

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2009 - Thèse n°



TIQUES POTENTIELLEMENT VECTRICES DE L'ANAPLASMOSE GRANULOCYTAIRE EQUINE EN CAMARGUE

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 30 Janvier 2009
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Moulin Elsa
Née le 11 mars 1983
à Montélimar



DEPARTEMENT ET CORPS ENSEIGNANT DE LIENVL

Directeur : Stéphane MARTINOT

Mise à jour : 20/03/2008

	PREX	PR 1	PR 2	ISPV,MC, MC(HC)	Contractuel, Associé, IPAC	Praticiens hospitaliers
DEPARTEMENT SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE						
Microbiologie, immunologie, Pathologie Générale	Y. RICHARD		A. KODOJO	V. GUERIN-FAUBLEE (HC) D. GREZEL		
Pathologie infectieuse		M. ARTOIS	A. LACHERETZ	J. VIALARD (HC)		
Parasitologie et Maladies Parasitaires	MC. CHAUVÉ	G. BOURDOISEAU		MP. CALLAIT-CARDINAL L. ZENNER		
Qualité et Sécurité des Aliments			P. DEMONT	A. GONTHIER		
Législation et Jurisprudence			C. Vernozy	S. COLARDELLE (ISPV) D. SERGENTET (stagiaire)		
Bio-informatique - Bio-statistique			A. LACHERETZ ML. DELIGNETTE	P. SABATIER (HC) K. CHALVET-MONERAY		
DEPARTEMENT ANIMAUX DE COMPAGNIE						
Anatomie			T. ROGER	S. SAWAYA	C. BOULOCHER	
Chirurgie et Anesthésiologie		J.P. GENEVOIS	D. FAU E. VIGUIER D. REMY	C. CAROZZO K. PORTIER (stagiaire)	S. JUNOT	
Anatomie-pathologique/Dermatologie-Cancérologie			C. FLEURY	T. MARCHAL D. PIN	P. BELLI D. WATRELOT-VIRIEUX	
Hématologie		C. FOURNEL				
Médecine interne		J.L. CADORE	L. CHABANNE	F. PONCE M. HUGONNARD C. ESCRIOU	I. BUBLOT M. PASTOR C. POUZOT (sianu)	
Imagerie Médicale					F. RIGOUT-PAULIK	
DEPARTEMENT PRODUCTIONS ANIMALES						
Zootéchnie, Ethologie et Economie Rurale		M. FRANCK		L. MOUNIER	L. COMMUN	
Nutrition et Alimentation				D. GRANCHER (HC) L. ALVES DE OLIVEIRA G. EGRON		
Biologie et Pathologie de Reproduction		F. BADINAND	M. RACHAIL-BRETIN P. GUERIN	S. BUFF	A. C. LEFRANC	G. LESOBRE P. DEBARNOT P. OTZ
Pathologie Animaux de Production	P. BEZILLE	T. ALOGNINOUIWA		R. FRIKHA M.A. ARCANGIOLI D. LE GRAND		
DEPARTEMENT SCIENCES BIOLOGIQUES						
Physiologie/Thérapeutique			J.M. BONNET-GARIN	J.J. THIEBAULT (HC)		
Biophysique/Biochimie		E. BENOIT F. GARNIER		T. BURONFOSSE		
Génétique et Biologie moléculaire		G. KECK	F. GRAIN P. JAUSSAUD P. BERNY	V. LAMBERT C. PROUILLAC (stagiaire)		
Pharmacie/Toxicologie Législation du Médicament					T. AVISON (IPAC) G. MARTIN (IPAC)	
Langues						
DEPARTEMENT HIPPIQUE						
Pathologie équine		J.L. CADORE		A. BENAMOU-SMITH		
Clinique équine		O. LEPAGE		A. LEBLOND	M. GANGL	

Remerciements

A Monsieur le Professeur Yves Pacheco,

De la faculté de Médecine de Lyon,

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse

Hommage respectueux.

A Madame le Professeur Agnès Leblond,

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,

Qui m'a proposé ce sujet original

Et m'a épaulé tout au long de ce travail malgré les difficultés

Trouvez ici le témoignage de toute ma reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Gilles Bourdoiseau,

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,

Qui a très aimablement accepté de participer à notre jury de thèse.

Sincères remerciements.

A Mademoiselle le Docteur Sophie Pradier,

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,

Avec qui j'ai passé de très agréables moments

Pour son aide précieuse et sa gestion du travail « de terrain »

Toute ma considération et ma gratitude.

A Madame Jeanne Chene,

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon,

Pour tous ses précieux conseils et le temps passé à identifier les tiques

Sincères remerciements.

A tous les propriétaires de chevaux et de manades,

Qui nous ont permis de réaliser ce travail en nous accordant un peu de leur temps précieux,

Toujours dans la bonne humeur.

A ma famille,

A maman toujours là et qui m'a largement supportée tout au long de ce travail,
A Chloé ma petite sœur chérie, tu es la meilleure,
A Roman ma plus grande star,
A Fabien parce que je n'arrive jamais à jouer au jeu...

