvant correspondre aux personnes ne réalisant pas d'examens complémentaires notamment, les prélèvements semblent analysés la plupart du temps assez rapidement dans les 30 minutes à 2 heures.

Cependant, 15% des vétérinaires ne peuvent faire ces analyses rapidement, les distances à parcourir entre les élevages et le laboratoire pouvant être assez grandes parfois, mais les prélèvements sont souvent analysés dans la même journée (Fig. 64).

Si l'on compare les résultats par zone, on observe les mêmes tendances.

### (4) *Examens nécropsiques*

Les autopsies sont rarement réalisées par les vétérinaires aux Emirats en cas de suspicion ou d'infection à *T. evansi* : seuls 8% des vétérinaires interrogés en réalisent systématiquement, et 4% en réalisent souvent (plus de 5 cas sur 10), contre 19% qui en réalisent parfois (moins de 5 cas sur 10) et 61% qui n'en réalisent jamais (8% de non réponse à cette question).

Concernant les lésions macroscopiques visibles en cas de surra, les vétérinaires interrogés rapportent la présence d'œdème sous-cutané, une pâleur des tissus associée à des anomalies au niveau du cœur et du foie.

En revanche, aucune lésion microscopique typique n'a été décrite par les vétérinaires interrogés.

Les vétérinaires interrogés réalisent en général des prélèvements sanguin, de foie, rate ou encéphale, en cas de suspicion d'infection à *T. evansi*.

### c) Traitement de la trypanosomose

#### (1) Protocole de première intention face à une infection

##### (a) Molécules et produits commerciaux utilisés

Les vétérinaires utilisent autant la quinapyramine (49%) que la mélarsomine (51%) dans le traitement de la trypanosomose à *T. evansi*.

Le détail des produits utilisés est résumé par la Figure 65.

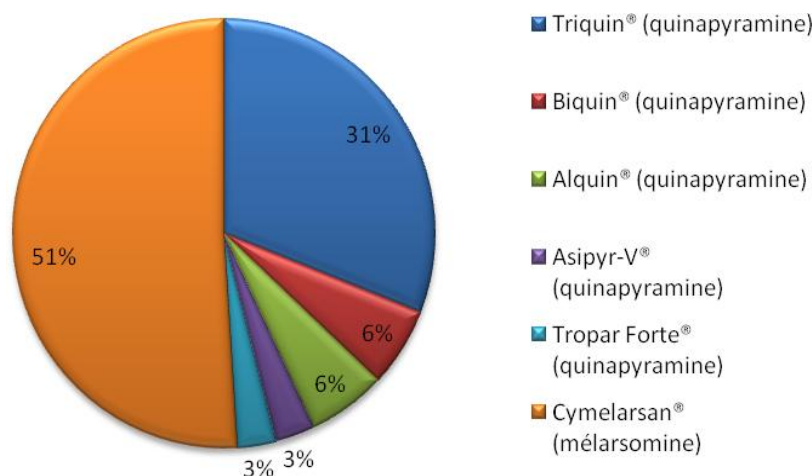


Figure 65 : Détail des produits commerciaux utilisés pour le traitement d'une infection à *T. evansi* chez le dromadaire (n=35, réponses multiples)

Le Cymelarsan® est majoritairement utilisé (51%), suivi du Triquin® (31%) puis des autres molécules à base de quinapyramine (18% en tout), aux Emirats et en Arabie Saoudite.

Si on regarde les réponses par zone plus en détail, on retrouve les mêmes tendances, mais l'écart tend à se creuser entre l'utilisation de Cymelarsan® (46%) et de Triquin® (38%) pour l'Arabie Saoudite, tandis que le Cymelarsan® reste plus largement utilisé (67%), et les molécules à base de quinapyramine sont utilisées de manière plus équivalente (11% chacune) aux Emirats.

## (b) Détail des protocoles de première intention

Le Tableau XI résume les différents protocoles de première intention utilisés par les vétérinaires interrogés.

Tableau XI : Résumé des différents protocoles utilisés en première intention dans le traitement de la trypanosomose à *T. evansi* chez le dromadaire, légende : les données notées en rouge ne sont pas en adéquation avec ce qui est noté dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP)<sup>2</sup>

Trypanocide utilisé	Dose	Voie d'injection	Durée du traitement	Fréquence de traitement
<b>Triquin®</b> (quinapyramine)	1 flacon/dromadaire (dose pour 650 kg)	SC	Injection unique (rémanence 1 mois)	Une seule injection
	1 flacon/dromadaire (dose pour 650 kg)	SC	Injection unique	Une seule injection ou 2 injections à un mois d'intervalle (10% des cas)
	1 flacon/dromadaire (dose pour 650 kg)	SC	Injection unique	2 fois à 20 jours d'intervalle
	3,13 mg/kg	SC	Injection unique	2 traitements (intervalle non renseigné)
	1 flacon/dromadaire (dose pour 650 kg)	SC	Injection unique	2 fois à 20 jours d'intervalle
	1 flacon/dromadaire (dose pour 650 kg)	SC	Injection unique	2 fois à 3 jours d'intervalle
	1 flacon/dromadaire (dose pour 650 kg)	IM	Injection unique	2 injections à un mois d'intervalle
	6,25 mg/kg	SC	Injection unique	2 fois à 3 semaines d'intervalle
	1 flacon/dromadaire (dose pour 650 kg)	IM	Injection unique	Une seule injection
	3,13 mg/kg	SC	3 jours	Non répété
<b>Biquin®</b> (quinapyramine)	1 flacon/dromadaire (dose pour 800 kg)	SC	Injection unique (rémanence 1 mois)	Une seule injection
<b>Alquin®</b> (quinapyramine)	1 flacon/dromadaire (dose pour 500 kg)	IM	Injection unique	Une seule injection
	5 mg/kg	IM	Injection unique	2 fois à 15 jours d'intervalle

<sup>2</sup> Recommandations du RCP pour chaque produit :

- Triquin® : sulfate ± chlorure de quinapyramine, 3,75 mg/kg (ou 0,03 ml/kg pour le Triquin 2,5g) en injection SC unique, rémanence de 2-3 mois, AMM dromadaire
- Biquin® : sulfate et chlorure de quinapyramine, 3,13 mg/kg (0,025 ml/kg ou 1 ml/40 kg) en injection SC unique, rémanence de 2 à 3 mois, AMM dromadaire
- Alquin® (Vetnex) : sulfate de quinapyramine ± chlorure de quinapyramine, 4,4 à 5 mg/kg, en injection SC unique, AMM dromadaire
- Asipyr-V® : sulfate et chlorure de quinapyramine, 4,17 mg/kg (ou 0,025 ml/kg) en injection SC unique, rémanence de 2-3 mois, AMM dromadaire
- Tropar Forte® : sulfate et chlorure de quinapyramine, 4,17 mg/kg (ou 0,025 ml/kg) en injection SC unique, rémanence de 2 mois, AMM dromadaire
- Cymelarsan® : mélarsomine, 0,25 mg/kg (ou 0,05 ml/kg) en injection IM unique, rémanence de 24h, AMM dromadaire

Trypanocide utilisé	Dose	Voie d'injection	Durée du traitement	Fréquence de traitement
<b>Asipyr-V® (quinapyramine)</b>	1 flacon (2 500 mg, dose pour 600 kg) pour les gros formats, 4 ml (668 mg, dose pour 160 kg) à 1 an, 2 ml (334 mg, dose pour 80 kg) de plus par année	SC ou IM	Injection unique	Souvent une seule injection, parfois nouvelle injection après 3 mois
<b>Tropar Forte® (quinapyramine)</b>	1 flacon (dose pour 600 kg)/400 kg	SC	Injection unique	Répété tous les 2-3 mois
<b>Cymelarsan® (mélarosmine)</b>	1 flacon/dromadaire adulte (dose pour 400 kg)	IM	Injection unique	2 fois à 3 jours d'intervalle
	0,2 mg/kg	IM	Injection unique	2 fois à un mois d'intervalle
	1 flacon/dromadaire de grande taille (dose pour 400 kg)	IM	Injection unique	Une fois par mois
	1 flacon/dromadaire (dose pour 400 kg)	IM	Injection unique	Une seule injection ou 2 injections à un mois d'intervalle (10% des cas)
	1 flacon/dromadaire (dose pour 400 kg)	IM	Injection unique	2 fois à 2 semaines d'intervalle
	0,25 mg/kg	IM	5 jours	Répété après 21 jours
	1 flacon/dromadaire (dose pour 400 kg)	IM	Injection unique	Une seule injection
	0,25 mg/kg	IM	Injection unique	2 fois à 10 jours d'intervalle
	0,2 mg/kg	IM	Injection unique	2 fois à 15 jours d'intervalle
	1 flacon (100 mg, dose pour 400 kg) pour les gros formats, 10-15 ml (50 à 75 mg, dose pour 200 à 300 kg) pour les petits formats	IM voire IV	Injection unique	Une seule injection ou 2 fois à une semaine d'intervalle, aussi utilisé chez les femelles 4-5 mois après le début de la gestation
	2 flacons (dose pour 800 kg) par animal	IM	Injection unique	Une seule injection
0,3 mg/kg	IM	Injection unique	Une seule injection ou si résultats de quantification de 2 à 3+, répété 2 jours après	
<b>Cymelarsan® puis Biquin® ou Triquin®</b>	1 flacon/dromadaire (dose pour 400 kg, 800 kg ou 650 kg selon le produit)	IM/SC selon le produit	Injections uniques	2 fois à 21 jours d'intervalle (cymelarsan en premier)

+ un traitement avec du Butalex® (buparvaquone, traitement contre la theilériose)

On remarque que les protocoles utilisés sont très diversifiés et ne correspondent pas toujours aux recommandations des RCP, notamment pour la dose utilisée et la fréquence de traitement.

La plupart des vétérinaires ne calcule pas de dose mais donne un flacon par animal.

Au niveau des fréquences de traitements, certains vétérinaires répètent les injections très rapidement, en dessous du seuil de rémanence pour la quinapyramine, ou font plusieurs injections d'un même produit.

Les voies d'injections sont aussi variables selon les vétérinaires, certains privilégiant la voie IM plutôt que SC, voire la voie IV, notamment pour le Cymelarsan<sup>®</sup>, car ils pensent que l'effet sera plus rapide et l'action plus précise comme les parasites sont dans le sang. De plus, les injections IM sont parfois difficiles à réaliser (coups de pieds à 360°, morsure possible sur des animaux agressifs) donc certaines personnes préfèrent utiliser la voie IV d'après deux vétérinaires interrogés.

Avec la quinapyramine (Asipyr-V<sup>®</sup>, ou Tropar Forte<sup>®</sup> notamment), les vétérinaires rapportent que dans certains cas, l'animal est agité 15 minutes après l'injection, et parle de « hot drug », contrairement à la mélarsomine qu'ils qualifient de « cold drug ».

Depuis 2 ans, les éleveurs trouvent que le Cymelarsan<sup>®</sup> serait moins efficace et pensent que c'est un produit contrefait qui leur est vendu. Depuis l'utilisation de la quinapyramine, certains vétérinaires interrogés rapportent avoir obtenu de meilleurs résultats avec la mélarsomine.

### (c) Association d'autres traitements à ce protocole

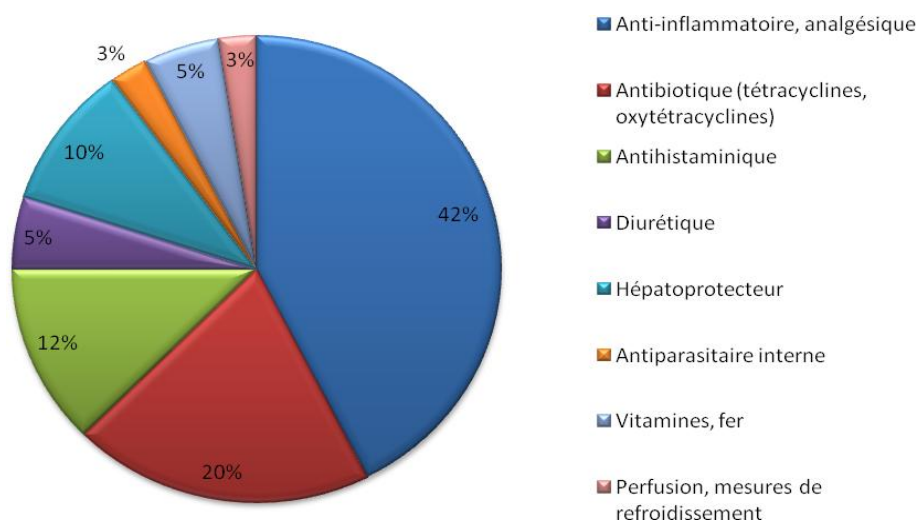


Figure 66 : Autres traitements associés au trypanocide en cas de trypanosomose (n=37, réponses multiples)

Les vétérinaires utilisent souvent un traitement symptomatique (souvent réalisé préalablement) en plus du traitement trypanocide : ils utilisent principalement des anti-inflammatoires (42%) pour lutter contre l'hyperthermie, et des antibiotiques (tétracyclines) (20%) pour contrer les surinfections, voire des anti-histaminiques (12%) pour prévenir tout choc anaphylactique (Fig. 66).

58% des vétérinaires interrogés n'utilisent pas de traitement alternatif aux trypanocides. 42% utilisent en revanche des traitements alternatifs comme des compléments vitaminiques, de la phytothérapie (ail, cresson alénois aux vertus anti-oxydantes et diurétiques, toniques et anti-diarrhéiques) ou encore l'utilisation de marque au fer rouge.

Cette dernière technique est une technique traditionnelle, plutôt peu utilisée aux Emirats car nécessitant un apprentissage spécifique, consistant à appliquer un fer rougi sur certaines parties du corps de l'animal, en relation avec l'affection qu'il porte (application sur les articulations en cas de boiterie, en regard de l'estomac lors de problèmes gastriques ou encore sur le haut du crâne en cas de troubles nerveux).

D'après ces vétérinaires, l'utilisation de traitements alternatifs semblerait globalement améliorer l'efficacité du traitement trypanocide (91% des réponses parmi les vétérinaires utilisant ces traitements).

### (2) *Vérification du statut parasitaire post-traitement*

Seuls 50% des vétérinaires interrogés vérifient le statut parasitaire d'un animal traité (46% ne le font pas et 4% de non réponse à cette question). Une grande partie des vétérinaires se fient simplement à la disparition des symptômes pour présumer d'une disparition du parasite. Les vétérinaires utilisent en général les mêmes méthodes que celles utilisées pour la première détection du parasite.

### (3) *Taux de réinfections ou persistance du parasite*

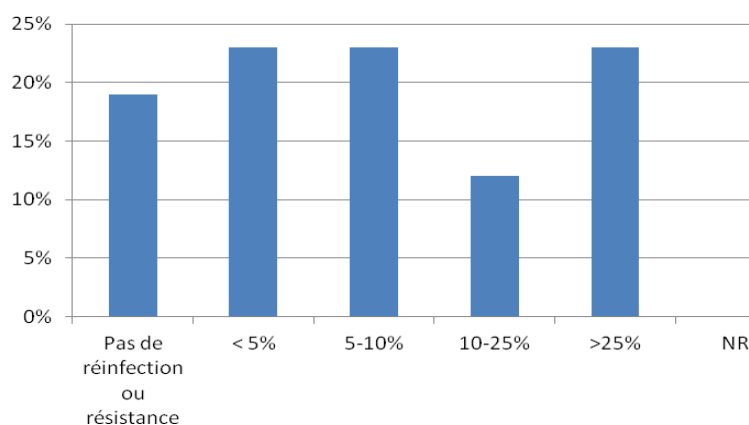


Figure 67 : Taux de réinfections ou résistance au traitement estimé par les vétérinaires interrogés (n=26)

Le taux de réinfections ou cas de résistances est assez variable d'un vétérinaire à l'autre, allant de 0 à plus de 70% (Fig. 67).

Le seul taux de réinfections ou résistances calculé est celui de l'ASG, où il est de 34% sur l'année 2017-2018, avec des animaux nécessitant parfois plusieurs traitements pour éliminer le parasite.

Si l'on compare ce taux par zone (Fig. 68) :

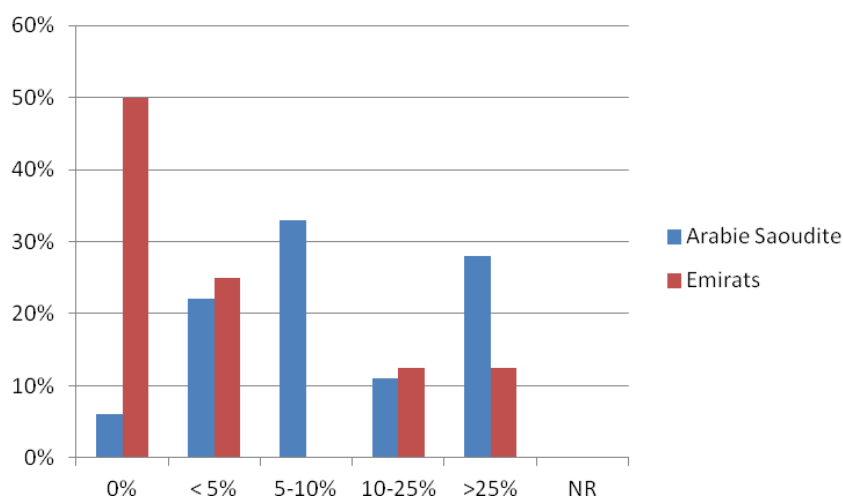


Figure 68 : Taux de réinfections ou résistance au traitement estimé par les vétérinaires interrogés par zone (Arabie Saoudite : n=18, Emirats : n=8)

Les résultats sont assez étalés pour les deux zones, mais on observe une proportion plus élevée de faibles taux de réinfestation aux Emirats, en contradiction avec la seule donnée expérimentale disponible (34%).