A papi Paul et mamie Cécile parce qu'ils m'ont aussi aidée à grandir,
A mamie Mathilde parce que tu es toujours un peu là avec moi, pour les valeurs
que tu incarnais,

A July et Caro parce qu'on se connaît depuis toujours et que c'est à chaque fois
un très grand plaisir de se retrouver,

A Marjo, parce que tu es la fille la plus chi... que je connaisse, parce qu'avec toi
on se sent toujours bien, à nos covoyages, à nos jens, à nos parties de tennis...

A ma petite Alicette le seul écureuil que je puisse approcher sans tachycardie,
pour ta gentillesse et ton sourire, pour tous les moments heureux qu'on a passés
ensemble et tous ceux qui sont à venir...

A Sandra, pour les nuits où j'ai squatté chez toi, à nos parties de coinche et nos
discussions de cas, que du bonheur en perspective pour ta vie à venir...

A Carotte, parce que tu es la seule à avoir un bon goût artistique, pour tous les
bons moments qu'on a passés ensemble, du trottoir de Marseille à nos vacances
d'été en passant par les concerts à la Fnac, j'attends de te revoir au soleil...

A mon groupe de clinique de D2, à Jane ma maman pour ta patience et ton
sourire en toutes circonstances, à Loulou, Piwi et Dibule (on se refait une
ovario ?),

A mon groupe de clinique de D3, parce qu'avec vous même le siamu c'était que du
bonheur, à Ouf, Gondé, Fus, à Tony et son éternelle bonne humeur, à Chloé et ses
éternelles questions, à Emeline la plus belle des mamans,

Aux filles de la T1 équine (et Yoko), à Nanou, Sturb, Marion, Lélia, Alex parce que grâce à vous j'ai passé une très bonne année et vive les TP maréchalerie,

A Slim pour tout ce que tu m'as appris, tout le bonheur que tu m'as apporté qui a largement contribué à rendre ces années aussi belles, je souhaite (mais n'en doute pas) que ta réussite soit à la hauteur de tes ambitions,

A toutes les personnes que je n'ai pas citées mais avec qui j'ai partagé quelques instants de bonheur...

.... Merci

Table des matières

INTRODUCTION.....	7
PREMIERE PARTIE: étude de l'Anaplasmose des équidés.....	9
I Etude d'<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	10
A) Généralités	10
B) Historique	11
C) Distribution géographique.....	11
D) Classification.....	12
E) Morphologie et coloration	15
F) Les Espèces sensibles et les réservoirs d' <i>A. phagocytophilum</i>	16
H) Importance économique et zoonotique	19
II Etude clinique de l'infection à <i>Anaplasma phagocytophilum</i> biovar <i>equi</i>	21
A) Symptômes observés chez le cheval	21
a. Syndrome fébrile	21
c. Œdème	22
d. Pétéchies et ictère	22
e. Ataxie et signes neurologiques	22
B) Infection subclinique ?	23
C) Données paracliniques.....	23
a. Modification de la lignée blanche	23
b. Thrombopénie	24
c. Anémie	24
d. Augmentation de la bilirubinémie.....	24
e. Inclusions intracytoplasmiques	24
D) Lésions post mortem	25
E) La réponse immunitaire de l'hôte et les différences de sensibilité vis-à-vis d' <i>Anaplasma phagocytophilum</i>	25
III Le diagnostic	27
A) Epidémiologie – clinique	27
B) Diagnostic de laboratoire	28
a. Le frottis sanguin	28
b. Diagnostic sérologique.....	28
c. Diagnostic PCR	29
C) Diagnostic différentiel.....	30
IV) Traitement et prophylaxie	31
A) Traitement de l'anaplasmose des équidés	31
B) Mesures de prophylaxie	33
V) Etude des vecteurs de l'anaplasmose équine	34
A) Quels sont-ils ?.....	34
B) Les tiques parasites du cheval	34

C) Le genre <i>Ixodes</i> : l'unique vecteur de l'anaplasmose des équidés ?	35
D) Etude des Ixodidae	37
a. Le genre <i>Ixodes</i>	38
b. Le genre <i>Dermacentor</i>	40
c. Le genre <i>Rhipicephalus</i>	42
d. Le genre <i>Hyalomma</i>	44
DEUXIEME PARTIE étude pratique :	
Récolte et identification des vecteurs potentiels d'<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	46
I Objectif de l'étude.....	47
II Données préalables.....	47
A) Délimitation géographique et caractéristiques de la zone d'étude :.....	47
B) Le cheval dans la zone d'étude	49
C) Etude préliminaire de 2007 (Tillette 2008).....	50
a. Objectifs de l'étude de 2007.....	50
b. Protocole et modalités d'échantillonnage	50
c. Résultats de l'étude préliminaire.....	50
III) Matériel et méthode	53
A) Sélection des écuries	53
B) Période d'étude.....	53
C) Prélèvement de sang et de tiques sur les chevaux.....	54
D) Sélection des pâtures et récolte des tiques sur la végétation.....	54
E) Identification des tiques.....	59
IV) Résultats	60
A) Prélèvement de tiques sur les chevaux.....	60
a. Première session	60
b. Deuxième session.....	60
c. Troisième session	61
d. Répartition des tiques prélevées sur les chevaux en 2008	61
d. Traitements antiparasitaires externes	62
e. Traitements antiparasitaires systémiques	62
B) Prélèvement de tiques dans les pâtures	64
a. Première session	64
b. Deuxième session.....	65
c. Répartition des tiques prélevées dans les pâtures.....	66
d. Etude des biotopes :.....	67
e. Les conditions météorologiques.....	73
C) Synthèse des résultats.....	73