#### (4) *Protocole de seconde intention, face à un cas résistant*

58% des vétérinaires utilisent un protocole différent, face à un cas résistant ou de réinfestation, de celui suivi en première intention, contre 34% qui utilisent le même (8% de non réponse).

##### (a) Molécules utilisées

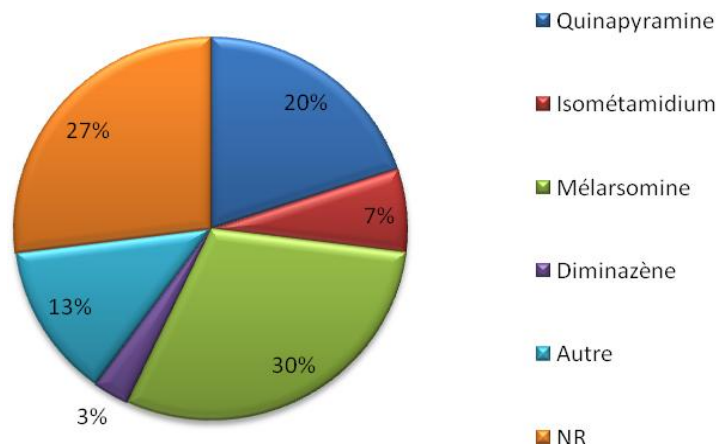


Figure 69 : Trypanocides utilisés en seconde intention face à un cas résistant (n=29, réponses multiples)

La mélarsomine semble être la molécule la plus utilisée en seconde intention (30%), suivie de la quinapyramine (20%), puis d'autres molécules diverses (antiparasitaires contre d'autres parasites, vitamines, hépatoprotecteurs) (13%). Le taux de non réponse est important pour cette question, de 27% (Fig. 69).

Si l'on regarde le détail par zone, la quinapyramine semble plus utilisée en seconde intention aux Emirats, suivie de l'isométymidium puis la mélarsomine.

## (b) Détails des protocoles utilisés

Le Tableau XII résume les différents protocoles de seconde intention utilisés par les vétérinaires interrogés.

Tableau XII : Résumé des protocoles utilisés en seconde intention face à un cas résistant, légende : les données en rouge ne sont pas en adéquation avec ce qui est recommandé dans le RCP des produits<sup>3</sup>

Trypanocide utilisé	Trypanocide de première intention	Dose	Durée/fréquence de traitement
Trypanodad® (diminazène)	Triquin, Biquin (quinapyramine)	1 flacon/dromadaire (dose pour 330 kg)	2 administrations à 1 semaine d'intervalle
Triquin® (quinapyramine)	Cymelarsan (mélarsomine)	1 flacon/dromadaire (dose pour 650 kg)	Une seule injection
	Triquin (quinapyramine)	3,13 mg/kg	2ème injection suite au protocole de première intention (intervalle non renseigné)
Biquin® (quinapyramine)	Cymelarsan (mélarsomine)	1 ml/25 kg ou 0,04 ml/kg	Une seule injection
Asipyr-V® (quinapyramine)	Cymelarsan (mélarsomine)	1 flacon/dromadaire (dose pour 600 kg)	Une seule injection
Trypano-Forte® (Isoméamidium)	Cymelarsan (mélarsomine)	1 flacon/dromadaire (dose pour 125 à 500 kg selon la posologie utilisée)	Une seule injection
Cymelarsan® (mélarsomine)	Cymelarsan (mélarsomine)	1 flacon/ dromadaire de grand format (dose pour 400 kg)	Injection 15 jours après la première (du protocole de première intention)
	Alquin, Triquin, (quinapyramine) Cymelarsan (mélarsomine)	0,25 mg/kg	Une seule injection
	Alquin, Triquin, (quinapyramine) Cymelarsan (mélarsomine)	0,2 mg/kg	Une seule injection
	Cymelarsan (mélarsomine)	1 flacon/ dromadaire (dose pour 400 kg)	Injection 1 semaine après la première (du protocole de première intention)
changement de molécule parmi les différentes utilisées par le vétérinaire : Cymelarsan®, Triquin®, Butalex®		1 flacon/500 kg (0,2 mg/kg pour le Cymelarsan, 5 mg/kg pour le Triquin, 4 mg/kg pour le Butalex)	2 administrations (intervalle non renseigné)
Hépatoprotecteur, vitamines, acides aminés	Triquin (quinapyramine), Cymelarsan (mélarsomine)	NR	NR

+ changement de produit (par exemple imidocarb pour traiter la babésiose) quand le vétérinaire n'est pas sûr du diagnostic.

La plupart des vétérinaires utilisent soit la mélarsomine en première intention puis la quinapyramine sur les cas résistants, soit l'inverse. D'autres utilisent l'isoméamidium suite à la mélarsomine ou encore le diminazène suite à la quinapyramine.

<sup>3</sup> RCP des molécules nouvellement mentionnées :

- Trypanodad® (DaDvet) : acéturate de diminazène, 75 mg/ml et 2,36g/flacon, AMM dromadaire
- Trypano-Forte® (Hanvet) : chlorure d'isoméamidium, 0,25 à 1 mg/kg (0,25 à 0,5 en curatif, 0,5 à 1 en préventif), 125 mg/flacon, AMM dromadaire
- (Butalex® (MSD) : 2,5 mg/kg (50 mg/ml), 2 g/flacon, traitement de *Theileria*)



L'ASG d'Abu Dhabi utilise 2 flacons de Cymelarsan<sup>®</sup> par animal habituellement. Pour les cas résistants, ils utilisent souvent la même posologie, mais administrent parfois 3 flacons par animal (dose pour 1 200 kg). Cependant, ils notent plus d'effets secondaires avec cette posologie, notamment une hypovigilance. Dans certains cas, ils utilisent le Triquin<sup>®</sup> à la place du Cymelarsan<sup>®</sup>, et ceci semble mieux fonctionner sur les cas résistants.

**(c) Nombre total de traitements réalisés sur les cas résistants ou réinfections**

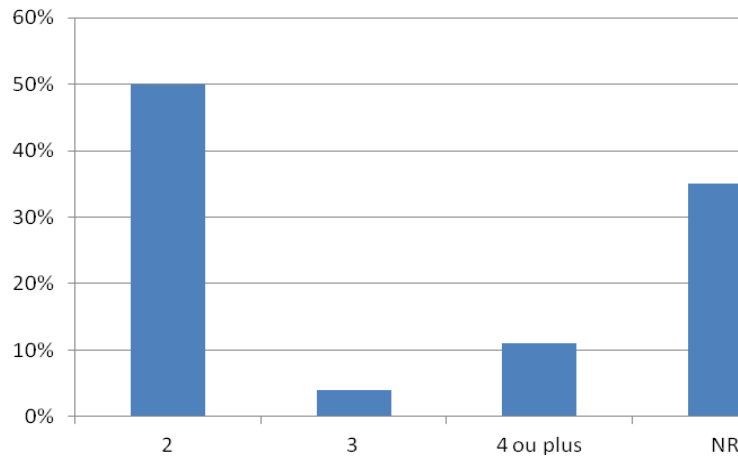


Figure 70 : Nombre de traitements réalisés au total dans le cas de réinfections ou résistances (n=26)

On note que 50% des cas résistants/récidivants sont résolus avec 2 traitements en moyenne, cependant 4% nécessitent 3 traitements et 11% 4 traitements ou plus, ce qui n'est pas négligeable. Le taux de non réponse de 35% n'est pas négligeable pour cette question (Fig. 70).

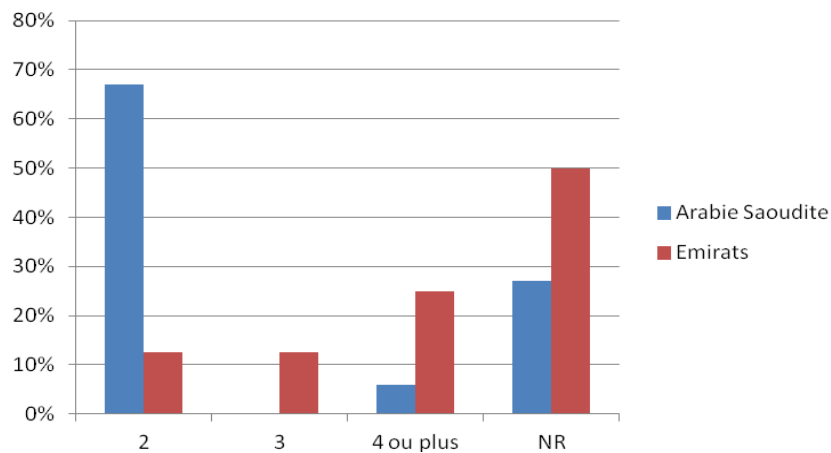


Figure 71: Nombre de traitements réalisés au total dans le cas de réinfections ou résistances, par zone (Arabie Saoudite : n=18, Emirats : n=8)

Le nombre de traitements nécessaires pour résoudre un cas résistant semble plus élevé aux Emirats mais le faible nombre de réponses ne permet pas de conclure (Fig. 71).

De plus, si on regarde ce nombre de traitements en fonction des molécules utilisées en première et seconde intention (Tab. XIII) :

Tableau XIII : moyennes de traitements réalisés au total en fonction des molécules de première et seconde intention utilisées

Molécule de seconde intention	Molécule de première intention		
	Quinapyramine n=16	Mélarosmine n=21	Autre n=2
Quinapyramine n=7	n=1 4 traitements	n=5 2,25 traitements	n=1 2 traitements
Mélarosmine n=12	n=6 2 traitements	n=5 2,8 traitements	n=1 2 traitements
Isometamidium n=2	n=0	n=2 2,5 traitements	n=0
Diminazene n=1	n=1 NR	n=0	n=0
Autre n=7	n=4 2 traitements	n=3 2 traitements	n=0
NR n=10	n=4	n=6	n=0

Au vu du très faible effectif pour chaque catégorie et du biais de collecte existant, l'interprétation de ces résultats est à prendre avec précaution, les différences entre les catégories n'étant pas significatives, nous ne pouvons dégager que des tendances. Il semblerait qu'il y ait plus de récurrences de traitements lorsque la même molécule est utilisée en seconde intention sur des cas résistants ou récidivants.

#### (5) Dose utilisée pour le Cymelarsan®

44% des réponses correspondent à des doses en nombre de flacons par animal, contre 50% en ml/kg et 6% d'autres méthodes.

Pour les vétérinaires comptant la dose en nombres de flacons par animal : ils administrent généralement 1 (67%) ou 2 (33%) flacons par animal.

Pour ceux qui calculent la dose en ml/kg : ils administrent une dose de 1 ml/10kg (6%), de 1 ml/16 kg (16%), 1 ml/20kg (59%) ou 1ml/25kg (29%). Sachant que la dose recommandée est de 1 ml/20kg, on voit encore ici que cette dose n'est pas toujours respectée.

Parmi les autres procédures de calcul de dose : un vétérinaire attribue un nombre de millilitres par animal en fonction de l'âge (6 ml si >1an, puis + 2 ml/an, sans dépasser 20 ml) ou un autre attribue un nombre de millilitre fixe en-dessous d'un certain poids (10 ml pour <200 kg).

La plupart des vétérinaires utilisent de l'eau stérile pour la dilution du produit, mais si certains vétérinaires étaient amenés à faire la dilution avec un autre produit ou une solution non stérile, ceci pourrait entraîner une diminution d'efficacité du produit ou un risque infectieux pour l'animal. Il serait approprié d'avoir directement la solution dans le packaging pour éviter cette erreur d'utilisation.

### (6) *Estimation du poids des animaux*

La grande majorité des vétérinaires (81%) font une estimation visuelle des animaux. Seulement 8% pèsent précisément les animaux et 11% ne font aucune estimation du poids.

D'après plusieurs vétérinaires interrogés, le problème de l'utilisation de balances est que la pesée nécessite du training médical car ce sont des animaux habitués aux grands espaces. Ils ont aussi une grande variabilité de sensibilité individuelle (les dromadaires sont facilement perturbés par les changements, stressés).

### (7) *Délai de traitement de l'animal*

La majorité des vétérinaires (73%) traitent les animaux dès la suspicion de l'infection à trypanosomes, sans attendre une confirmation par des examens complémentaires. 23% attendent une confirmation et cela dépend pour 4% des vétérinaires interrogés.

### (8) *Délai entre suspicion d'infection et traitement*

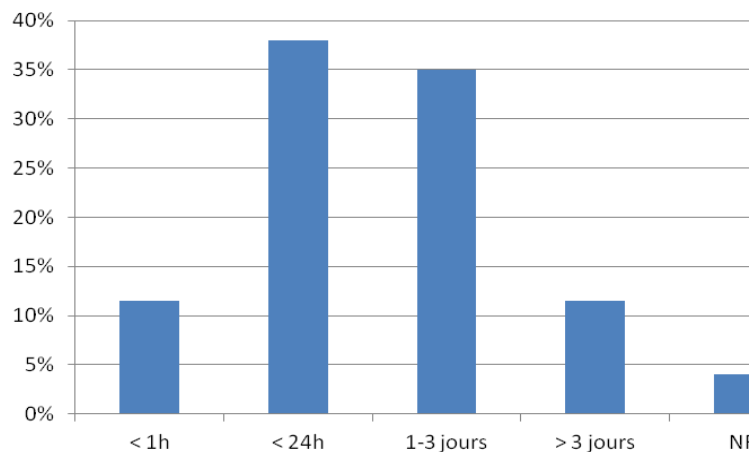


Figure 72 : Délai entre suspicion d'infection et traitement (n=26)

Les résultats sont assez variés, mais les vétérinaires semblent mettre en place le traitement dans la journée ou les jours qui suivent immédiatement la suspicion (Fig. 72).

### (9) Signes cliniques spécifiques en cas de maladie incurable

88,5% des vétérinaires déclarent reconnaître certains signes cliniques qui présage d'une issue sombre pour l'animal.

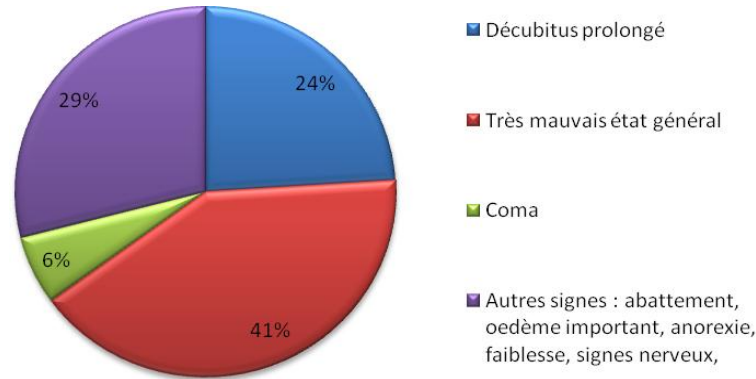


Figure 73 : Signes cliniques retrouvés en cas d'infection létale (n=36, réponses multiples)

On retrouve dans les cas désespérés une prédominance d'un très mauvais état général (41%), associé à un état de faiblesse, un œdème généralisé, allant jusqu'au décubitus (24%), voire des signes nerveux (Fig. 73).

### (10) Utilisation des trypanocides dans le milieu des courses

Il semble exister une utilisation des trypanocides en course (46% des réponses) d'après les vétérinaires interrogés. Cependant 54% des vétérinaires ne reconnaissent pas ces pratiques. Le Tableau XIV résume les protocoles d'utilisation de la mélarsomine en course d'après les vétérinaires interrogés.

Tableau XIV : Exemples de protocoles utilisés en course avec la mélarsomine

Dose	Voie d'administration	Moment du traitement et fréquence
Dose classique	IM	2 semaines avant la course
Dose classique	IM	2 à 3 jours avant la course
5 ml	IV ou IM	3 à 4 jours avant la course
1/4 de dose	IM	Quelques jours avant la course
1 flacon pour les grands formats / 1/2 flacon pour les petits	IM	Tous les 6 mois
Dose classique	IM	3 à 5 jours avant la course ou 2 semaines après, une fois par mois
2 ml en IV et le reste de la dose en IM	IV et IM	3 à 4 fois par an
1 flacon	IV	2 à 3 jours avant la course

La mélarsomine est *a priori* la seule molécule utilisée sur les femelles gestantes (études réalisées dans le dossier d'AMM, contrairement aux autres molécules), pendant la saison de courses (septembre-mars) comme prophylaxie, parfois donnée une fois par mois sans diagnostic d'infection, parfois en IV, « in racing camels, food, water and Cymelarsan<sup>®</sup> are part of daily life » affirme un des vétérinaires interrogé.

Elle serait notamment utilisée comme booster énergétique et « purificateur sanguin » lors des courses, pour que les animaux soient « moins paresseux », et avoir un animal « puissant et vigoureux », d'après les entretiens avec certains vétérinaires.

Sinon, les éleveurs utilisent des médicaments bon marché pendant la saison hors courses, car ils ne se soucient pas vraiment des dromadaires à ce moment-là.

Les molécules à base de quinapyramine sont ainsi utilisées avant insémination pour les dromadaires reproducteurs (associées à une analyse sanguine), et en dehors de la saison de courses (moins cher que le Cymelarsan<sup>®</sup>). Dans le milieu des courses, ces médicaments sont utilisés en pack avec d'autres molécules (anti-inflammatoires, antibiotiques, antiparasitaires, vitamines...) lorsqu'un dromadaire est moins en forme ou en prévention régulièrement.