TROISIEME PARTIE : Discussion	74
I Choix du protocole de récolte	75
II Choix des pâtures	75
III Discussion des résultats obtenus.....	76
IV Perspectives d'avenir	79
CONCLUSION :	80
Bibliographie.....	81
Annexes	88

Table des figures

Figure 1 : Place du genre <i>Ehrlichia</i> dans la classification (1995) :(Davoust, Parzy et al. 1995).....	13
Figure 2 : Observation microscopique d'une morula.....	15
Figure 3 : Cycle de développement d'une tique	38
Figure 4 : Aire de répartition d' <i>Ixodes ricinus</i> en Europe :.....	39
Figure 5 : Aire de répartition de <i>Dermacentor reticulatus</i> en Europe :.....	41
Figure 6 : Aire de répartition de <i>Dermacentor marginatus</i> en Europe :.....	42
Figure 7 : Aire de répartition de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> :	44
Figure 8 : Carte de la Camargue	48
Figure 9 : Répartition des espèces de tiques prélevées sur les chevaux en 2007	52
Figure 10 : récolte des tiques par la méthode du drapeau.....	56
Figure 11 : Schéma de récolte des tiques dans la pâture :.....	57
Figure 12 : Prélèvement des conditions météorologiques :.....	58
Figure 13 : formes des rostrés (Georges 2001)	59
Figure 14 : carte de répartition des tiques prélevées sur les chevaux en 2008 ..	61
Figure 15 : les différents vermifuges utilisés dans les écuries de l'étude.....	63
Figure 16 : Pourcentage d'écuries parasitées en fonction du vermifuge utilisé ...	63
Figure 17 : carte de la répartition des tiques prélevées dans les pâtures en 2007	66
Figure 18 : Comparaison des biotopes	69
Figure 19 : Exemple 1 Pâture présentant des herbes hautes (pâture n°1008).....	70
Figure 20 : Exemple 2 « sansouire » (pâture n°1824).....	70

Figure 21 : Exemple 3 pâture associant la présence d'herbes hautes et de broussailles (pâturage n°2603).....	71
Figure 22 : Exemple 1 pâture présentant de l'herbe de taille moyenne bordée par des marécages.....	71
Figure 23 : Exemple 2 pâture en terre battue avec peu d'herbe (pâturage n°1103).....	72
Figure 24 : Exemple 3 pinède (pâturage n°2112).....	72

Table des tableaux

Tableau 1 : Activité de divers antibiotiques sur <i>A. phagocytophilum</i> : (Maurin, Bakken et al. 2003).....	32
Tableau 2 : Résultats des sérologies sur l'ensemble des chevaux.....	51
Tableau 3 : Résultats des écuries	51
Tableau 4 : Résultat de la récolte de tiques sur pâture lors de la première période.....	64
Tableau 5 : Résultat de la récolte de tiques sur pâture lors de la deuxième période.....	65
Tableau 6 : Comparaison des caractéristiques environnementales des zones de prélèvement au sein des pâtures	68
Tableau 7 : Comparaison des conditions météorologiques lors des prélèvements	73

INTRODUCTION

L'Anaplasmose équine est une maladie infectieuse provoquée par la bactérie *Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi*, c'est une maladie vectorielle transmise par les tiques.

Encore assez mal connue dans nos régions, elle est sous diagnostiquée et trop souvent confondue avec la piroplasmose équine en raison de la similitude de leur expression clinique. Cependant, l'étude de cette maladie montre qu'elle peut être à l'origine de plusieurs semaines d'inactivité et donc engendrer des pertes économiques importantes. Par ailleurs, le caractère zoonotique supposé ou avéré de cette maladie donne à son étude une importance toute particulière.

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

L'objet de notre étude est donc :

- d'identifier les espèces de tiques présentes dans la région d'étude et dans l'environnement des chevaux
- et d'établir la liste des espèces de tiques parasites du cheval dans cette région endémique.

Ainsi, à partir de ces données, nous voulons établir la liste des tiques potentiellement vectrices de l'anaplasmose granulocytaire équine en Camargue.

Nous allons donc dans un premier temps faire le point des connaissances actuelles de l'infection à *Anaplasma phagocytophilum* chez le cheval. Nous verrons tout d'abord sa classification qui a été récemment modifiée, son épidémiologie, sa pathogénie, sa clinique, son diagnostic et enfin son traitement. Nous rappellerons ensuite la biologie des principales tiques de nos régions ainsi que leur importance en tant que vecteurs d'agents pathogènes. Enfin, nous présenterons notre protocole de récolte des tiques et les résultats que nous avons obtenus puis nous discuterons ces résultats dans une dernière partie.

PREMIERE PARTIE :
ETUDE DE L'ANAPLASMOSE DES
EQUIDES

I Etude d'*Anaplasma phagocytophilum*

A) Généralités

L'Anaplasmosse est une maladie infectieuse mais non contagieuse, due à la bactérie *Anaplasma phagocytophilum* (anciennement Ehrlichiose). La bactérie est transmise *via* les tiques d'un individu à l'autre. L'anaplasmosse peut affecter de nombreuses espèces de mammifères, dont l'homme.

Chez l'homme, l'infection survient de une à trois semaines après la morsure de tique. Elle se manifeste par un syndrome grippal aigu non spécifique, accompagné de fièvre (dans 98 % des cas), de céphalées (81 %), de myalgies (68 %), d'arthralgies mais aussi de signes digestifs (tels qu'anorexie, nausées, vomissements, maux de ventre) dans environ un cas sur deux, ou conjonctivite. Dans un quart des cas une pharyngite, une toux, des lymphadénopathies, ou un état confusionnel sont également retrouvés. Des cas de pneumopathie atypique sont régulièrement observés aux Etats-Unis. Des études séro-épidémiologiques semblent néanmoins montrer que dans la plupart des cas l'infection est subclinique (Butler, Nijhof et al. 2008).

L'anaplasmosse granulocytaire équine est actuellement surtout observée aux Etats-Unis mais aussi dans toute l'Europe, certains la considèrent comme une maladie émergente.

L'Anaplasmosse granulocytaire équine (anciennement ehrlichiose équine ou ehrlichiose granulocytaire des équidés) ne doit pas être confondue avec l'ehrlichiose monocyttaire équine, également appelée fièvre du Potomac causée par *Ehrlichia risticii*. Les chevaux atteints présentent alors de la fièvre, une anorexie, une diarrhée et une leucopénie, la mortalité est bien plus élevée (de 5 à 30% selon les études).

B) Historique

En 1935, Donatien et Lestoquard découvrent l'agent pathogène responsable d'une maladie fébrile du chien transmise par les tiques, cet agent sera appelé *Rickettsia canis* à l'époque, puis deviendra *Ehrlichia canis*. Ce fut le début de nombreuses recherches sur les ehrlichioses.

Le genre *Ehrlichia* a été établi en 1945 en l'honneur du bactériologiste allemand Paul Ehrlich, avec *Ehrlichia canis* comme espèce type. (Raoult and Brouqui 1998)

En 1969, aux Etats-Unis, Stannard *et al.* relatent les premiers cas d'ehrlichiose observés chez le cheval. Cette infection des équidés, observée en Californie, sera réellement décrite de façon détaillée la même année par Gribble. Des morulas sont mises en évidence dans les granulocytes, la maladie est alors appelée « ehrlichiose granulocytaire équine » (Gribble 1969).

En 1994, Chen *et al.* mettent en évidence chez un patient américain, atteint de troubles respiratoires importants, une bactérie intracytoplasmique responsable de la formation de morulas dans les granulocytes spléniques. C'est le premier cas d'ehrlichiose granulocytaire humaine (EGH) (Chen, Dumler *et al.* 1994).

A partir de cette date, l'intérêt pour cette bactérie s'est accru. En effet, l'agent de cette maladie humaine montre des similitudes génétiques importantes avec *A. phagocytophilum biovar equi* (Chen, Dumler *et al.* 1994).

C) Distribution géographique

Depuis sa première description en Californie, la distribution géographique de l'anaplasmose s'est considérablement étendue : la maladie a été diagnostiquée chez l'homme et le cheval dans vingt deux états nord-américains, au Canada (British Columbia) ainsi que dans le nord-ouest et l'est de l'Europe (Suisse, Allemagne, Norvège, Suède, Royaume-Uni, Danemark, Autriche) (Berrington, Moats *et al.* 1996) en Israël et au Brésil. (Davoust, Parzy *et al.* 1995; Madigan and Pusterla 2000)

La maladie a également été décrite plus récemment en Italie (Scarpulla, Caristo *et al.* 2003) ainsi qu'aux Pays-Bas. (Butler, Nijhof *et al.* 2008)

En France, la forme clinique de l'ehrlichiose granulocytaire équine a été décrite pour la première fois en Picardie en 2002. (Bermann, Davoust et al. 2002)

D) Classification

L'étude de la classification d'*Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi*, passe par celle de son ancienne dénomination *Ehrlichia equi*.

Le genre *Ehrlichia* fut placé dans la tribu des *Ehrlichieae*, au sein de la famille des *Bartonellaceae* parmi l'ordre des *Rickettsiales*.