Aujourd'hui plusieurs vétérinaires rapportent plutôt l'utilisation de transfusions dans le milieu des courses, pour augmenter le taux d'hématocrite, sur tous les dromadaires, parfois des dizaines de fois pendant la saison de courses. La transfusion permettrait une meilleure amélioration des performances que la mélarsomine d'après les utilisateurs, et il existe peu de problème d'incompatibilités entre donneur et receveur, elle peut donc être répétée plusieurs fois. On notera que ce genre de pratiques en course n'est pas autorisé dans d'autres pays.

Un vétérinaire nous rapporte que dans le milieu des courses, certains éleveurs ont constaté que des dromadaires ayant la brucellose gagnaient plus fréquemment les courses, suite à quoi certains éleveurs ont créé des élevages d'animaux infectés ! Tout est une histoire de tendance...

Les vétérinaires semblent partagés sur l'apparition d'effets secondaires avec cette utilisation en course : 27% pensent qu'ils y a des effets secondaires, 35% pensent que non et 38% n'ont pas répondu à la question. La [Figure 74](#) résume les différents effets secondaires rapportés par les vétérinaires interrogés.

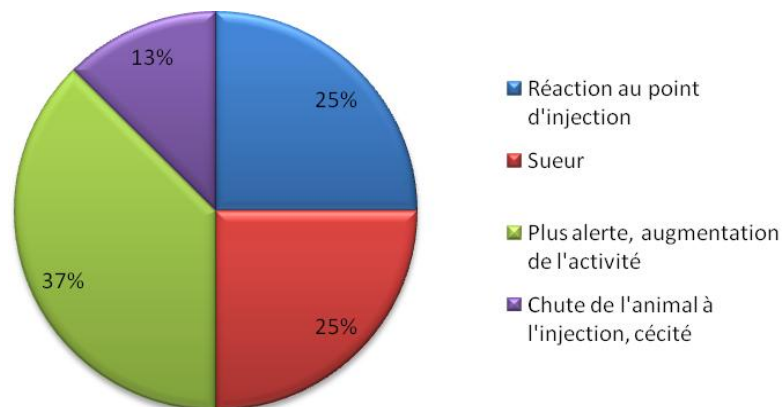


Figure 74 : Effets secondaires rencontrés lors d'utilisation de la mélarsomine en course (n=7, réponses multiples)

On note donc des effets rapportés dans le RCP, mais aussi d'autres effets non rapportés (cécité et chute). L'augmentation d'activité serait l'effet recherché par les administrateurs de mélarsomine en course.

Globalement, les vétérinaires disent ne pas recommander l'utilisation de trypanocides en course pour une autre utilisation que l'action antiparasitaire du produit (39%) (11% le recommandent et 50% n'ont pas répondu).

## (11) Existence de faux produits

D'après plusieurs vétérinaires interrogés, beaucoup de personnes se méfient des contrefaçons car il y en a beaucoup aux Emirats, ces produits sont moins chers mais il y a toujours un indice qui montre que c'est un faux (numéro de lot, sticker...).

Aussi, le changement de packaging régulier pose problème, car les gens ne font plus confiance à cause de l'existence de faux produits sur le marché, et ce malgré des stickers censés empêcher les copies (Fig. 75).

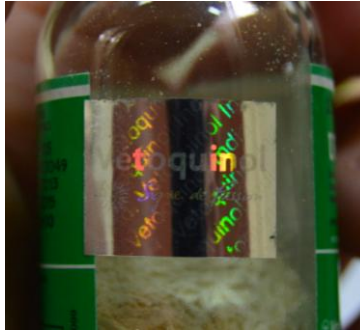


Figure 75 : Sticker certifiant l'authenticité du produit (cliché J. Merlin)

Outre l'existence de faux produits, il existe un réel problème de stockage des médicaments : ceux-ci sont soumis à des températures extrêmes et les bâtiments ne sont pas forcément adaptés au stockage à 25°C pendant l'été. Il y a donc potentiellement une dégradation rapide des produits, même si ce ne sont pas des produits contrefaits et donc une diminution d'efficacité est possible. Ces conditions concernent en particulier, mais pas uniquement, des produits d'importation illégale, revendus moins chers, dont les conditions de stockage ne sont pas contrôlées.

### d) Prévention de la trypanosomose

#### (1) Prescription de traitements préventifs

La majorité des vétérinaires (69%) prescrivent des traitements trypanocides préventifs. 31% n'en prescrivent pas.

Parmi ceux qui en prescrivent, on retrouve les molécules suivantes (Fig. 76):

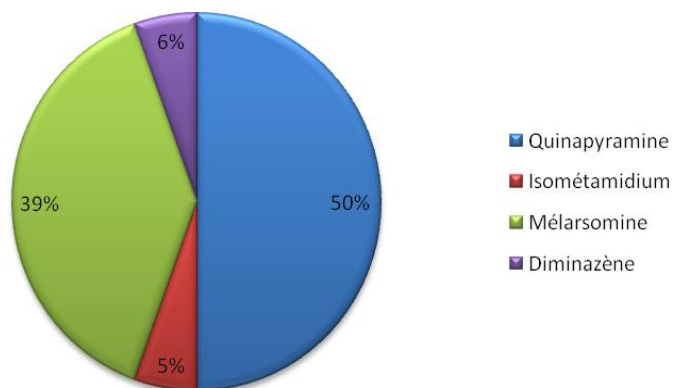


Figure 76 : Molécules utilisées en préventif (n=18, réponses multiples)

La majorité des vétérinaires interrogés utilisent la quinapyramine comme trypanocide préventif (50%), puis la quinapyramine (39%). Très peu utilisent l'isoméamidium ou le diminazène (5,5% respectivement).

On retrouve les mêmes tendances par zone.

Le Tableau XV résume les protocoles utilisés en préventif par les vétérinaires interrogés.

Tableau XV : Résumé des protocoles utilisés en préventif face à la trypanosomose, légende : les données en rouge : ne correspondant pas à ce qui est noté dans les RCP des produits

Molécule	Dose	Fréquence, quand traiter
NR	NR	Avant l'été, une fois par an
NR	NR	En été
NR	NR	dans les zones d'endémie
Mélarsomine (cymelarsan)	NR	quand un cas est confirmé (méta <del>pro</del> phylaxie)
	1/2 dose (dose pour 200 kg)	En été
	NR	pendant la saison des courses (septembre-mars), tous les 1-3 mois
	NR	importations : une fois, puis analyse sanguine (tests pour brucellose et trypanosomose) et lavage des animaux à la cyperméthrine 10% (diluée à 2%) avec une éponge (meilleur contact du produit avec la peau que spray, utilisé pour les acariens surtout) tous les 2-3 jours pendant la quarantaine, animaux d'un groupe infecté : pour tout le groupe
	NR	avant les courses ou 1 mois après la mise bas, ou si un animal est infecté dans un lot, tout le groupe est traité. Gestations. pour les courses : tous les 3 mois, pour la reproduction : avant l'accouplement
Quinapyramine (Triquin ou Biquin, Tropar forte)	NR	Tous les 3 mois
	NR	Tous les 6 mois
	1 flacon/dromadaire de grande taille (dose pour 600 à 800 kg selon le produit utilisé), 1/2 flacon/dromadaire de petite taille (dose pour 300 à 400 kg selon le produit utilisé)	Avant l'été
	NR	A l'arrivée au centre et une autre fois pendant la saison (tous les 2 mois)
	1 flacon/dromadaire (dose pour 600 à 800 kg selon le produit utilisé)	Tous les 3-4 mois
		avant les courses ou 1 mois après la mise bas, ou si un animal est infecté dans un lot, tout le groupe est traité. pour les courses : tous les 3 mois, pour la reproduction : avant l'accouplement
	1 flacon (dose pour 650 kg)/800kg	avant l'accouplement, tous les 6 mois. (Sinon cymelarsan lors de gestation, après analyses sanguines, et pour les autres sections car moins d'animaux donc pas de problème de prix et plus sûr)
Isoméamidium (Trypano forte)	1 flacon/dromadaire (dose pour 125 à 250 kg selon la posologie utilisée)	Tous les 3-4 mois
Alternance mélarsomine et quinapyramine	NR	1 fois par mois pendant les courses (mélarsomine) ou tous les 2-3 mois sinon (quinapyramine)
		Quinapyramine en dehors de la saison des courses, mélarsomine 1 mois avant la course en saison

Les vétérinaires interrogés utilisent soit la quinapyramine, soit la mélarsomine, soit l'isométymidium, soit une alternance de quinapyramine et mélarsomine, en prophylaxie.

Il apparaît encore une fois que les molécules utilisées peuvent être sous-dosées par rapport à la dose recommandée en utilisant 1 flacon voire un demi flacon par dromadaire.

Les délais entre 2 utilisations d'un produit sont très variables selon la praticien, et parfois supérieurs aux délais recommandés dans les RCP.

Les produits commercialisés à base de quinapyramine sont généralement moins cher que la mélarsomine et donc plus adaptés à une utilisation de masse, sans compter la rémanence du produit qui est supérieure.

### **(2) Mesures de quarantaine pour les animaux infectés**

Moins de la moitié des vétérinaires (42%) recommandent des mesures de quarantaine dans le cas d'un animal infecté par la trypanosomose. 38% les recommandent, 15% sont sans opinion et 4% n'ont pas répondu à la question.

La durée de quarantaine recommandée varie de quelques jours à 1 mois selon les vétérinaires.

### **(3) Recommandations de désinfection**

Globalement, ils recommandent une désinfection de l'ensemble de l'élevage (58%) et du matériel (62%). Les avis sont plus divisés sur la désinfection de la zone de quarantaine : 46% le recommandent et 54% ne le recommandent pas.

Exemple de protocole utilisé : Virkon<sup>®</sup> avant l'arrivée et après le départ des animaux (24h avant et après au minimum) et désinfection régulière des bottes et mains avec du Virkon<sup>®</sup> (solution changée tous les jours).

Cependant, ces mesures semblent peu appliquées en pratique, mais le parasite étant très peu résistant dans l'environnement, ce n'est pas forcément la mesure qui prime parmi les mesures prophylactiques, hormis le risque de transmission immédiat de la maladie au manipulateur, d'où l'importance des mesures de biosécurité (gants, masque).

### **(4) Contrôles des entrées et sorties d'animaux**

Globalement, les vétérinaires recommandent de contrôler les entrées et sorties des animaux dans les élevages (62%).

Les contrôles, surtout faits pour les entrées, sont basés sur des tests sanguins (méthodes microscopiques directes le plus souvent).



### (5) Mesures de lutte contre les vecteurs

Tous les vétérinaires interrogés mettent en place des mesures de lutte contre les vecteurs. La Figure 77 résume les différentes méthodes de lutte recommandées par ces praticiens.

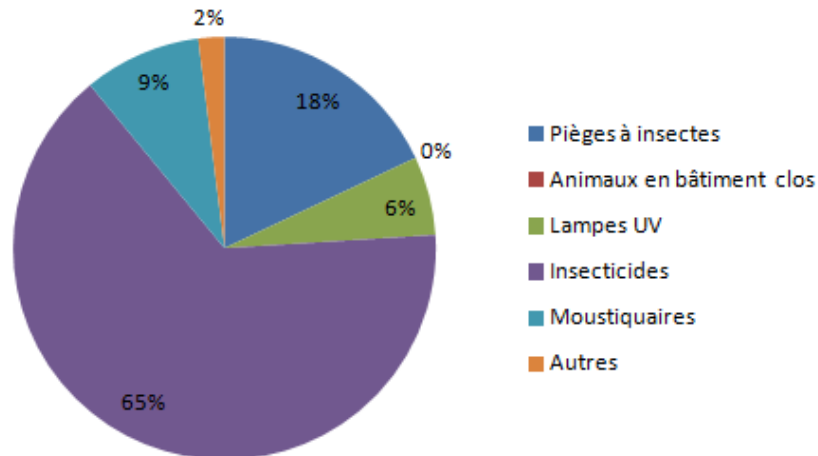


Figure 77 : Méthodes de lutte vectorielle utilisées (n=26)

Une majorité d'insecticides (65%) est utilisée par les vétérinaires interrogées pour le contrôle des vecteurs, puis les pièges à insectes (18%) et les moustiquaires (9%), voire quelques lampes UV (6%).

Pour les pièges, il existe aux Emirats des dispositifs tout prêt ou des insecticides en poudre (de l'imidaclopride par exemple) à placer sur une assiette.

Pour les insecticides, d'après les vétérinaires, les pyréthriinoïdes sont utilisés majoritairement (82% en tout), en particulier la cyperméthrine (68%) (14% pour la deltaméthrine), puis les organophosphorés (normalement interdits aux Emirats) (14%) et les avermectines (4%) peuvent être utilisés.

Voici quelques exemples de protocoles :

- Cyperméthrine : 1 fois par semaine à 1 fois par mois, sur l'environnement et les animaux (10% dilué à 2%), sur une durée variable ou seulement pendant l'été
- Deltaméthrine : 1 fois par mois dans l'environnement et sur les animaux
- Ivermectine : en *pour on*, une fois par mois (hors AMM pour le dromadaire)

De plus, plusieurs vétérinaires rencontrés pensent que les tiques joueraient un rôle dans la transmission de la maladie aux Emirats.

#### **4. Impact de différentes variables sur la prévalence : saison, âge, statut physiologique et utilisation de traitements préventifs**

Un tableau croisé (Tab. XVI) a été construit afin de déterminer l'impact potentiel de la saison, l'âge, le statut physiologique et l'utilisation de traitements préventifs sur la prévalence de la maladie.

Afin de rendre l'étude statistique plus significative, les taux de prévalences supérieures à 10% ont été regroupées, étant donné que le taux de prévalence semble plutôt autour des 5 à 10% aux Emirats d'après les vétérinaires interrogés. Malgré tout, les effectifs sont assez bas [n=9, 36% (0-10%) et n=16, 64% (>10%)]. Le travail présenté ci-dessous est donc plus descriptif que statistique. En effet, les p-value ne peuvent être utilisées car elles ne sont pas significatives (>0.05).

Tableau XVI : Tableau croisé de l'influence de la saison, la tranche d'âge, le statut physiologique et l'utilisation de traitements préventifs sur la prévalence de la maladie

	Prevalence De La Maladie				Test
	0-10% N=9		>10% N=16		
<b>Saison Preferentielle</b>					Chi-2
Novembre-Avril	5	62.50%	5	33.30%	P = 0.179
Mars-Octobre	3	37.50%	10	66.70%	
Missing	1		1		
<b>Tranche d Age Touchee</b>					Fisher Exact
1-4 Ans	2	28.60%	4	36.40%	P = 1.000
4-10 Ans	5	71.40%	7	63.60%	
Missing	2		5		
<b>Influence Du Statut Physiologique</b>					Fisher Exact
Gestation	2	33.30%	1	11.10%	P = 0.773
Gestation, Maladie Ou Immunodéficience	1	16.70%	2	22.20%	
Maladie Ou Immunodéficience	3	50.00%	6	66.70%	
Missing	3		7		
<b>Traitements Preventifs - Traitements Preventifs Recommandes Ou Non</b>					Fisher Exact
Non	1	11.10%	7	43.80%	P = 0.182
Oui	8	88.90%	9	56.30%	

Bien que les différences ne soient pas significatives, on perçoit tout de même des tendances différentes entre les 2 groupes de prévalence.

Pour les taux de prévalence 0-10%, la saison préférentielle associée à ces taux est plutôt celle de novembre-avril tandis que pour la catégorie des taux de prévalence supérieurs à 10%, il s'agit plutôt de mars-octobre.

La tranche d'âge 4-10 ans semble être celle qui a le plus d'impact sur tous les taux de prévalence, tout comme le statut physiologique de maladie ou immunodéficience ou encore l'utilisation de traitements préventifs.

Les chiffres sont purement descriptifs sur une si petite cohorte. Pour confirmer statistiquement nos chiffres, il faudrait reprendre ces estimations sur un plus grand nombre de questionnaires.

## 5. Exemples de pratiques dans différentes structures

### a) Ferme laitière « Camelicious »

La ferme compte environ 6000 dromadaires dont 5 mâles, qui restent toute leur vie sur la ferme. Une attention particulière est portée aux jeunes animaux. Leur stratégie de traitement et prévention correspond à ceux d'une île isolée.

La structure a une accréditation européenne, elle doit donc respecter certaines normes et faire plusieurs contrôles (1 fois par an par le ministère, 1 fois par semaine par la municipalité en

cas de problème). Les analyses sont réalisées par le CVRL (laboratoire de référence aux Emirats). Sur un animal en hyperthermie, ils donnent d'abord un traitement antibiotique, puis s'il est inefficace, ils font un prélèvement sanguin.

La ferme comprend 2 unités : une unité de vétérinaire soudanais, qui traitent beaucoup plus souvent les animaux contre la trypanosomose (peut être détectent-ils mieux la maladie par leur expérience ou en on-t-il plus peur comme beaucoup de cas au Soudan) et l'autre unité où les vétérinaires attendent une confirmation par le laboratoire.

Les vétérinaires de l'établissement ne font pas de compromis pour les antibiotiques et antiparasitaires : ils utilisent des produits fabriqués par des grands laboratoires dont la réputation est connue (peuvent chercher des produits moins chers pour les vitamines par exemple).

### **b) Ferme du Sheikh Sultan Bin Zayed**

Cette ferme comprend 3000 dromadaires pour la reproduction, 2000 dromadaires pour les courses.

Les examens de laboratoires sont systématiques tous les 6 mois (pour la section de reproduction, tous les 15 jours pour la section des courses et tous les mois pour la section des concours de beauté, plus fréquent car moins d'animaux que dans la section de reproduction) et sont faits en plus sur les cas suspects. Il y a moins d'examens réalisés pour les animaux de course car ils sont traités régulièrement en préventif (au moins tous les trois mois).