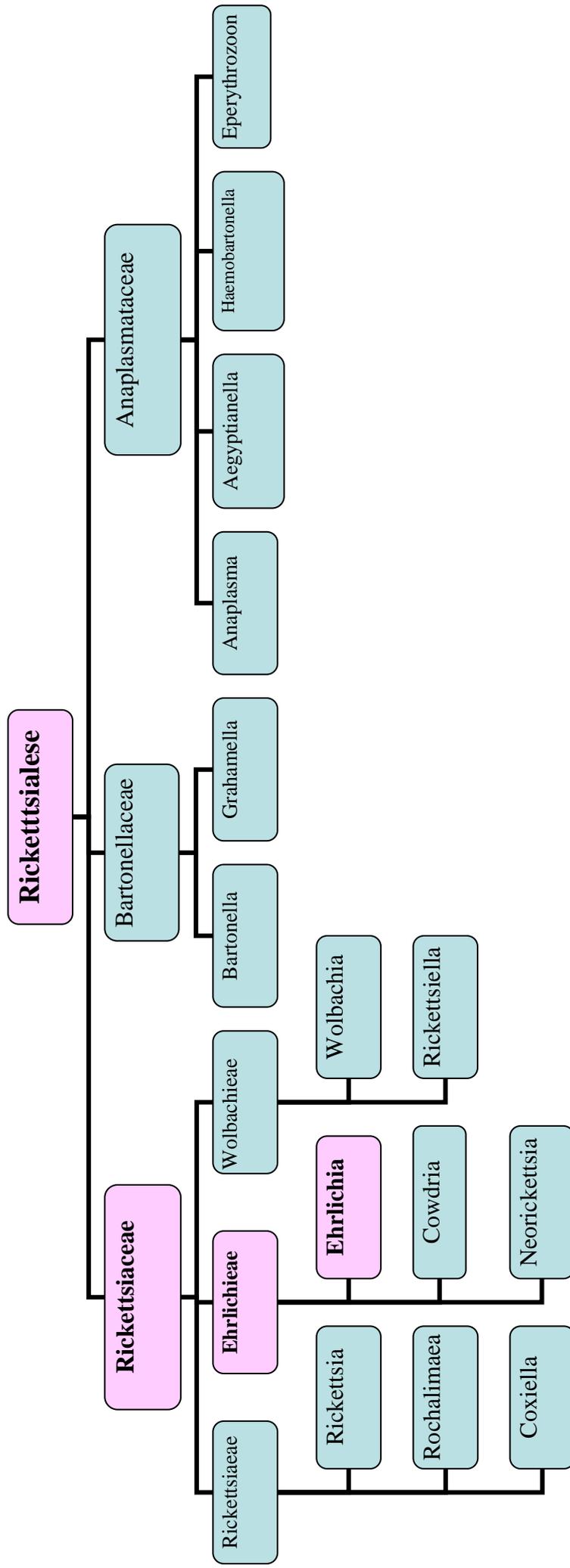
L'ordre des *Rickettsiales* rassemble toutes les bactéries intracellulaires, il comprend trois familles, les *Rickettsiaceae*, les *Bartonellaceae* et les *Anaplasmaceae*, séparées sur la base de l'association entre bactérie et :

- phagocyte professionnel
- phagocyte non professionnel
- et érythrocyte.

Des caractéristiques écologiques, épidémiologiques et sérologiques ont ensuite permis de délimiter des genres rickettsiens.

Le genre *Ehrlichia* comprenait des bactéries associées à des pathologies animales et humaines et à multiplication intracellulaire stricte. (Raoult and Brouqui 1998)

Figure 1 : Place du genre *Ehrlichia* dans la classification (1995) : (Davoust, Parzy et al. 1995)



Classification moderne :

Des études récentes basées sur l'analyse des séquences de l'ARN 16S, l'analyse des gènes des opérons groESL et l'analyse des gènes codant des protéines de surface, ont montré que les classifications existantes étaient imparfaites.

Grâce à ces nouvelles données moléculaires, quatre classes distinctes ont été créées à partir de 2001 :

- **Anaplasma** (incluant les groupes *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia platys* et *Ehrlichia bovis* avec un minimum de 96,1% de similitude).
- **Ehrlichia** (incluant *Cowdria ruminantium* avec un minimum de 97,7% de similitude).
- **Wolbachia**
- **Neorickettsia** (incluant *Ehrlichia sennetsu* et *Ehrlichia risticii* avec un minimum de 94,9% de similitude).

Ces travaux montrent qu'il n'existe pas assez de différences entre *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi* et l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire humaine (HGE) pour en faire trois espèces distinctes, ces bactéries sont donc regroupées au sein d'une espèce unique appelée *Anaplasma phagocytophilum*. (Dumler, Barbet et al. 2001)

Cependant, bien que les ARNr 16S des souches d'*Anaplasma phagocytophilum* ne présentent que de légères différences de séquences (environ 5 paires de base), leurs caractères biologiques, notamment leur spectre d'hôtes, leur pouvoir pathogène et leur répartition géographique, ne sont pas identiques. Aussi, Dumler et al. proposent de reconnaître l'existence de variants au sein de cette espèce : un variant correspondant à l'espèce préalablement connue sous le nom de *Ehrlichia phagocytophila*, un variant correspondant à l'espèce préalablement dénommée *Ehrlichia equi* et un variant correspondant à l'agent EGH. Pour des raisons pratiques, dans la suite du texte, nous désignerons ces variants de la manière suivante : *Anaplasma phagocytophilum* biovar *Phagocytophilum*, *Anaplasma phagocytophilum* biovar *Equi* et *Anaplasma phagocytophilum* biovar *EGH*. (Euzéby 2001)

L'analyse des séquences des gènes *gltA* (codant la citrate synthétase), effectuée par Inokuma et al. 2001, montre cependant que *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi* et l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire humaine pourraient constituer un groupe proche mais différent du genre *Anaplasma*. De

plus, ces auteurs rappellent que les *Anaplasma sp.* infectent les globules rouges alors que *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi* et l'agent EGH infectent principalement les granulocytes. Inokuma et al. estiment que ces différences génétiques et biologiques pourraient justifier la création d'un nouveau genre destiné à accueillir *Ehrlichia phagocytophila*, *Ehrlichia equi* et l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire humaine.

Les articles de Dumler et al. et de Inokuma et al. ont été publiés de manière pratiquement simultanée (respectivement novembre 2001 et septembre 2001) si bien que les résultats de Inokuma et al. n'ont pu être pris en compte par Dumler et al. Inokuma et al. ne font aucune proposition formelle concernant la nomenclature, mais il n'est pas impossible que dans l'avenir de nouveaux changements soient proposés. (Inokuma, Terada et al. 2001)

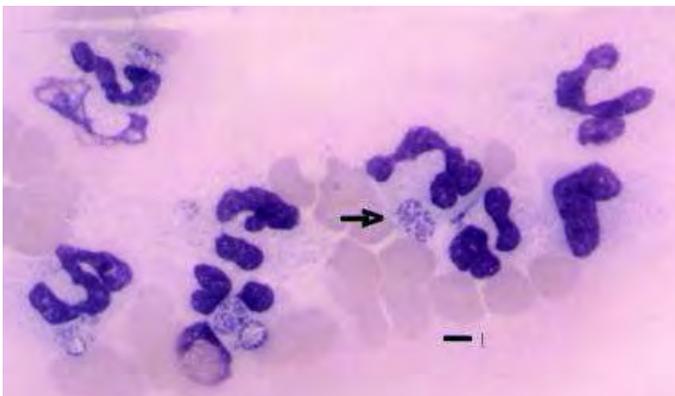
E) Morphologie et coloration

A. phagocytophilum biovar equi est une bactérie intracellulaire stricte, qui infecte les cellules de la lignée myéloblastique des mammifères.

A. phagocytophilum biovar equi ne prend pas la coloration de Gram (bactérie Gram négative) et se présente, avec les colorations de May-Grünwald-Giemsa ou de Diff Quick, sous forme de corps d'inclusions basophiles dans le cytoplasme des polynucléaires neutrophiles et parfois éosinophiles circulants. Ces corps d'inclusion sont constitués de un ou plusieurs coccobacilles et varient d'une taille de 5 μ à 200 $m\mu$. Les corps d'inclusion de taille intermédiaires sont souvent pléomorphes et beaucoup de cellules infectées contiennent plusieurs corps d'inclusion. (Gribble 1969)

Figure 2 : Observation microscopique d'une morula

(Lester, Breitschwerdt et al. 2005)



En fait trois formes successives peuvent être observées : les corps élémentaires (environ 0,5 μm de diamètre), les corps initiaux et les morulas (4 μm).

La microscopie électronique a montré que ces morulas renferment 20 à 40 corps élémentaires limités par une double membrane interne et externe et possédant ribosomes et ADN. L'ensemble est enfermé dans une vacuole dont la membrane est issue de la cellule hôte. (Davoust, Parzy et al. 1995) En microscopie électronique on retrouve le pléomorphisme remarqué au microscope optique. Il est dû à une variation de taille et de forme des organismes. (Gribble 1969)

La paroi de cette bactérie Gram négative est analogue à toutes les bactéries Gram négatives, cependant, il existe une particularité chez les *Anaplasma* : une petite quantité voire une absence de lipopolysaccharides (LPS) ou oligosaccharides. (Raoult and Brouqui 1998)

F) Les Espèces sensibles et les réservoirs

d' *A. phagocytophilum*

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

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

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

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

- **Ovins, caprins (et bovins) :**

Gribble en 1969 a inoculé du sang issu d'un cheval atteint de façon certaine d'anaplasmose équine à 2 veaux, 3 brebis, 3 agneaux et 1 chèvre.

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

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

Pusterla et al. en 2001 inoculent à 2 bœufs des leucocytes infectés par *A. phagocytophilum* et à 2 autres des cellules HL60 infectées par l'agent de l'EGH. Aucun signe clinique, ni aucune inclusion dans les granulocytes ne sont détectés. De même, aucun fragment d'ADN d'*Anaplasma* n'est amplifié. Par contre, une faible réponse en anticorps est observée chez les 4 bovins. (Pusterla, Anderson et al. 2001)

Même si l'échantillon est faible, l'hypothèse serait que les bovins ne seraient pas sensibles à *Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi* ni à l'agent responsable de l'ehrlichiose granulocytaire humaine mais présenteraient seulement une séroconversion asymptomatique.