Les résultats de l'hémogramme et de la biochimie obtenus par les vétérinaires du centre en cas de surra peuvent être les suivants : neutrophilie, leucocytose, lymphocytose et éosinophilie, diminution de la concentration en fer, hyperglobulinémie, augmentation des ASAT, comme rapporté dans la littérature (1,32,43), mais également une thrombocytose, augmentation des GGT, augmentation des CK, augmentation des LDH et augmentation de la créatinine.

Parmi les examens de laboratoires, ils utilisent aujourd'hui le test au chlorure de mercure («Mercuric Chloride Test » ou MCT) : il y aurait une augmentation du taux d'albumine chez les animaux infectés par le trypanosome (plus souvent dans les cas chroniques, associé à une diminution des autres protéines), la positivité du test correspond à une augmentation de turbidité de l'échantillon une fois le réactif ajouté. Ce test est très peu spécifique et relativement sensible (80-90%). Il est toujours associé à d'autres indications (anémie, augmentation des leucocytes...).

Ils réalisent également des frottis sanguins, colorés au Giemsa ou RAL 555 et une observation du *buffy coat* au microscope classique (méthode de Woo).

Ils rapportent que dans les cas aigus, ils ont pu retrouver lors d'examens nécropsiques des trypanosomes au niveau du foie.

Aujourd'hui, les vétérinaires traitent avec de la quinapyramine car ils rencontraient beaucoup de cas résistants ou réinfections avec la mélarsomine.

### c) **Advanced Scientific Group d'Abu Dhabi**

Ce centre de recherche vétérinaire a été créé en 1989 particulièrement pour la reproduction de dromadaires (initialement de courses) et autres espèces (chevaux notamment). Ils utilisent des méthodes telles que la FIV ou les cartes ADN. Le centre est composé de 3 départements : « Embryo-transfert department », « DNA department » et un département administratif.

Le centre possède 1 500 dromadaires, dont de nombreuses femelles constituant leur pool de donneuses et receveuses et seulement une trentaine de mâles (sélectionnés sur leur ascendance). Pendant la saison des courses, de septembre à mars, le centre accueille 3 000 à 4 000 dromadaires (femelles adultes uniquement) en tout, les clients pouvant conduire leurs propres dromadaires sur place. Ces animaux viennent de plusieurs centaines de fermes différentes, parfois de fermes de pays étrangers (Oman, Soudan).

Le centre possède donc de larges espaces ouverts afin d'accueillir les différents troupeaux, et comprend 2 parties : une partie fermée contrôlée par le centre où les animaux viennent pour une reproduction assistée et une partie accessible à tous où les éleveurs peuvent amener leurs bêtes pour de la reproduction naturelle. Les éleveurs laissent leurs animaux sur le site jusqu'à 2-3 mois de gestation en général.

Les femelles sont groupées ensemble dans de larges enclos (100 à 200 au maximum, 60 à 80 pour les femelles gestantes, séparation des donneuses, receveuses et gestantes), tandis que les mâles sont généralement dans des enclos individuels et sont très contrôlés (valeur économique importante ici, car ce sont des animaux à haute valeur génétique). Les animaux sont nourris avec du foin ou pâturent sur leur parcelle.

Lors de l'arrivée de dromadaires, les papiers des animaux sont vérifiés puis les dromadaires sont examinés par un vétérinaire qui réalise un examen clinique général, une prise de sang afin de vérifier le statut parasitaire de l'animal face à la brucellose et trypanosomose, et vérifie l'absence de dermatose. Si l'animal est sain, il délivre un certificat et les données du dromadaire sont enregistrées dans un fichier informatique. Ces données seront actualisées tous les jours pendant le séjour de l'animal afin de suivre l'ensemble des examens et traitements réalisés. L'animal est ensuite aspergé de cyperméthrine puis est identifié par un collier électronique et entre dans le centre par une porte magnétique. Des examens ultrasonographiques et une palpation transrectale sont effectués dans un autre bâtiment et, si tout semble normal, l'animal entre définitivement dans le centre et son collier électronique est changé pour un collier classique portant un numéro d'identification (Fig. 78).

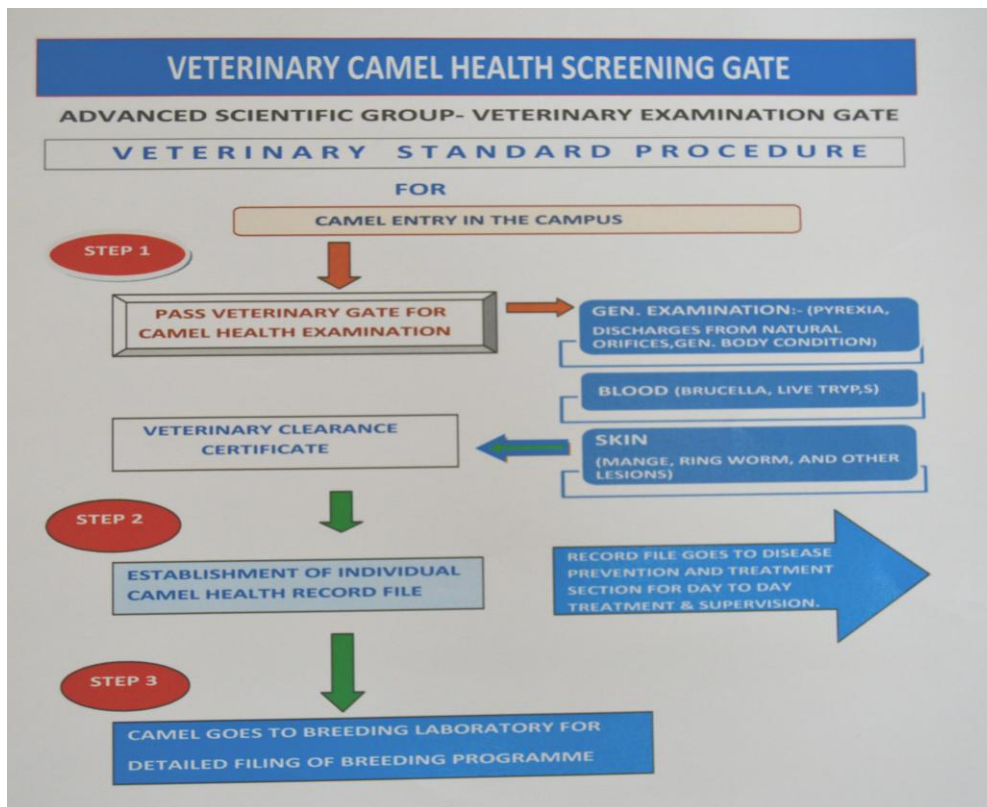


Figure 78 : Processus d'entrée d'un dromadaire dans la structure (cliché J. Merlin)

Les animaux sont donc refusés par le centre lorsque :

- leurs papiers ne sont pas en règle
- l'examen clinique est anormal
- les analyses sanguines révèlent une infection par *brucella* ou *trypanosoma*
- l'échographie abdominale et la palpation sont anormales.

Pour la sortie des animaux, seul le contrôle de sécurité est passé.

Les cas de trypanosomose varient de 0 à 20 cas par jour en saison de courses. Sur l'année 2017-2018, la prévalence cumulée calculée est de 4% (41 cas sur 62), dont un taux de cas résistants ou réinfectés de 34% (21 cas sur 62).

Lorsqu'un animal est positif à la trypanosomose, il est généralement traité le lendemain, puis un contrôle du statut parasitaire est effectué tous les 15 jours à 3 semaines pendant toute la durée du séjour de l'animal. Les prélèvements sont réalisés le matin et sont rapportés au laboratoire pour analyse en moins d'une heure.

Le centre analyse environ 32 000 échantillons sanguins par an et 200 par jour, ce pourquoi des tests rapides et économiques sont utilisés pour maintenir la cadence.

Les analyses réalisées pour la trypanosomose sont la plupart du temps la goutte de sang frais, voire la PCR quantitative (PCR Taqman et un autre type de PCR) dans certains cas. Ils ont utilisé le test d'agglutination sur carte plus régulièrement, mais ce test revenait trop cher au centre pour une utilisation en routine, ce pourquoi il a été quasiment abandonné.

Pour les cas autopsiés, ils retrouvent parfois le parasite dans le sang prélevé, mais n'ont jamais rien trouvé sur le fœtus.

Concernant les traitements utilisés, la quinapyramine (Triquin<sup>®</sup>) à la dose de 5 mg/kg (en général un flacon est administré par animal), est administrée le jour suivant la confirmation d'infection, peut être réutilisée 2 mois après selon les clients, et est généralement administrée 2 fois pendant la saison. Le problème du Triquin<sup>®</sup> est sa voie d'administration en SC qui est parfois plus difficile qu'en IM et l'apparition de signes nerveux. Elle apparaît être une molécule efficace sur les cas résistants à la mélarsomine au centre.

La mélarsomine (Cymelarsan<sup>®</sup>) est utilisée à la dose de 1 à 2 ml/20kg (0,25 à 0,5 mg/kg). En général 2 flacons sont administrés, puis l'injection est répétée 3 jours à 3 semaines après le premier traitement, selon la fréquence des contrôles sur le groupe de dromadaire concerné, sur les cas où une parasitémie est encore visible après traitement. Ils ont pu observer des résistances au traitement ou cas de réinfections après l'administration de 3 flacons par animal (ils ont essayé jusqu'à 5 flacons par animal, mais à ces doses, ils ont observé une toxicité importante).

Le statut parasitaire est vérifié le lendemain du traitement (par un test à la goutte épaisse). Parfois ils n'observent aucun trypanosome, puis ceux-ci réapparaissent plus tard, parfois dès le lendemain.

Il ne donne ni de diminazène ni d'isométnidium car ils considèrent ces molécules trop toxiques et donc difficiles d'utilisation chez le dromadaire. La suramine n'est plus commercialisée aux Emirats.

Ils utilisent, pour les animaux de certains clients, la quinapyramine et la mélarsomine en alternance tous les 2 mois.

Pour les cas récurrents, la positivité des tests après traitement varie de 1 jour (plus probable résistance au traitement) à 62 jours (plus probable réinfection suite au traitement, où un phénomène de résistance avec des faux négatifs).

Les mesures de prophylaxie mise en place dans le centre sont les suivantes : une application d'insecticides sur les animaux et dans l'environnement tous les 15 jours à 3 semaines, une séparation physique des animaux malades et des animaux sains, un traitement trypanocide prophylactique 2 fois par an minimum, le portage de gants et masques par les manipulateurs des animaux ainsi qu'un changement de seringue et aiguille pour chaque animal lors d'injections, associée à une surveillance permanente des animaux (screening tous les 15 jours). Ils possèdent également plusieurs enclos d'isolement pour des animaux entrant surtout (1 jour d'isolement en général).

Les insecticides utilisés sont la cyperméthrine associée au piperonyl butoxide (Residex<sup>®</sup>), qui permet d'avoir une efficacité accrue contre les tiques (effet potentialisateur du piperonyl butoxide), ou la deltaméthrine (Butox<sup>®</sup>).

## **6. Discussion**

### **a) Biais**

Il existe un biais de recrutement car le questionnaire a été distribué uniquement à des vétérinaires dont nous avons les contacts, mais nous avons sélectionné des vétérinaires spécialistes des dromadaires travaillant dans des domaines différents (vétérinaire de ferme laitière, vétérinaire de Sheikh gérant des dromadaires de reproduction, de courses et de concours de beauté, vétérinaires tenant une pharmacie, vétérinaire en centre de recherche...) afin de couvrir le plus large panel de filières possibles, et suivant au total environ 39 000 dromadaires sur le territoire des EAU soit 10% de la population totale du pays (59). Chaque vétérinaire d'Arabie Saoudite ayant répondu au questionnaire suit environ 400 dromadaires, soit environ 7 200 dromadaires au total soit seulement 0,8% de la population totale (102). Ces échantillons ne sont pas représentatifs car nous souhaitons sélectionner des vétérinaires

spécialisés et n'avons donc pas fait cette sélection aléatoirement au sein des vétérinaires choisis et donc des dromadaires suivis par ces praticiens. Il aurait également été intéressant de faire un recrutement plus large afin d'avoir des échantillons plus conséquents.

3 régions ont été étudiées : l'émirat de Dubaï et celui d'Abu Dhabi (alentours d'Abu Dhabi et Al Ain). Cette sélection spécifique liée aux contacts connus aux Emirats n'est donc pas non plus représentative. Cependant, les conditions environnementales et d'élevage sont assez homogènes dans l'ensemble du pays (climat désertique). De plus, nous ne visions pas une bonne représentativité mais plutôt l'obtention d'informations précises auprès de spécialistes des dromadaires et de cette maladie pour une première étude de terrain.

Notre étude présente également un biais de non réponse, étant donné que tous les vétérinaires contactés n'ont pas répondu à l'enquête, et que ceux ayant répondu n'ont pas répondu à toutes les questions : ceci concerne les vétérinaires d'Arabie Saoudite, qui n'ont pas répondu au questionnaire en direct, et un vétérinaire des Emirats que nous n'avons pas pu rencontrer.

On trouve également un biais de déclaration : pour les questions relatives aux pratiques en course par exemple, les vétérinaires ont rarement répondu, sauf si la question était posée directement.

Les réponses d'Arabie Saoudite, bien que moins complètes que les autres, nous permettent d'avoir une vue plus globale de la situation en considérant la gestion de la maladie avec le pays frontalier le plus étendu, avec qui les échanges d'animaux sont réguliers et nombreux.

L'arabe étant la langue nationale en Arabie Saoudite comme aux Emirats, il persiste un biais lié à la non compréhension ou mauvaise compréhension des questions en anglais.

Enfin, il existe un biais lié à la pratique même : les vétérinaires interrogés examinent beaucoup plus de femelles, donc les cas rapportés sont essentiellement sur des femelles.

## **b) Epidémiologie de la maladie**

Concernant la prévalence, les intervalles (<5%, 5-10%, 10-25%, >25%) ont été choisis car celle-ci ne dépasse que rarement 30% dans les différents pays du monde (1) et les échanges préalables à cette thèse avec les membres de l'ASG d'Abu Dhabi nous avaient permis d'estimer la prévalence entre 2 et 20% selon les années au centre. Les intervalles sont relativement larges, l'estimation précise par le praticien étant difficile dans la plupart des cas comme la majorité ne recense pas les cas vus pendant l'année. Les intervalles choisis ne sont pas réguliers, afin d'obtenir des catégories homogènes en termes de nombres.

La prévalence est estimée par la personne répondant au questionnaire, mais n'est pas calculée, sauf pour l'ASG où la prévalence réelle (basée sur les contrôles sanguins réalisées sur goutte épaisse) est de 4%. Cette valeur semble bien inférieure à la plupart des prévalences connues pour différents pays (généralement entre 15 et 25%) d'après Enwezor et Sackey (1). La séroprévalence calculée par le laboratoire de référence de Dubaï (CVRL) est inférieure à 10% (60), ce qui est plutôt en accord avec le taux de prévalence estimé ici. Cependant, cette dernière valeur est probablement inférieure à la prévalence réelle du pays, étant donné que ce centre a mis en place des mesures de contrôle (admission d'animaux sains ou avec une infection sub-clinique) et de traitement de la maladie sûrement supérieures à la plupart des mesures mises en place dans le reste du pays. On pourrait penser que cette prévalence reflète assez bien le taux d'infection au centre, étant donné que les animaux ne sont normalement pas ou peu infectés à l'arrivée au centre. En revanche, cette prévalence pourrait être majorée par le fait que de nombreux dromadaires d'origines diverses sont possiblement en contact dans ce centre.

L'estimation de la prévalence est faite sur un faible nombre de questionnaires, représentant 10% de la population de dromadaires aux Emirats et 0,8% en Arabie Saoudite. Cette estimation serait donc intéressante à réaliser sur un échantillon plus large dans les deux pays, de larges études épidémiologiques n'ayant pas encore été réalisées dans ces régions à ce jour. Le taux de prévalence potentiellement plus élevé en Arabie Saoudite pourrait s'expliquer par une moins bonne gestion des cas de trypanosomose, tant sur la détection, le traitement et la prévention, une installation et dissémination de la maladie antérieure dans cette région, de plus nombreux échanges de dromadaires avec des pays voisins et un moins bon contrôle aux frontières par exemple, ou encore être une coïncidence au vu du faible nombre de questionnaires recueillis. La prévalence semblant plus élevée à Al Ain, pourrait s'expliquer par la proximité des élevages avec le territoire d'Oman, où il pourrait y avoir un taux de prévalence plus important, la présence d'un climat plus favorable aux vecteurs (zone de montagne moins aride, avec plus de précipitations et des températures plus basses par exemple (49)) ou encore être une coïncidence vu le faible nombre de questionnaires. Cette question pose également le problème de la différenciation entre prévalence et incidence qui sont souvent confondues, et de la population ciblée par la question : il y a parfois une confusion dans les réponses entre la prévalence globale du pays, de la région, et de la clientèle du vétérinaire.

Le taux de mortalité a été rajouté secondairement, suite aux premiers entretiens, afin d'avoir une idée de la gravité de la maladie. Cette donnée est estimée donc ne reflète sûrement pas avec exactitude le taux de mortalité réel dans le pays.

Le taux de mortalité est sûrement difficile à évaluer car le diagnostic de certitude de la maladie n'est pas souvent fait. Cependant, il ne semble pas être très élevé d'après les différentes interviews car souvent on arrive à traiter les cas assez tôt. Ceci est en accord avec la littérature où l'on retrouve un taux de mortalité généralement très faible (environ 3%) (8). C'est sur les stades très avancés que l'on a le plus de risque de mortalité, notamment les cas où se développent des signes nerveux où le pronostic est très sombre : les parasites se réfugient dans l'encéphale et sont inaccessibles au traitement (37).

Etant donné que les vecteurs sont plus propices à se développer pendant la saison des pluies (31), soit de novembre à avril aux Emirats (49), nous souhaitons savoir si l'incidence augmentait à cette période, ou à la saison sèche, ou s'il n'y avait pas de variation du nombre de cas selon la saison.

Le fait qu'il y ait plus de cas à la saison sèche pourrait s'expliquer par l'augmentation du stress nutritionnel et l'état de faiblesse des animaux à cette saison, favorisant et révélant plus facilement une infection clinique, comme l'explique Uilenberg (13).

Le fait que les femelles semblent plus atteintes par la maladie est en accord avec plusieurs études de terrain réalisées dans d'autres pays (14,31), mais ceci peut être biaisé par le fait que les femelles sont bien plus nombreuses (quelques mâles par troupeau), les mâles partent généralement assez tôt des élevages (pour éviter les problèmes de combats après la puberté) (52) et les mâles sont plus surveillés que les femelles (ils sont souvent seuls dans un enclos séparé, et ceux qui sont gardés servent souvent à la reproduction et sont donc très surveillés).

Pour l'estimation de la tranche d'âge touchée par la maladie, les différentes catégories d'âges choisies permettent de distinguer les très jeunes animaux encore proches de la mère avec possibilité de contamination horizontale ou verticale (<1 an) (sevrage entre 8 et 12 mois), des jeunes animaux non pubères (1-4 ans), des animaux adultes (4-10 ans) et des animaux vieillissant (>10 ans), afin de prendre en compte l'éventuel impact du statut immunitaire et hormonal des animaux.



Nos données semblent en accord avec la majorité des données de la littérature (28), et il semble y avoir moins de cas après 10 ans comme dans l'étude de Antoine-Moussiaux *et al.* (2).

La gestation, un statut d'immunodéficience, ou de maladie sont des statuts où les défenses sont réduites, voire les besoins métaboliques sont accrus, ce qui pourrait permettre un développement clinique de la maladie chez l'animal ou une plus grande sensibilité de ces groupes d'individus à la trypanosomose, expliquant une prévalence plus élevée dans ces cas, comme le rapportent les études de Röttcher *et al.* et Antoine-Moussiaux *et al.* (2,8).

L'association possible avec d'autres parasitoses serait en accord avec la littérature, comme l'étude de Naga et Barghash en 2016 qui rapporte l'existence de plusieurs parasitoses souvent associées aux infections à *T. evansi* (14).

Nous nous sommes intéressés à l'influence de la lignée ou du type d'élevage sur la prévalence de la maladie : certaines lignées sont-elles plus touchées? Un type d'élevage est-il plus à risque? Les premiers vétérinaires ayant répondu par mail n'ont souvent pas compris cette question : ils parlaient de races (confusion possible entre « breeder » et « breed »). Cette question a donc, sur le terrain, été posée légèrement différemment : nous nous sommes surtout intéressés à l'influence de la race, plus largement que celui des lignées.

On s'attendait plutôt à ce que un type d'élevage ou certaines lignées soient plus sensibles ou plus résistants à la maladie, comme cela a déjà été rapporté chez les bovins par exemple (9), mais cela ne semble pas être le cas chez le dromadaire. Le fait qu'on nous rapporte plus de cas chez des dromadaires venant de Somalie ou encore du Soudan est probablement due à la prévalence plus élevée de la maladie dans ces pays (33% au Soudan en 1999) (1) et donc une importation de dromadaires parasités.

Nous souhaitons évaluer l'influence du rythme nyctéméral par la présence accrue ou non de parasites lors de prélèvement sanguin selon le moment du prélèvement dans la journée. Cependant, la question était difficile, tous les vétérinaires ne faisant pas d'analyse, ou ne faisant pas attention à la variation du nombre de parasites sur les lames qu'ils analysent, seule la positivité étant importante pour mettre en place un traitement.

Pour l'unique réponse positive, le vétérinaire trouve qu'il y aurait plus de parasites visibles dans le sang le matin et fait l'hypothèse d'un flux sanguin diminué le matin par rapport au reste de la journée pour expliquer ce phénomène, si l'on compare avec l'Homme par exemple, chez qui le flux sanguin est diminué pendant le sommeil puis augmente après le réveil (103).

Nous avons rencontré le même problème avec la variation du nombre de parasites dans le sang en fonction du sexe de l'animal.

### **c) Diagnostic de la maladie**

Dans la question portant sur le classement des signes cliniques par ordre de fréquence, le mot « decubitus » a la plupart du temps été non compris par les vétérinaires interrogés.

Les cas asymptomatiques semblent peu notés par les vétérinaires, probablement car peu d'examen parasitologiques sont réalisés sur les animaux apparemment sains. L'épiphora a souvent été rapporté par les vétérinaires comme un signe fréquent, ce qui est en accord avec ce que rapporte Röttcher *et al.* (8).

Les cas d'opacification cornéenne, bien que mentionnés dans la littérature (1,5,8,9,32,37), semblent assez rares, et la photophobie semble l'être encore plus, bien que théoriquement possible d'après certains vétérinaires interrogés.

Les vétérinaires préfèrent généralement faire un diagnostic thérapeutique plutôt que de faire des examens complémentaires afin de déterminer la cause, notamment car les examens complémentaires nécessitent une contention pour effectuer la prise de sang et donc un besoin de main d'œuvre et sont plus chronophages, surtout si beaucoup d'animaux sont à examiner, ce qui est assez souvent le cas dans les gros troupeaux présents aux Emirats (plusieurs centaines à milliers de bêtes). Ceci peut poser problème dans le sens où des traitements répétés sur des animaux sains ou ayant une autre affection avec des trypanocides favoriserait l'apparition de résistances à ces molécules (72) et le coût n'est pas forcément moindre en utilisant un diagnostic thérapeutique, les examens microscopiques sur sang frais étant rapide et peu coûteux (26).

Concernant le type d'examens complémentaires réalisés, la proposition « identification microscopique sur sang frais par frottis » n'était pas assez large, elle avait pour but de rassembler toutes les techniques directes, mais le terme de frottis a été utilisé afin de permettre une meilleure compréhension du lecteur. L'idéal aurait peut-être été de donner des exemples de techniques comme pour les propositions suivantes. Cette proposition a en revanche été bien détaillée pour les questionnaires distribués en direct, afin d'obtenir une réponse plus précise.

Les méthodes microscopiques directes étant peu sensibles (26), leur utilisation non associée à d'autres examens paraît insuffisant pour confirmer une suspicion de trypanosomose à *T. evansi*. Cependant, rajouter d'autres examens rajoute un coût pour l'éleveur, surtout s'il a beaucoup d'animaux. Les méthodes microscopiques directes sont privilégiées car ce sont les plus rapides, les plus économiques et elles permettent d'avoir un diagnostic de certitude lorsque des parasites sont observés (6,26).

Pour ce qui concerne les critères de confirmation d'infection utilisés, se baser uniquement sur les signes cliniques, sans confirmer l'infection par des examens complémentaires comme semblent le faire la majorité des vétérinaires interrogés (65%), semble encore une fois assez dangereux, et propice au développement de résistances aux molécules utilisées à mauvais escient. Les recommandations de l'OIE pour confirmer un diagnostic d'infection à *T. evansi* étant un résultat d'examen microscopique ou de culture sur rongeurs positif, ou encore une PCR positive (2 fois à une semaine d'intervalle) (6,26).

Concernant le délai d'analyse des échantillons, les intervalles de temps choisis entre le prélèvement et l'analyse de l'échantillon (moins de 30 minutes, 30 minutes à 2 heures, ou plus de 2 heures) correspondent à des intervalles compatibles avec une analyse immédiate, une analyse différée de quelques heures si le praticien les ramène à la suite de sa visite d'élevage par exemple, ou d'une durée plus longue suite à un transport en laboratoire spécialisé ou l'analyse des prélèvements à la fin de toutes les visites de la journée par exemple. Le parasite persistant 2 à 48 heures dans le prélèvement selon la température de stockage (M. Desquesnes, communication personnelle) (il est tout de même conseillé de conserver les prélèvements 6 à 10h au frais maximum pour une meilleure interprétation des résultats (26)), ces intervalles auraient pu être élargis : moins de 2 heures, moins de 1 jours, entre 1 et 2 jours, plus de 2 jours.

Les vétérinaires ne réalisent que peu souvent des autopsies, probablement car cette pratique demande du temps et nécessite la réalisation de prélèvements pour analyses histologiques, les lésions étant non pathognomoniques, ce qui rajoute un coût supplémentaire (1,8,11). La réalisation d'autopsie pourrait cependant être intéressante si plusieurs cas apparaissent en même temps, notamment des cas d'avortements.

Le fait qu'aucune lésion microscopique ne soit décrite peut s'expliquer par le peu d'analyses histologiques réalisées par ces vétérinaires.

Pour les prélèvements d'encéphale, une visualisation de nombreux trypanosomes est rapportée lors de réalisation de frottis et le vétérinaire interrogé émet l'hypothèse d'une ischémie liée à la présence des parasites dans les petits vaisseaux qui provoquerait les signes nerveux puis la mort de l'animal. Nous avons d'ailleurs pu personnellement observer une agglutination de parasites sur un prélèvement après quelques heures (Fig. 79), bien que ce phénomène soit inexplicable, qui pourrait appuyer cette hypothèse si ce phénomène se produisait dans de petits vaisseaux. Toutefois on ne peut exclure un phénomène d'agglutination par processus de déshydratation du prélèvement dans notre cas.

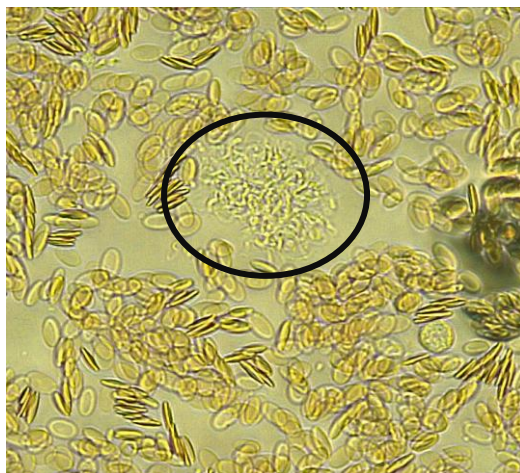


Figure 79 : Agglutinat de parasite dans échantillon sanguin après plusieurs heures (examen au microscope optique d'une goutte épaisse) (cliché J. Merlin), légende : les parasites conglomérés sont entourés d'un cercle

#### **d) Traitement de la trypanosomose**

En ce qui concerne le protocole de première intention face à une infection, certains vétérinaires utilisent désormais la quinapyramine car ils observaient beaucoup d'échecs de traitement avec la mélarsomine.

Certains vétérinaires utilisent la quinapyramine lors d'infections touchant un grand nombre d'animaux car les produits disponibles sont moins chers, et la mélarsomine est seulement utilisée pendant la saison des courses car ces dromadaires sont des animaux à forte valeur économique et la mélarsomine a une toxicité moins importante que la quinapyramine (notamment à forte dose) (8,74).

Le fait de donner un flacon par animal sans calculer la dose peut poser des gros problèmes de développement de résistance, notamment lorsqu'il s'agit de sous-dosages comme le rappelle Uilenberg (72), d'autant plus que la plupart du temps, le poids de l'animal est sous-estimé favorisant l'administration d'une dose inférieure à la dose efficace recommandée dans les RCP (72).

De plus, les quantités de substance active contenue dans un flacon et les dilutions ne sont pas les mêmes selon les produits, ce qui peut entraîner de grosses erreurs de calculs de dosage si le vétérinaire administre un flacon par animal : cette dose correspond à une dose pour 400 kg pour le Cymelarsan<sup>®</sup> contre 800 kg, soit le double du poids précédent, pour le Biquin<sup>®</sup>.

Répéter une injection très souvent (à quelques jours ou semaines d'intervalles), notamment de quinapyramine qui est une molécule prophylactique dont la rémanence est de quelques mois, peut amener à des problèmes de toxicité, d'autant plus à forte dose comme l'explique Röttcher *et al.* (8), avec accumulation du produit dans certains organes (néphrotoxicité voire hépatotoxicité notamment (81)), ce pourquoi il est impératif de respecter les délais recommandés sur les RCP. De même, il est assez surprenant de trouver plusieurs protocoles utilisant la mélarsomine en deux injections espacées de quelques jours à quelques semaines, la molécule étant normalement efficace en une seule injection. Ceci pourrait être expliqué par

une persistance de l'infection après une seule injection et donc mettre en évidence un phénomène de résistance ou de réinfection, ou encore une erreur de diagnostic.

Utiliser une voie d'administration différente de celle recommandée dans les RCP peut amener à des réactions secondaires plus importantes, notamment pour la voie SC (74) (la biodisponibilité est souvent équivalente pour les injections IM ou SC pour les trypanocides utilisables (74,81)). L'utilisation de la mélarsomine par voie intraveineuse a été rapportée par plusieurs vétérinaires. Elle est notamment pratiquée par certains éleveurs lors de la saison des courses de dromadaire, croyant à une meilleure efficacité du produit s'il est injecté directement dans le sang. Il faut faire très attention avec cette voie d'administration, car il est possible d'obtenir des réactions violentes de la part de l'animal (chute,...), la concentration du principe actif étant très importante très rapidement dans le plasma (74).

La technique du fer rouge semble assez efficace sur les cas de trypanosomoses avec troubles nerveux, d'après certains vétérinaires : l'animal, souvent en décubitus, se relève dans les minutes qui suivent l'application du fer rouge sur le crâne, et ces cas normalement au pronostic très sombre, arrivent à être soignés avec l'utilisation de trypanocide après l'application du fer rouge. Ceci pourrait s'expliquer par une vasodilatation au niveau des vaisseaux de l'encéphale suite à l'application du fer rouge, permettant la circulation de parasites qui se seraient accumulés dans les petits vaisseaux et provoqueraient une ischémie cérébrale. Cet afflux sanguin permettrait une réoxygénation rapide de l'organe (bien qu'il y ait également des risques de lésions de reperfusion) et l'apport de cellules immunitaires sur le site, permettant d'accroître la lutte contre le parasite. Les parasites pourraient par ailleurs être plus accessibles au traitement en sortant de sites refuges comme le cerveau suite à cette vasodilatation. Cependant, d'autres vétérinaires considèrent cette technique comme peu efficace (20% de réussite selon leurs dires). Aucun élément scientifiquement établi ne permet aujourd'hui de valider l'intérêt de cette pratique.

Le fait que 50% des vétérinaires vérifient le statut parasitaire de l'animal après traitement montre que ces contrôles sont insuffisants, car ils permettent de vérifier l'efficacité du traitement et ainsi d'éviter de remettre un animal contaminé avec des animaux sains en cas d'échec, ce qui ne ferait que favoriser la persistance de la maladie dans le troupeau. Cela permet également de mettre en évidence soit des phénomènes de réinfections : il faudrait alors améliorer les mesures prophylactiques ; soit des phénomènes de résistance : il faudrait alors changer le traitement utilisé contre cette souche, pour contourner ce phénomène et éviter son amplification, comme le préconise Uilenberg (72).

Les techniques utilisées sont souvent basées sur des méthodes microscopiques directes (frottis ou goutte de sang frais) car celles-ci sont rapides et économiques, mais encore une fois, ces techniques sont peu sensibles (26), surtout en post-traitement où le nombre de parasites persistants potentiellement peut être assez faible comparé à la période avant le traitement. On peut donc passer à côté de certaines infections persistantes.

Le fait de se fier uniquement à la disparition des symptômes, donc à la guérison clinique, n'est pas suffisant pour attester d'une disparition du parasite chez l'animal. Il se peut que le nombre de parasites soit insuffisant juste après traitement pour provoquer des signes cliniques et l'on peut donc faire face à des porteurs latents ou porteurs sains, qui pourront permettre la contamination d'autres individus alentours par la suite.

En ce qui concerne les taux de réinfections ou cas de persistance du parasite, encore une fois, ces taux sont des estimations faites par les vétérinaires interrogés donc non précis.

La seule valeur calculée est de 34%, dans un centre de recherche contenant des milliers d'animaux venant de tous les Emirats voire d'autres pays, dont les mesures prophylactiques semblent relativement mieux menées que dans le reste du pays (détail des mesures utilisées dans la partie II.B.4.c), et les animaux sont traités dès la détection d'un test à la goutte épaisse

positif, donc le centre essaye d'éviter au maximum la dissémination de la maladie au sein de sa structure. Ce taux de réinfections ou résistances élevé est donc plutôt inquiétant. Il pourrait être dû à la forte pression exercée sur le parasite, sélectionnant des souches plus résistantes, en utilisant des protocoles inadaptés (répétition des injections avec la même molécule à la même dose et problème d'évaluation du poids des animaux notamment).

Concernant le protocole de seconde intention, face à un cas récurrent, 34% des vétérinaires gardent le même protocole qu'en première intention, pourtant il est déconseillé de garder la même molécule sur un cas résistant. Cela peut fonctionner en cas de réinfections en revanche. L'utilisation de mélarsomine en seconde intention suite à un traitement à base de quinapyramine pourrait s'expliquer par une meilleure efficacité de traitement par cette combinaison et l'existence possible d'une « sanative pair of drugs ». Cependant l'inverse semble moins efficace étant donné que plus de 2 traitements sont nécessaires en moyenne pour éliminer le parasite. Il serait intéressant de tester l'efficacité de l'isométramidium sur de tels cas, étant donné qu'il est considéré par Uilenberg (72) comme « sanative drug » universelle, ou encore le diminazène. Cependant, l'utilisation de protocoles avec ces molécules sont plus difficiles à maîtriser étant donné la toxicité de ces molécules chez le dromadaire (8,30,39,72,87).