- **Chats, chiens et primates non humains :**

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

Après inoculation par du sang de cheval infecté par *A. phagocytophilum* biovar *equi* en phase clinique, des morulas ont été observées dans les éosinophiles des chats, les neutrophiles des primates non humains (Macaques Rhésus et Babouins) et dans les neutrophiles et éosinophiles des chiens entre 3 et 7 jours post-inoculation.

On a donc démontré la transmission expérimentale d'*A. phagocytophilum* biovar *equi* entre le cheval et le chien, le chat et les primates non humains.

Aucun signe clinique n'a été noté chez les chats et les singes infectés dans cette étude. Lewis et al. ont ensuite collecté le sang de ces singes infectés et l'ont inoculé à un cheval sain qui a développé une anaplasmose équine typique. Puis ils ont récolté le sang de ce cheval en phase clinique et l'ont inoculé à d'autres singes sains. Ces derniers ont développé de la fièvre et une légère anémie et des morulas typiques ont été observées.

La transmission expérimentale d'*A.phagocytophilum* biovar *equi* est donc démontrée entre les primates non humains et le cheval.

Les chercheurs ont alors commencé à prendre en considération une possible transmission de la bactérie à l'Homme.

Dans cette étude, aucune lésion macroscopique ou microscopique attribuable à l'infection par *A. phagocytophilum* biovar *equi* n'a été notée à l'autopsie des chiens, chats et singes inoculés. (Lewis, Huxsoll et al. 1975)

- **Rongeurs :**

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

Cependant, si les rongeurs ne semblent pas réceptifs à la bactérie, les petits mammifères, hôtes communs des stades immatures des tiques, sont suspectés d'être les réservoirs naturels d'*A.phagocytophilum*. Lors d'une étude menée en Suisse en 2000, des chercheurs ont pu mettre en évidence l'ADN d'*A.phagocytophilum* dans différents tissus (rate, foie, sang, oreille) de petits mammifères notamment *C. glareolus* (espèce de campagnol) ainsi que dans leurs tiques parasites. (Liz, Anderes et al. 2000)

Aux Etats-Unis, c'est une espèce de souris à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*), hôte principal d'*Ixodes Scapularis*, qui semble être le réservoir principal d'*A. Phagocytophilum*. (Telford, Dawson et al. 1996)

Par ailleurs, les grands cervidés sauvages (hôtes privilégiés des tiques adultes du genre *Ixodes*) et notamment, le cerf de virginie (*Odocoileus virginianus*) aux Etats-Unis, semblent aussi être des réservoirs.

Une étude suggère d'ailleurs que le taux d'incidence annuel de l'EGH aux Etats-Unis est directement influencé par la coexistence simultanée de mammifères et de leurs sources alimentaires potentielles dans une région. Ce serait l'augmentation de la population de cervidés en Europe qui serait à l'origine de l'accroissement de l'incidence des infections transmises par les tiques.

D'autre part, plusieurs études se sont intéressées aux possibilités d'expansion de la maladie et notamment au rôle des oiseaux migrateurs en tant que vecteurs de tiques.

Lors d'une étude réalisée en Suède durant le printemps 1996, des scientifiques ont cherché à déterminer la fréquence des tiques infectées par des bactéries du groupe *Ehrlichia* sur les oiseaux migrateurs ceci, afin d'estimer le nombre de tiques infectées importées ou exportées par ces oiseaux dans le pays.

Des séquences d'ADN appartenant au groupe ont été détectées sur environ 8% des nymphes et des larves récoltées. Les séquences ADN trouvées chez ces tiques étaient identiques de celles de l'ehrlichiose granulocytaire retrouvée chez les animaux et les humains en Suède.

Environ 100 million d'oiseaux migrent à travers la Suède chaque année, si la fréquence des larves infectées est réellement semblable à celle de cette étude on peut estimer que chaque année 580000 tiques infectées sont importées dans ce pays (Bjoersdorff, Bergstrom et al. 2001).

Par ailleurs, une étude réalisée en Camargue en 2004 a montré que la présence d'hirondelles à proximité des chevaux multipliait par plus de 5 le risque pour une écurie d'être positive vis-à-vis d'*Anaplasma phagocytophilum* (écurie avec au moins un cheval séropositif vis-à-vis d'*Anaplasma phagocytophilum*) (Leblond, Pradier et al. 2005).

Ces deux études confortent l'idée selon laquelle les oiseaux pourraient jouer un rôle dans l'expansion territoriale de l'ehrlichiose.

H) Importance économique et zoonotique

La fréquence des cas cliniques déclarés chez les chevaux n'a cessé d'augmenter ces dernières années, on peut donc s'interroger sur l'émergence possible de cette « nouvelle » maladie. Il semble cependant que l'augmentation du nombre de cas soit plus en relation avec une meilleure connaissance de la maladie, des méthodes diagnostiques plus performantes et une plus grande sensibilisation des médecins et des vétérinaires, plutôt qu'une augmentation réelle de l'incidence de la maladie.