15% des cas nécessitent plus de 2 traitements : ceci montre une inefficacité des protocoles face à des phénomènes de résistances ou de réinfections, il faudrait donc changer ces protocoles ou améliorer la prophylaxie afin de diminuer la récurrence des cas.

Concernant la dose utilisée pour le Cymelarsan<sup>®</sup>, encore une fois, les doses utilisées pour un même produit sont très variables d'un vétérinaire à l'autre, et une bonne partie (44% des réponses) ne calculent pas la dose mais administrent un certain nombre de flacons par animal, ou encore administrent une certaine dose en fonction de l'âge : ceci pose de gros problèmes d'adéquation entre la dose réellement administrée et la dose théoriquement efficace, et met en évidence des problèmes de sous-dosages : souvent 1 seul flacon est utilisé, correspondant à une dose pour 400kg, sur des animaux pesant plus de 500kg, ou une dose de 1ml/25kg (soit 0,20 mg/kg) est administrée, inférieure aux 1ml/20kg (0,25 mg/kg) recommandés.

Pour l'estimation du poids des animaux, certains vétérinaires calculent la dose à administrer à l'animal en fonction d'un poids approximatif en fonction de l'âge et du gabarit : il est alors difficile de distinguer, s'il s'agit d'une non estimation ou d'une estimation visuelle du poids, cette technique étant plutôt intermédiaire entre ces deux catégories.

Le fait que la majorité des animaux ait un poids estimé visuellement seulement, souvent par une personne pas assez expérimentée, amène forcément à des problèmes de dosages, souvent de sous-dosages, et donc favorise le développement de phénomènes de résistances (72). Il serait déjà plus recommandé d'utiliser une formule si aucune balance n'est disponible, bien que cette technique soit plus chronophage.

En ce qui concerne le délai de traitement après suspicion de la maladie, le fait de ne pas attendre une confirmation d'infection pour traiter va entraîner le traitement d'animaux ne contenant pas le parasite et donc une utilisation des molécules de manière excessive, ces trypanocides provoquant des effets secondaires non négligeables et pouvant mettre en péril la santé de l'animal inutilement.

Les intervalles choisis pour cette question correspondent à un traitement immédiat (moins d'une heure), dans la journée (moins de 24 heures), dans les jours suivant la suspicion (1 à 3 jours) ou au-delà (plus de 3 jours). On aurait également pu simplement parler de traitement précoce (<24h) ou tardif (>48h) comme décrit dans le dossier d'AMM du Cymelarsan<sup>®</sup> (74).

Il existe une utilisation certaines des trypanocides, notamment de la mélsarsomine, dans le milieu des courses, les administrateurs pensant que le fait d'éliminer d'éventuels parasites dans le sang permettrait aux dromadaires d'être plus alertes et d'avoir de meilleures performances. Cette utilisation est souvent faite en doses réduites, en IV, et de manière très régulière pendant la saison des courses, ce qui favorise grandement le développement de résistances à cette molécule.

La pratique de transfusion aujourd'hui existante et semblant remplacer la « mode » de l'utilisation de mélsarsomine est également très délétère, car l'utilisation de la même aiguille entre les différents animaux transfusés pourrait permettre une dissémination massive du parasite parmi les animaux.

Aux Emirats, les pratiques sont très diverses et non contrôlées, car également liées à un contexte socio-politique particulier.

### **e) Prophylaxie**

En ce qui concerne les traitements préventifs, il paraît assez surprenant d'utiliser la mélsarsomine en préventif, étant donné que sa rémanence dépasse à peine les 24 heures, le traitement n'étant donc pas efficace dans la durée. De plus, l'utilisation régulière de cette molécule en préventif peut favoriser l'apparition de résistances si l'animal est infesté plus tard, lorsque les concentrations plasmatiques sont faibles.

L'isoméamidium semble moins utilisé, sûrement car il est plus difficile d'utilisation en raison de sa toxicité (8,39,72), alors qu'il apparaît comme une molécule plus intéressante à utiliser en prophylaxie.

On retrouve le problème de sous-dosage favorisant l'apparition de résistances avec les pratiques prophylactiques.

Pour les molécules recommandées en prophylaxie (isoméamidium, quinapyramine), les délais entre deux injections sont parfois plus longs que ceux de la rémanence théorique de ce molécules, ce qui peut entraîner l'apparition de nouveaux cas de trypanosomose dans le délai entre la fin de la rémanence du produit et la nouvelle injection, comme Uilenberg le suggère (72).

Le fait que la majorité des vétérinaires ne recommandent pas de mesures de quarantaine lors d'infection peut permettre la diffusion de celle-ci par des vecteurs mécaniques notamment. Cependant, en pratique, les infrastructures ne possèdent toujours pas une zone de quarantaine et la séparation des animaux peut être compliquée car les structures sont ouvertes et le vecteur peut circuler entre deux élevages proches, notamment dans les régions péri-urbaines.

La durée de la quarantaine devrait être en accord avec le délai allant de la suspicion d'infection à la vérification du statut parasitaire post-traitement, soit au minimum 3 jours d'isolement.

Il faut souligner que pour ce parasite, le plus important n'est pas forcément la désinfection, étant donné que le trypanosome est très peu résistant dans l'environnement, mais plutôt le contrôle des entrées et sorties pour éviter la dissémination du parasite.

Aux dires des personnes rencontrées aux Emirats et des éléments rapportés dans la littérature (2,14), il serait intéressant d'investiguer plus avant le rôle potentiel des tiques dans la transmission de la maladie.

## 7. Conclusion de l'étude épidémiologique

Pour conclure, ce questionnaire a permis de mettre en avant plusieurs problèmes récurrents quant à la gestion de la trypanosomose à *T. evansi* aux Emirats, qui pourraient être en partie résolus par le suivi de bonnes pratiques, citées ci-après :

- Eviter l'utilisation en course des trypanocides et notamment du Cymelarsan® afin d'améliorer les performances de l'animal,
- Peser avec précision les animaux (ou utilisation de formules de calcul à défaut) afin d'utiliser la dose correspondant à l'animal pour éviter les sous-dosages,
- Uniformiser les pratiques d'utilisation des trypanocides en prophylaxie ou traitement curatif, en privilégiant la bonne voie d'administration et le respect des délais entre deux administrations,
- Ne pas utiliser des molécules curatives en préventif,
- Privilégier l'utilisation d'autres trypanocides de classe thérapeutique différente face à un phénomène de résistance,
- Améliorer la prévention : il n'est pas toujours possible d'enfermer les animaux pour éviter le contact avec le vecteur, mais il faudrait utiliser un matériel stérile à usage unique, ainsi que le port de gants pour les interventions faites sur les animaux, isoler les animaux malades loin des autres quand cela est possible, et former les techniciens sur cette maladie afin que les mesures soient comprises et respectées,
- améliorer les technique et la disponibilité des examens complémentaires (sensibilité, spécificité, coût, rapidité) pour qu'ils soient mieux et plus généralement employés,
- s'assurer de la qualité des fournisseurs et conserver le produit une fois acheté dans les conditions adéquates, autant que faire se peut,
- plus généralement proposer des sessions de formation dédiées pour les éleveurs, les vétérinaires et les techniciens.

## ***C. Détermination d'un protocole expérimental à mettre en place pour tester la résistance des souches de terrain à la mélarsomine aux Emirats***

### **1. Objectifs**

Les objectifs de la mise en place de notre protocole expérimental sont les suivants :

- confirmer expérimentalement une résistance à la mélarsomine
- trouver un trypanocide alternatif en cas de résistance avérée.

### **2. Matériel et méthode**

#### **a) Mise en évidence de souches résistantes**

##### **(1) Sélection des souches et multiplication du parasite**

On sélectionne 3 souche dite « résistantes » (les critères de résistance choisis pourraient être une souche provoquant plus de 50% d'échec de traitement, ou plus simplement une souche qui semble résistante en pratique via des observations de terrain), et une souche dite « sensible » (les critères choisis pourraient être une souche sensible au traitement classique, peu virulente), conservées dans l'azote liquide après récolte sur des animaux infectés puis on cultive et multiplie ces souches par une inoculation dans des rats (plus faciles à infecter que les souris) de laboratoire : inoculation et multiplication sur souris par souche d'après le protocole expliqué en partie I.E.5.c)(2), une prise de sang est réalisée à la veine caudale latérale tous les jours pendant 60 jours comme décrit par Njiru *et al.* (28).

Comme décrit par Amer *et al.* (21), les animaux infectés sont ensuite euthanasiés, et les parasites sont récoltés par ponction cardiaque puis le sang est placé dans des tubes héparinés. Les trypanosomes sont isolés sur une matrice de DEAE cellulose par chromatographie par échange d'anions (maECT). Ils sont mis en suspension à la concentration de  $10^7$  trypanosomes/ml. Chaque isolat a un numéro attribué.

##### **(2) Traitement des animaux et évaluation de la résistance**

Pour chaque souche : on forme 3 groupes de rats de laboratoire :

- le groupe 1 sera infecté et traité,
- le groupe 2 sera infecté mais non traité (témoin positif),
- le groupe 3 forme le groupe témoin négatif qui ne sera pas infecté ni traité.

A J0, 1 ml de sang en IV à la dose de  $10^7$  trypanosomes/ml (quantification par PCR quantitative (TBR si possible) est inoculé aux groupes 1 et 2.

Une première vérification du statut parasitaire est réalisée à J15 par méthode microscopique (méthode de Murray ou de Woo) et PCR TBR. Le groupe 1 est traité à J16 avec du Cymelarsan à la dose de 2,5 mg/kg en IM (les doses testées et apparemment efficaces chez la souris sont les suivantes : 2,5 et 5 mg/kg dans l'étude d'Anene *et al.* (85), des doses de 0, 3125 à 10 mg/kg dans l'étude de Jennings (77)), les autres groupes ne sont pas traités.

A J17, 1 ml de sang est prélevé sur chaque animal par ponction à la veine caudale latérale (les capillaires périphériques seraient trop difficiles à prélever) puis analysé par méthode microscopique (méthode de Murray ou de Woo) et PCR TBR, afin de vérifier le statut parasitaire post-traitement.



Cette vérification est faite quotidiennement la première semaine puis trois fois par semaine jusqu'à 60 jours post-traitement (74) afin d'affirmer ou non si l'individu est infecté. Les animaux sont ensuite euthanasiés et autopsiés.

Un animal sera considéré comme guéri lorsqu'il sera négatif aux tests à partir de 5 jours après le traitement, et jusqu'à la fin de l'étude (74).

Un suivi de poids est réalisé quotidiennement pendant toute la durée de l'étude.

Un suivi de l'hémogramme est réalisé une semaine avant l'infection, à J0 avant inoculation des parasites, puis en même temps que les contrôles parasitaires.

On évaluera si l'on trouve une différence significative entre les groupes traités ou non, avant et après traitement, pour les 4 souches, et on évaluera la sensibilité au traitement de chaque souche, c'est-à-dire le nombre d'animaux ayant répondu au traitement. Une souche sera considérée résistante si plus de 50% des animaux sont toujours parasités après traitement par exemple.

Ces premiers protocoles seraient réalisés sur des rats, afin d'avoir des conditions environnementales plus facilement maîtrisées pour exclure les cas de réinfections ou les variations des réponses dont la cause serait environnementale. Cependant, les tests de sensibilité faits sur rongeurs de laboratoire peuvent servir de guide concernant la sensibilité du parasite, mais ne peuvent pas servir pour estimer des posologies chez les gros animaux (85), ce pourquoi le protocole suivant serait directement réalisé sur les dromadaires infectés par les souches résistantes.

### **b) Détermination d'un traitement adéquat pour les souches résistantes**

La ou les souches étudiées précédemment, sont traitées en parallèle sur les dromadaires infectés (d'où provient la souche résistante) avec différents traitements. On considère que les dromadaires infectés d'une même zone sont infectés par la même souche.

3 traitements sont testés sur des groupes différents A, B, C et D :

- groupe A à 5 mg/kg de sulfate et chlorure de quinapyramine
- groupe B à 1 mg/kg de chlorure d'isométymidium
- groupe C à 0,25 mg/kg de mélarsomine
- groupe D à 7 mg/kg de diminazène

Il serait intéressant de tester également la trybizine, nouvelle molécule trypanocide en développement (19), mais trop peu de données sont disponibles actuellement pour proposer une posologie à tester chez le dromadaire.

Pour chaque groupe, 3 sous-groupes (1, 2 et 3) sont composés :

- le groupe 1 est un groupe infecté par la souche résistante traité à J1 à la dose correspondant au groupe
- le groupe 2 est infecté mais non traité
- le groupe 3 n'est ni infecté, ni traité.

A J1, les animaux des groupes 1 sont traités. A J2, un échantillon sanguin est prélevé comme précédemment pour être analysé par méthode microscopique (méthode de Murray ou de Woo) et PCR TBR, afin de vérifier le statut parasitologique après traitement. Cette vérification est faite quotidiennement la première semaine puis 3 fois par semaine jusqu'à 60 jours post-traitement (74) afin d'affirmer ou non si l'individu est infecté.

Un suivi de poids est réalisé de manière hebdomadaire pendant toute la durée de l'étude.  
Un suivi de l'hémogramme est réalisé une semaine avant l'étude, à J0, puis en même temps que les contrôles parasitaires.

On évaluera si l'on trouve une différence significative entre les groupes traités ou non, avant et après traitement, pour les 4 traitements, et si un des traitements est efficace ou non sur les souches trouvées résistantes par les protocoles précédents, c'est-à-dire si plus de 90% des effectifs sont négatifs au contrôle parasitologique après traitement.

### **c) Conditions d'expérimentation**

Concernant les animaux de laboratoire, ils seraient achetés dépourvu de toute autre affection, adultes, de sexe mâle ou femelle, hébergés en cages individuelles, et l'environnement (température, luminosité, hygrométrie, pas de contamination extérieure), la nourriture et l'eau (distribution *ad libitum*, qualité, distribution) seraient contrôlés, le but étant d'obtenir un environnement dépourvu de vecteur potentiel. Les animaux seraient introduits dans cet environnement deux semaines avant le début du protocole afin de les y habituer.

Les dromadaires sont maintenus dans des conditions où une réinfection n'est pas possible (normes d'hygiène strictes, pas de contact entre les animaux, bâtiments fermés ou ouverts avec moustiquaires, lampes UV et insecticides vaporisés régulièrement selon leur rémanence).

La mortalité, le poids, l'activité et la prise alimentaire seraient contrôlés quotidiennement pour tous les animaux.

## **3. Conclusion sur les protocoles proposés**

Ces protocoles sont une proposition de mise en évidence de résistances à la mélarsomine et possibilités de traitement, mais ils n'ont pu être réalisés dans le cadre de cette thèse en raison des financements, des autorisations nécessaires et du temps requis afin de les mettre en œuvre.

L'étude *in vivo* indispensable devra s'accompagner de données *in vitro* sur les mécanismes cellulaires de la résistance afin de mieux comprendre et d'adapter les traitements.

## CONCLUSION

Le surra, ou trypanosomose à *T. evansi* est une maladie parasitaire affectant le dromadaire dans de nombreuses régions du monde.

Du fait de son large spectre d'hôtes, de ses capacités de variations antigéniques, de son mode de transmission mécanique, des nombreux portages chroniques ou asymptomatiques, le surra possède toutes les clefs épidémiologiques à son expansion mondiale, ce pourquoi il est primordial de considérer l'importance de cette maladie et d'envisager des méthodes de lutte alternatives ou complémentaires des méthodes médicamenteuses afin de limiter son extension. Le contexte du changement climatique global est également favorable à son expansion.

Comme c'est le cas dans d'autres pays, nous avons pu mettre en lumière aux Emirats différentes pratiques à risque, pouvant favoriser un mauvais contrôle de la maladie voire le développement de résistances aux trypanocides utilisés : un sous-dosage des molécules, une diversité des pratiques concernant l'utilisation des trypanocides en prophylaxie ou en curatif, avec une variabilité des intervalles entre deux injections, parfois un non-respect de bonnes pratiques d'hygiène, ou encore l'utilisation de molécules curatives en préventif, ou l'utilisation de trypanocides pour l'amélioration de performances de dromadaires en course par exemple.

Les méthodes, diagnostiques, prophylactiques et curatives, peuvent être améliorées afin de lutter de manière plus efficace contre cette maladie, dont l'impact économique est non négligeable, notamment dans les troupeaux de dromadaires, espèce très sensible au parasite.

Un usage raisonné des molécules trypanocides utilisées est essentiel pour freiner le développement de chimiorésistances et permettre ainsi une lutte pérenne contre le parasite.

La trypanosomose à *Trypanosoma evansi* laisse aujourd'hui de nombreuses zones d'ombres, qui restent à explorer dans les années à venir, abordables par différents axes de recherche : la mise en application de tests standardisés et validés à la fois à l'échelle régionale et locale, la mise en évidence des différents vecteurs impliqués dans la transmission de la maladie selon le contexte écologique, une meilleure compréhension du processus de transmission mécanique en situation d'endémie et d'épidémie mais aussi l'exploration de la transmission verticale, l'amélioration du contrôle des vecteurs dans la gestion de la trypanosomose, la détermination de l'efficacité réelle des différents trypanocides existants à l'heure actuelle et l'investigation des mécanismes de résistance du trypanosome à ces médicaments, la mise en évidence des facteurs favorisant le déclenchement d'une épidémie, la mise en évidence du rôle de la faune sauvage dans l'épidémiologie de la maladie (1) sont autant de sujets qui sont méconnus actuellement.



# BIBLIOGRAPHIE

1. Enwezor FNC, Sackey AKB. Camel trypanosomosis - a review. *Vet Arh.* 2005;75(5):439-52.
2. Antoine-Moussiaux N, Desmecht D. Epidémiologie de l'infection par *Trypanosoma evansi*. *Ann Médecine Vét.* 2008;152:191-201.
3. Desquesnes M, Holzmuller P, Lai D-H, Dargantes A, Lun Z-R, Jittaplapong S. *Trypanosoma evansi* and Surra: A Review and Perspectives on Origin, History, Distribution, Taxonomy, Morphology, Hosts, and Pathogenic Effects. *BioMed Res Int.* 2013. p. 1-22.
4. Fowler ME, Bravo PW. Chapter 8 : Parasites. In: *Medicine and surgery of camelids*. Third edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2010. p. 248-9.
5. Uilenberg G. Chapter 5 : Non tsetse-transmitted trypanosomoses. In: *A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of african animal trypanosomosis*. Paperback. Food and Agriculture Organisation of the United Nations; 1998. p. 135-41.
6. OIE - World Organisation for Animal Health. Chapter 2.1.21 *Trypanosma evansi* infection (surra). In: *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals*. Paris: OIE; 2017. p. 314-28.
7. Vergne T. Epidémiologie de *Trypanosoma evansi* en Thaïlande : Etudes expérimentales de la transmission vectorielle par les sangsues et les tiques. Thaïlande: CIRAD; 2009, p. 56.
8. Röttcher D, Schillinger D, Zweygarth E. Trypanosomiasis in the camel (*Camelus dromedarius*). *Rev Sci Tech Off Int Epizoot.* 1987;6(2):463-70.
9. Dia ML, Desquesnes M. Utilisation rationnelle des trypanocides. CIRDES - Unité de recherche sur les bases biologiques de la lutte intégrée; 2007.
10. Desquesnes M, Dargantes A, Lai D-H, Lun Z-R, Holzmuller P, Jittapalapong S. *Trypanosoma evansi* and Surra: A Review and Perspectives on Transmission, Epidemiology and Control, Impact, and Zoonotic Aspects. *BioMed Res Int.* 2013. p. 1-20.
11. Uilenberg G. Chapter 2 : African animal trypanosomosis. In: *A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of african animal trypanosomosis*. Paperback. Food and Agriculture Organisation of the United Nations; 1998. p. 43-58.
12. Uilenberg G. Introduction. In: *A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of african animal trypanosomosis*. Paperback. Food and Agriculture Organisation of the United Nations; 1998. p. 1-10.
13. Uilenberg G. Chapter 1 : African Animal Trypanosomes. In: *A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of african animal trypanosomosis*. Paperback. Food and Agriculture Organisation of the United Nations; 1998. p. 11-42.
14. Sobhy HM, Barghash SM, Behour TS, Razin EA. Seasonal fluctuation of trypanosomiasis in camels in North-West Egypt and effect of age, sex, location, health status and vector abundance on the prevalence. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences.* 2017; 6:64-8.
15. *Trypanosoma evansii* [Internet]. Interim Register Marine and Nonmarine Genera. [cité 4 juill 2018]. Disponible sur: <http://www.irmng.org/aphia.php?p=taxdetails&id=11875619>
16. *Trypanosoma evansi* - Classifications - Encyclopedia of Life [Internet]. Encyclopedia of Life. [cité 5 mars 2018]. Disponible sur: <http://eol.org/pages/10566795/names>
17. *Trypanosoma evansi* [Internet]. Taxonomy Browser - National Center for Biotechnology Information. [cité 4 juill 2018]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5697&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>

18. Ruggiero MA, Gordon DP, Orrell TM, Bailly N, Bourgoin T, Brusca RC, et al. A Higher Level Classification of All Living Organisms. PLoS ONE. 2015;10(4):60.
19. Desquesnes M. Livestock Trypanosomoses and their Vectors in Latin America. World Organisation for Animal Health (OIE); 2004.
20. Wen Y-Z, Lun Z-R, Zhu X-Q, Hide G, Lai D-H. Further evidence from SSCP and ITS DNA sequencing support *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma equiperdum* as subspecies or even strains of *Trypanosoma brucei*. Infection, Genetics and Evolution. 2016;41:56-62.
21. Amer S, Ryu O, Tada C, Fukuda Y, Inoue N, Nakai Y. Molecular identification and phylogenetic analysis of *Trypanosoma evansi* from dromedary camels (*Camelus dromedarius*) in Egypt, a pilot study. Acta Trop. 2010;117(2011):39-46.
22. Njiru ZK, Constantine CC, Masiga DK, Reid SA, Thompson RCA, Gibson WC. Characterization of *Trypanosoma evansi* type B. Infection, Genetics and Evolution. 2006;6:292-300.
23. Sánchez E, Perrone T, Recchimuzzi G, Cardozo I, Biteau N, Aso P, et al. Molecular characterization and classification of *Trypanosoma* spp. Venezuelan isolates based on microsatellite markers and kinetoplast maxicircle genes. Parasit Vectors. 2015;8(536):11.
24. Uilenberg G. Chapter 3 : Diagnosis. In: A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of african animal trypanosomosis. Paperback. Food and Agriculture Organisation of the United Nations; 1998. p. 59-87.
25. Laveissière C, Penchenier C. Glossaire. In: Manuel de lutte contre la maladie du sommeil. IRD Éditions; 2017. p. 24.
26. Desquesnes M. Recueil des protocoles standardisés des techniques de diagnostic des trypanosomoses animales d'origine africaine. Laboratoire de Référence de l'OIE sur les Trypanosomoses Animales d'Origine Africaine; 2017.
27. Gibson W. Sex and evolution in trypanosomes. Int J Parasitol. 2001;31(5-6):643-7.
28. Njiru ZK, Constantine CC, Ndung'u JM, Robertson I, Okaye S, Thompson RCA, et al. Detection of *Trypanosoma evansi* in camels using PCR and CATT/T. *evansi* tests in Kenya. Veterinary Parasitology. 2004;124:187-99.
29. Singh N, Pathak KML, Kumar R. A comparative evaluation of parasitological, serological and DNA amplification methods for diagnosis of natural *Trypanosoma evansi* infection in camels. Veterinary Parasitology. 2004;126:365-73.
30. Berlin D, Nasereddin A, Azmi K, Ereqat S, Abdeen Z, Baneth G. Longitudinal study of an outbreak of *Trypanosoma evansi* infection in equids and dromedary camels in Israel. Veterinary Parasitology. 2010;174:317-22.
31. Fikru R, Andualem Y, Andualem T, Menten J, Hasker E, Merga B, et al. Trypanosome infection in dromedary camels in Eastern Ethiopia: Prevalence, relative performance of diagnostic tools and host related risk factors. Vet Parasitol. 2015;211(3-4):175-81.
32. Gutierrez C, Corbera JA, Juste MC, Doreste F, Morales I. An outbreak of abortions and high neonatal mortality associated with *Trypanosoma evansi* infection in dromedary camels in the Canary Islands. Veterinary Parasitology. 2005;130:163-8.
33. Gutierrez C, Desquesnes M, Touratier L, Büscher P. *Trypanosoma evansi* : Recent outbreaks in Europe. Veterinary Parasitology. 2010;174:26-9.
34. Kumar R, Kumar S, Virmani N, Chandra Yadav S. Transplacental Transmission of *Trypanosoma evansi* From Experimentally Infected Donkey Mare to Neonatal Foal. Journal of Equine Veterinary Science. 2015;35:337-41.

35. Birhanu H, Rogé S, Simon T, Baelmans R, Gebrehiwot T, Goddeeris BM, et al. Surra Sero K-SeT, a new immunochromatographic test for serodiagnosis of *Trypanosoma evansi* infection in domestic animals. *Vet Parasitol.* 2015;211(3-4):153-7.
36. Schuster RK, Sivakumar S, Kinne J. Parasites in camels in the United Arab Emirates. Proceedings of the International Conference dedicated to 95 Anniversary of the Cathedra Parasitology and Veterinary Sanitary Hygiene, Zoovetkniga, Moscow; 2015.
37. Habila N, Inuwa MH, Aimola IA, Udeh MU, Haruna E. Pathogenic mechanisms of *Trypanosoma evansi* infections. *Research in Veterinary Science.* 2012;93:13-7.
38. Gutierrez C, Tamarit A, González-Martín M, Tejedor-Junco MT. Control and eventual eradication of *Trypanosoma evansi* infection in dromedary camels after an episodic outbreak in mainland Spain: An example in a non-endemic area. *Veterinary Parasitology.* 2014;204:153-7.
39. Tager-Kagan P, Itard J, Clair M. Essai de l'efficacité du CymelarsanND\* sur *Trypanosoma evansi* chez le dromadaire. *Revue Elev Méd vét Pays trop.* 1989;1(42):55-61.
40. Musa MM, Abdoon AMO, Nasir BT, Salim YI, Abdel-Rahman AY, Shommein AM. Efficacy of Cymelarsan in the treatment of natural chronic *Trypanosoma evansi* infection in camels in the Sudan. *Revue Elev Méd vét Pays trop.* 1994;47(4):397-400.
41. Kundu K, Tewari AK, Kurup SP, Baidya S, Rao JR, Joshi P. Sero-surveillance for surra in cattle using native surface glycoprotein antigen from *Trypanosoma evansi*. *Vet Parasitol.* 2013;196(3-4):258-64.
42. Saleh MA, Bassam Al-Salahy M, Sanousi SA. Oxidative stress in blood of camels (*Camelus dromedarius*) naturally infected with *Trypanosoma evansi*. *Veterinary Parasitology.* 2009;162:192-9.
43. Gutierrez C, Corbera JA, Juste MC, Doreste F, Morales I. Clinical, Hematological, and Biochemical Findings in an Outbreak of Abortion and Neonatal Mortality Associated with *Trypanosoma evansi* Infection in Dromedary Camels. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1081(1):325-7.
44. Neame H. Parenchymatous keratitis in trypanosomiasis in cattle and in dogs, and in man. *The British Journal of Ophthalmology.* 1927;209-16.
45. Fowler ME, Bravo PW. Chapter 9 : Multisystem Disorders. In: *Medicine and surgery of camelids.* Third edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2010. p. 271-88.
46. Fowler ME, Bravo PW. Chapter 1 : General biology and Evolution. In: *Medicine and surgery of camelids.* Third edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2010. p. 3-16.
47. Fowler ME. Husbandry and diseases of camelids. *Rev Sci Tech Off Int Epizoot.* 1996;15(1):155-69.
48. Dromedary - *Camelus dromedarius* - Overview [Internet]. *Encyclopedia of Life.* [cité 9 avr 2018]. Disponible sur: <http://eol.org/pages/309019/overview>
49. Abdelfattah A, Bottomlay N, Hamed SMA, Brown G, Javed S, Gardner D, et al. Terrestrial environments of Abu Dhabi Emirate, United Arab Emirates. Environmental Agency-Abu Dhabi. Richard J. Perry; 2008. 130 p.
50. Fowler ME, Bravo PW. Chapter 17 : Reproduction. In: *Medicine and surgery of camelids.* Third edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2010. p. 429-78.
51. Fowler ME, Bravo PW. Chapter 2 : Feeding and nutrition. In: *Medicine and surgery of camelids.* Third edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2010. p. 17-58.
52. Abbas B, Al Qarawi AA, Al Hawas A. Survey on camel husbandry in Qassim region, Saudi Arabia: Herding strategies, productivity and mortality. *Rev Elev Méd Vét Pays Trop.* 2000;53(3):293-8.
53. Zarrouk A, Souilem O, Beckers JF. Actualités sur la reproduction chez la femelle dromadaire (*Camelus dromedarius*). *Rev Elev Méd Vét Pays Trop.* 2003;56(1-2):95-102.

54. Abd-Elnaeim MM, Pfarrer C, Saber AS, Abou-Elmagd A, Jones CJP, Leiser R. Fetomaternal Attachment and Anchorage in the Early Diffuse Epitheliochorial Placenta of the Camel (*Camelus dromedarius*). *Cells Tissues Organs*. 1999;164:141-54.
55. Fowler ME, Bravo PW. Chapter 4 : Clinical diagnosis : Examination and Procedures. In: *Medicine and surgery of camelids*. Third edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2010. p. 89-110.
56. Zelleke D, Kassa B, Abebe S. Efficacy of RM110, a novel trypanocide, in the treatment of *Trypanosoma evansi* infections in camels. *Trop Anim Hlth Prod*. 1989;21:223-6.
57. Uilenberg G. Practical tips for field personnel. In: *A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of african animal trypanosomosis*. Paperback. Food and Agriculture Organisation of the United Nations; 1998. p. 141-51.
58. Fowler ME, Bravo PW. Chapter 15 : Hemic and Lymphatic Systems. In: *Medicine and surgery of camelids*. Third edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2010. p. 416-22.
59. Ministry of Environment & Climate Change (MOECC). The United Arab Emirates (UAE) Country Presentation. GFTADS Sub-regional Conference on Camel Diseases; 2016 févr 14; Abu Dhabi, United Arab Emirats.
60. Central Veterinary Research Laboratory. CVRL 31st Annual Report. Dubaï, Emirats Arabes Unis: Central Veterinary Research Laboratory; 2017 p. 69.
61. WHO | Low-cost tools for diagnosing and monitoring HIV infection in low-resource settings [Internet]. WHO. [cité 1 avr 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/bulletin/volumes/90/12/12-102780/en/>
62. Monzon CM, Mancebo OA, Roux JP. Comparison Between Six Parasitological Methods for Diagnosis of *Trypanosoma evansi* in the Subtropical Area of Argentina. *Vet Parasitol*. 1990;36:141-6.
63. Pathak KML, Singh Y, Meirvenne NV, Kapoor M. Evaluation of various diagnostic techniques for *Trypanosoma evansi* infections in naturally infected camels. *Vet Parasitol*. 1997;69:49-54.
64. Sagar A. Differences Between Thick Blood Smear and Thin Blood Smear [Internet]. *Online Microbiology Notes*. 2015 [cité 28 mars 2018]. Disponible sur: <https://microbiologyinfo.com/differences-between-thick-blood-smear-and-thin-blood-smear/>
65. Lumsden WHR, Kimber CD, Dukes P, Haller L, Stanghellini A, Duvallet G. Field diagnosis of sleeping sickness in the ivory Coast. I. Comparison of the miniature anion-exchange/centrifugation technique with other protozoological methods. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1981;75(2):242-50.
66. Holland WG, Claes F, My LN, Thanh NG, Tam PT, Verloo D, et al. A comparative evaluation of parasitological tests and a PCR for *Trypanosoma evansi* diagnosis in experimentally infected water buffaloes. *Vet Parasitol*. 2001;97(1):23-33.
67. mini Anion Exchange Centrifugation Technique (mAECT) Model IMT – INRB For separation of trypanosomes from venous blood. Institut National de Recherche Biomédicale INRB & Institute of tropical medicine ANTWERP; 2008.
68. Lumsden WHR, Kimber CD, Evans DA, Doig SJ. *Trypanosoma brucei*: miniature anion-exchange centrifugation technique for detection of low parasitaemias: adaptation for field use. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1979;73(3):312-7.
69. Dia ML, Van Meirvenne N, Magnus E, Luckins AG, Diop C, Thiam A, et al. Evaluation de quatre tests de diagnostic : frottis sanguins, CATT, IFI et ELISA-Ag dans l'étude de l'épidémiologie de la trypanosomose cameline à *Trypanosoma evansi* en Mauritanie. *Rev Elev Méd Vét Pays Trop*. 1997;50(1):29-36.
70. Van Meirvenne N, Magnus E, Buscher P. Evaluation of variant specific trypanolysis tests for serodiagnosis of human infections with *Trypanosoma brucei gambiense*. *Acta Trop*. 1995;60(3):189-99.



71. Ashour AA, Abou El-Naga TR, Barghash SM, Salama MS. Trypanosoma evansi: Detection of Trypanosoma evansi DNA in naturally and experimentally infected animals using TBR1 & TBR2 primers. *Exp Parasitol.* 2013;134:109-14.
72. Uilenberg G. Chapter 4 : Control. In: A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of african animal trypanosomosis. Paperback. Food and Agriculture Organisation of the United Nations; 1998. p. 87-135.
73. Friedheim E. Melaminylthioarsenites. The Rockefeller Univeristy, New York; 4 514 390. p. 7.
74. Cymelarsan 100 mg : Synthèse du dossier pharmacotoxicologique. Merial; 1992.
75. Berger BJ, Fairlamb AH. Properties of Melarsamine Hydrochloride (Cymelarsan) in Aqueous Solution. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994;38(6):1298-302.
76. Calculation of molecular properties and bioactivity score - melarsomine [Internet]. molinspiration. [cité 24 août 2018]. Disponible sur: <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>
77. Jennings FW. Relative efficacy of melarsen oxide compared with mel Cy (Cymelarsan) when used in combination with difluoromethylornithine in the treatment of trypanosomiasis of the central nervous system. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 1992;86:257-8.
78. Couturier J-C. Contribution à la détermination de paramètres physicochimiques de dérivés arsenicaux du melarsen [thèse d'exercice pour le diplôme d'Etat de docteur en pharmacie]. [Limoges]: Université de Limoges; 1992.
79. Cysteamine Hydrochloride - DrugBank [Internet]. Drugbank. [cité 24 août 2018]. Disponible sur: <https://www.drugbank.ca/salts/DBSALT000033>
80. Calculation of molecular properties and bioactivity score - melarsen oxide [Internet]. molinspiration. [cité 24 août 2018]. Disponible sur: <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>
81. Giordani F, Morrison LJ, Rowan TG, De Koning HP, Barrett MP. The animal trypanosomiasis and their chemotherapy: a review. *Parasitology.* 2016;143:1862-89.
82. Résumé des caractéristiques du produit : Immiticide. ANSES; 2013.
83. Cymelarsan : Summary of clinical file. Merial; 1992.
84. Plumb DC. Melarsomine. In: Plumb's Veterinary Drug Handbook: Desk Edition. 6ème édition. Wiley-Blackwell; 2008. p. 571-2.
85. Anene BM, Ogbuanya CE, Mbah ES, Ezeokonkwo RC. Preliminary efficacy trial of Cymelarsan in dogs and mice artificially infected with Trypanosoma brucei isolated from dogs in Nigeria. *Rev Elev Méd Vét Pays Trop.* 1999;52(2):123-8.
86. Pubchem. Diminazene aceturate [Internet]. [cité 14 juill 2018]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/65060>
87. Peregrine AS, Mamman M. Pharmacology of diminazene : a review. *Acta Tropica.* 1993;54:183-203.
88. Calculation of molecular properties and bioactivity score - diminazene aceturate [Internet]. molinspiration. [cité 28 août 2018]. Disponible sur: <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>
89. Diminazene - Drugbank [Internet]. Drugbank. [cité 28 août 2018]. Disponible sur: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB03608>
90. Akode RM, Shantier SW, Gadkariem EA, Mohamed MA. Simultaneous Determination and Stability Studies on Diminazene Diacetate and Phenazone Using Developed Derivative Spectrophotometric Method. *International Journal of Analytical Chemistry.* 2017;6.

91. Miller DM, Swan GE, Lobetti RG, Jacobson LS. The pharmacokinetics of diminazene aceturate after intramuscular administration in healthy dogs. *J S Afr Vet Assoc.* 2005;76(3):146-50.
92. Kinabo LDB. Pharmacology of existing drugs for animal trypanosomiasis. *Acta Tropica.* 1993;54:169-83.
93. Manuja A, Rathore NS, Kumar S, Kumar B, Pandita D, Chopra M. Development and validation of high performance liquid chromatography UV-visible spectrometry method for the detection of quinapyramine sulfate in rabbit plasma. *World J Pharm Pharm Sci.* 2015;4(8):666-73.
94. Pubchem. Quinapyramine sulphate [Internet]. [cité 15 juill 2018]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/71307108>
95. Pubchem. Quinapyramine dichloride [Internet]. [cité 15 juill 2018]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/21115164>
96. Calculation of molecular properties and bioactivity score - quinapyramine [Internet]. molinspiration. [cité 28 août 2018]. Disponible sur: <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>
97. Calculation of molecular properties and bioactivity score - isometamidium chloride [Internet]. molinspiration. [cité 28 août 2018]. Disponible sur: <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>
98. Amaral RG, Baldissera MD, Grando TH, Couto JCM, Posser CP, Ramos AP, et al. Combination of the essential oil constituents  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -caryophyllene as a potentiator of trypanocidal action on *Trypanosoma evansi*. *J Appl Biomed.* 2016;14(4):265-72.
99. Baldissera MD, Grando TH, de Souza CF, Cossetin LF, da Silva APT, Giongo JL, et al. A nanotechnology based new approach for *Trypanosoma evansi* chemotherapy: In vitro and vivo trypanocidal effect of (-)- $\alpha$ -bisabolol. *Experimental Parasitology.* 2016;170:156-60.
100. Dalla Rosa L, Da Silva AS, Oliveira CB, Gressler LT, Arnold CB, Baldissera MD, et al. Dose finding of 3'-deoxyadenosine and deoxycoformycin for the treatment of *Trypanosoma evansi* infection: An effective and nontoxic dose. *Microbial Pathogenesis.* 2015;85:21-8.
101. Mahdi YS, Falih IB, Zaid NW. Toxicological effects of cypermethrin on sperm morphology in male rabbit. *International J Adv Res Biol Sci.* 2016;3(10):46-51.
102. Arab states have more than 15m camels [Internet]. Emirates24|7. 400apr. J.-C. [cité 31 août 2018]. Disponible sur: <https://www.emirates247.com/news/emirates/arab-states-have-more-than-15m-camels-2010-08-15-1.279224>
103. White WB. Importance of Blood Pressure Control Over a 24-Hour Period. *J Manag Care Pharm.* oct 2007;13(8 Supp B):34-9.

# ANNEXES

## Annexe 1 : Caractéristiques des amorces les plus pertinentes pouvant être utilisées en PCR pour identifier *T. evansi*, modifié d'après (26,31)

Spectre de détection	Nom de l'amorce	Séquence de l'amorce	Localisation	Taille des produits (pb)	Température d'hybridation (°C)	Référence
<b>PCR monospécifiques</b>						
<i>T. evansi</i>	RoTat1.2F	5' GCGGGGTGTTTAAAGCAATA 3'	ADN génomique (VSG)	205	59	(26)
	RoTat1.2R	5' ATTAGTGCTGCGTGTGTTTCG 3'				
<i>T. evansi</i> type B	EVAB-1	5' ACAGTCCGAGAGATAGAG 3'	Minicercles	436	60	(22,31)
	EVAB-2	5' CTGTACTCTACATCTACCTC 3'				
<i>Trypanozoon</i>	TBR1	5' CGAATGAATATTAACAATGCGCAG 3'	ADN satellite	173	55	(26)
	TBR2	5' AGAACCATTATTAGCTTTGTTGC 3'				



## Trypanosoma treatment questionnaire

---

August 2017 - Julie MERLIN - 4th year student in french veterinary school Vetagro Sup (campus vétérinaire de Lyon) - julie.merlin@vetagro-sup.fr - (+33)630076023

**Doctor,**

*Carrying out my thesis on the treatment of Trypanosoma evansi in dromedary camels, I have made the following questionnaire to know more about the epidemiology, detection, treatment and prevention of trypanosomiasis, based on the experience you have on the Surra.*

*I hope you could help me to answer these questions raised by my researches and reports, it will take you about **10 minutes**.*

### I/ TRYPANOSOMA EPIDEMIOLOGY :

1. Can you estimate the prevalence of *Trypanosoma evansi* infection in dromedary camels this year ?

<5%       5-10%       10-25%       >25%

- what is the mortality rate in Surra in camels ?

.....

2. How is this prevalence evolving compared to last years ?

increase       decrease       the same

3. Do you notice an influence of the season on the trypanosoma infection prevalence ?

yes       no

- *If yes*, when is the prevalence the higher ?

between November and April       between May and October

4. Do you notice an influence of the animal gender on the trypanosoma infection prevalence ?

yes       no

- *If yes*, is the prevalence higher in male or female dromedary camel ?

male       female

5. Do you notice an influence of the animal age on the trypanosoma infection prevalence ?

yes       no

- *If yes*, when is the prevalence higher ?

< 1 year old       1-4       4-10       > 10 years old

6. Do you notice an influence of the animal physiological status (pregnancy, growth, female in heat...) on the trypanosoma infection prevalence ?

yes       no

- *If yes*, when is the prevalence higher ?

growth       pregnancy       female in heat  
 male in rut       sick or immunodeficient animal

# Trypanosoma treatment questionnaire

August 2017 - Julie MERLIN - 4th year student in french veterinary school Vetagro Sup (campus vétérinaire de Lyon) - julie.merlin@vetagro-sup.fr - (+33)630076023

7. Do you notice any usual affection(s) associated with *Trypanosoma evansi* infection ?

- no       yes (affection(s) :.....)

8. Do you notice an influence of the dromedary camel origin (bloodline or breeder) on the trypanosoma infection prevalence these past years ?

- bloodline       breeder       neither of them

- *If yes*, in what kind of bloodline or breeding farm is the prevalence higher?

.....

9. *Using blood sample examination*, have you noticed any influence of the nycthemeral cycle on the number of parasites in the blood stream ?

- yes       no       no opinion

- *If yes*, at what time is the number of parasites on samplings :

the higher ?.....

the lower ?.....

10. Have you noticed any difference in the number of parasites in the blood stream between male and female adult dromedary camels?

- higher in male       higher in female  
 no difference       no opinion

## II/ TRYPANOSOMA INFECTION DETECTION :

1. Can you rank the clinical signs usually associated with trypanosoma infection in dromedary camel (1 is the more frequent sign, 10 the less frequent)?

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> without clinical sign       | <input type="checkbox"/> lameness           |
| <input type="checkbox"/> abortion or premature birth | <input type="checkbox"/> neurological signs |
| <input type="checkbox"/> anorexia                    | <input type="checkbox"/> fever              |
| <input type="checkbox"/> exercise intolerance        | <input type="checkbox"/> decubitus          |
| <input type="checkbox"/> oedema                      | <input type="checkbox"/> other signs :..... |

- Have you ever notice some corneal opacity in camels infected with Surra ?

- yes       no

- Have you ever notice some photosensitivity (camels avoiding the sun) in camels infected with Surra ?

- yes       no

## Trypanosoma treatment questionnaire

---

August 2017 - Julie MERLIN - 4th year student in french veterinary school Vetagro Sup (campus vétérinaire de Lyon) - julie.merlin@vetagro-sup.fr - (+33)630076023

2. Do you make some complementary exams to diagnose a *Trypanosoma evansi* infection in dromedary camels ?

Never     Sometimes     Most of the time     Systematically

- *If yes*, what kind of exams do you use ?

- microscopic identification on blood sample using blood smear
- microscopic identification on blood sample using concentration techniques (Micro-hematocrit centrifugation technique, mini-anion exchange centrifugation technique...)
- parasite culture     serological tests     histopathologic exams
- mouse or rat inoculation     molecular tests (PCR, western blot...)

3. What are your criteria to confirm a trypanosoma infection ?

.....

4. Have you noticed some changes in the trypanosoma infections these past years :

- In clinical signs ?  increase     decrease     the same
- In the number of parasites in blood ?  increase     decrease     the same
- In the seriousness of the illness (mortality or nervous forms) ?  
 increase     decrease     the same

5. *In case of a blood analysis*, what time do you spent between the sample taking and the analysis ?

< 30 min     30 min - 2h     > 2h

6. Do you do necropsy on infected camels ?

never     sometimes (less than 5 cases on 10)  
 often (more than 5 cases on 10)     always

- *If yes*, is there some macroscopic lesions visible (embolism, necrosis...) in case of trypanosoma infection ?

no     yes (type of lesions :.....)

- *If yes*, is there some microscopic lesions visible in case of trypanosoma infection ?

no     yes (type of lesions :.....)

- *If yes*, what kind of samples do you take in case of trypanosoma infection suspicion ?

blood     lymph nodes     liver     spleen  
 cerebrospinal fluid     foetus     other :.....

# Trypanosoma treatment questionnaire

August 2017 - Julie MERLIN - 4th year student in french veterinary school Vetagro Sup (campus vétérinaire de Lyon) - julie.merlin@vetagro-sup.fr - (+33)630076023

## III/ TRYPANOSOMA INFECTION TREATMENT :

1. What kind of protocol do you use to treat in first intention a trypanosoma infection in dromedary camel :

- Name of the drug(s) ?.....

- Doses used ?.....

- Way of injection ?

IM       IV       SC       per os

- Duration of treatment ?.....

- Frequency and number of treatments ?.....

- Other drugs associated (antihistamine, anti-inflammatory...) with trypanocide ?.....

- Do you use any alternative treatment (herbal medicine, red hot iron on the camel head...) ?

yes       no

• *If yes, what kind of treatment is it ?*.....

• *If yes, have you better results with alternative treatments ?*

yes       no

2. Do you check the animal parasitic status after the treatment (post-treatment analysis) ?

yes       no

- *if yes, how (method used) ?*.....

3. How many cases of reinfections or recurrences of infection have you noticed this year ?

no reinfection or recurrence

<5%       5-10%       10-25%       >25%

4. For the recurrences or reinfections cases :

- Do you use a different protocol of treatment than the first intention one ?

yes       no

- *If yes :*

- Name of the drug(s) used on these animals :.....

- Doses :.....

- How many treatments do you have to use to eliminate the parasite (the first treatment is taken into account) ?  2       3       4 or more

5. *If you use Cymelarsan<sup>®</sup>, the dose used is :*

a number of bottles per animal (precise this number from 1/4 to 3 :.....)

calculated according to the weight (precise the dose in mL/kg or the rule you use :.....)

- Are you using sterile water for diluting the powder of Cymelarsan<sup>®</sup> ?

yes       no (What are you using then ? :.....)

6. How do you estimate the weight of camels ?

no estimation       visual estimation

weigh on scales       with ribbon

- Have you ever seen the use of ribbon in the field ?

yes       no



# Trypanosoma treatment questionnaire

---

August 2017 - Julie MERLIN - 4th year student in french veterinary school Vetagro Sup (campus vétérinaire de Lyon) - julie.merlin@vetagro-sup.fr - (+33)630076023

7. When do you treat the camels ?

- as soon as you suspect a trypanosoma infection
- After further analysis or symptoms evolution : after you confirmed the infection

8. Usually, the time between the first infection suspicion and the first treatment is :

- less than 1 hour
- less than 24h
- 1-3 days
- more than 3 days

9. Are there some specific clinical signs which indicate that is too late to treat the camel ?

- prolonged decubitus
- very poor condition
- coma
- other signs : .....

10. About the use in dromedary camels races :

- Do you know if trypanocide treatments (such as Cymelarsan® ...) are used in other indication than Surra treatment ?

- yes
- no

- *If yes*, do you have any protocol example ?

.....  
- *If yes*, have you noticed any (positive or negative) side effects on the camels ?

- no
- yes, precise : .....

- Do you use or recommend Cymelarsan® for a different use than the trypanocide effect ?

- no
- yes, precise the indication : .....

11. Have you ever seen fake products in your country ?

- yes
- no

- *If yes*, is it a big issue and why?

.....

# Trypanosoma treatment questionnaire

August 2017 - Julie MERLIN - 4th year student in french veterinary school Vetagro Sup (campus vétérinaire de Lyon) - julie.merlin@vetagro-sup.fr - (+33)630076023

## IV/ TRYPANOSOMA INFECTION PREVENTION :

1. Do you prescribe preventive treatment ?

yes       no

- *If yes, when ?*

- *If yes, what protocol ?*

2. Do you recommend to quarantine the infected camels ?

yes       no       no opinion

- *If yes, how many time of quarantine do you recommend ?.....*

3. Do you recommend to disinfect :

- The quarantine area ?       yes       no

- The other premises ?       yes       no

- The equipment ?       yes       no

- *If yes, precise the protocol of disinfection (molecule, dose, frequency) :*

.....

4. Do you recommend to control the entries and exits of animals ?

yes       no

- *If yes, how do you carry out the control ?*

.....

5. Do you recommend to take measures to control the vectors of trypanosoma evansi ?

yes       no

- *If yes, what kind of method do you recommend ?*

animal staying inside the premises       UV lamps

insect traps       mosquito or fly nets

insecticide (name of the drug :.....) + dose and frequency of use : .....

other : .....

*Thank you very much to have taken some time to answer that questionnaire !*

*Best regards,*

*Julie MERLIN*



**MERLIN Julie**

**ETUDE DE LA TRYPANOSOMOSE A *TRYPANOSOMA EVANSI* CHEZ LE DROMADAIRE (*CAMELUS DROMEDARIUS*) AUX EMIRATS ARABES UNIS**

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, 12 octobre 2018

**RESUME :** La trypanosomose à *Trypanosoma evansi* est une protozoose infectieuse, à répartition mondiale, affectant un très grand nombre de mammifères. Chez le dromadaire, le « surra », qui se manifeste généralement sous une forme chronique aux signes cliniques variés, est considéré comme la maladie parasitaire la plus importante et la plus étendue mondialement. Actuellement, les stratégies de lutte contre cette trypanosomose passent principalement par l'emploi de trypanocides. Cependant, des résistances se sont développées, y compris à la mélarsomine qui est la molécule la plus récente (1985). Malheureusement, le développement de nouvelles molécules représente un retour sur investissement insuffisant pour les laboratoires. Aux Emirats Arabes Unis, les dromadaires sont en particulier utilisés pour des courses prestigieuses. Cette maladie est donc un problème récurrent dans ces élevages et la mélarsomine est un des principaux trypanocides utilisés.

Cette étude vise à analyser la situation particulière de la trypanosomose à *T. evansi* chez les dromadaire aux Emirats, dans un contexte de développement de résistance aux trypanocides, particulièrement à la mélarsomine. Basée sur une étude bibliographique, une enquête a été menée afin de déterminer le contexte épidémiologique, les méthodes diagnostiques, curatives et prophylactiques employées dans le pays pour lutter contre le parasite, suivie d'une proposition de protocole expérimental afin d'objectiver l'existence d'une résistance à la mélarsomine et déterminer un protocole adéquat pour le traitement des souches résistantes. Nous avons pu mettre en évidence plusieurs pratiques favorisant un mauvais contrôle de la trypanosomose voire le développement de résistances : un sous-dosage des trypanocides, une diversité des protocoles curatifs et prophylactiques, un non-respect des bonnes mesures d'hygiène, l'utilisation de trypanocides pour l'amélioration des performances en course, l'utilisation de molécules curatives en préventif par exemple. Une amélioration des méthodes diagnostiques, curatives et prophylactiques, ainsi qu'un usage raisonné des trypanocides pourraient permettre une meilleure maîtrise de la maladie et limiteraient le développement de résistances aux molécules utilisées aujourd'hui.

**MOTS CLES :** - dromadaire - résistance aux médicaments  
- trypanotolérance - trypanosomiase chez les animaux

**JURY :**

Président : Monsieur le Professeur Yves MATILLON  
1er Assesseur : Monsieur le Professeur Philippe BERNY  
2ème Assesseur : Monsieur le Professeur Gilles BOURDOISEAU

**DATE DE SOUTENANCE : Vendredi 12 octobre 2018**