Bien que généralement non mortelle, l'importance économique et médicale de l'anaplasiose équine n'est pas négligeable. En effet, elle induit chez le cheval présentant des signes cliniques une prise en charge médicale ainsi qu'une mise au repos pouvant aller jusqu'à plusieurs mois ce qui peut engendrer des pertes économiques parfois très importantes.

L'anaplasmose est-elle une zoonose ?

Plusieurs arguments permettent de suspecter le caractère zoonotique de l'anaplasmose des équidés.

Premièrement, sur un plan phylogénétique, l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire humaine et *Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi* sont très proches. Le pourcentage d'identité entre les séquences nucléotidiques du gène de la citrate synthase : *glTA* est de 99,8%. (Inokuma, Brouqui et al. 2001) De même, l'amplification génique et le séquençage du gène 16S ARNr ont montré une homologie de respectivement 99,9% et 99,8%. (Chen, Dumler et al. 1994)

Par ailleurs, une étude comparant les séquences ADN de différents gènes a montré que les souches de l'agent l'ehrlichiose granulocytaire équine et de l'ehrlichiose granulocytaire humaine trouvées en Californie étaient similaires ou identiques mais différaient de celles trouvées à l'Est des Etats-Unis. Ceci laisserait penser que les différentes souches de la bactérie devraient être différenciées plus sur la base de leur origine géographique que sur leur espèce hôte (Chae, Foley et al. 2000).

D'autre part, l'agent de l'HGE est antigéniquement non distinguable de l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire équine par les techniques d'immunofluorescence et Western blots. (Dumler, Asanovich et al. 1995)

De plus, on a pu reproduire la maladie chez le cheval par inoculation intraveineuse de l'agent de l'HGE et par inoculation via des tiques infectées. Les résultats ont montré que la maladie produite chez le cheval n'était pas distinguable de celle causée par *Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi*. (Madigan, Richter et al. 1995; Pusterla, Chae et al. 2002)

A l'inverse, la transmission expérimentale d'*A. phagocytophilum* biovar *equi* a été démontrée entre le cheval et les primates non humains. (Lewis, Huxsoll et al. 1975)

Enfin, les bactéries poussent toutes deux sur des cellules souches de la lignée myéloïde humaine : HL60.

Le caractère zoonotique présumé donne alors une importance toute particulière à l'étude l'anaplasmose des équidés. Le cheval pouvant en effet servir de sentinelle vis-à-vis du risque d'infection chez l'homme.

II Etude clinique de l'infection à *Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi*

A) Symptômes observés chez le cheval

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

La période d'incubation réelle n'est pas connue avec précision, dans les conditions expérimentales de l'étude de Gribble, celle-ci a varié entre un et neuf jours. (Gribble 1969) Dans une autre étude portant sur des chevaux inoculés à partir de sang contaminé la période d'incubation observée variait de six à neuf jours et elle semblait liée à la dose infectante puisque le cheval qui avait reçu la dose infectante la plus importante a eut la période d'incubation la plus courte. (Franzen, Aspan et al. 2005)

a. Syndrome fébrile

Le premier signe clinique de l'infection est constitué par une brusque augmentation de température. La durée de la période fébrile varie entre un et douze jours mais elle est habituellement de cinq ou six jours. Le pic de température est le plus souvent observé le deuxième jour de fièvre avec des valeurs comprises entre 39,2°C et 42,7°C (moyenne de 41,8°C).

La température reste généralement élevée mais présente des fluctuations ; un ou deux pics de température en plus du premier peuvent être observés mais ils sont d'intensité et de durée moindres.

Une période d'abattement et de dépression est également rapportée mais de façon non systématique, celle-ci varie en intensité et en durée. Elle commence en général au deuxième ou troisième jour de la période fébrile et s'achève après un à dix jours. Typiquement, les chevaux atteints présentent une indifférence à leur environnement et une dysorexie voire une anorexie totale.

De façon concomitante à la fièvre, une augmentation des fréquences cardiaque et respiratoire peut également être observée. (Gribble 1969)

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

c. Œdème

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

Quand il concerne les membres, l'œdème se développe de façon rapide et ascendante et peut parfois s'étendre jusqu'à quinze-vingt centimètres au dessus du jarret ou de la moitié du radius. Chez les chevaux présentant un œdème transitoire de un ou deux jours, celui-ci est souvent limité aux boulets et aux parties distales des membres. Dans la plupart des cas tous les membres étaient atteints mais le gonflement était généralement plus étendu et plus intense sur les postérieurs. (Gribble 1969)

d. Pétéchies et ictère

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

e. Ataxie et signes neurologiques

Une réticence à la marche est associée à cet état général débilité et quand les chevaux sont contraints de marcher ou de trotter, ils le font avec divers degrés d'incoordination. (Gribble 1969)

Le cas d'une jument présentant des œdèmes, un état fébrile, une ataxie sévère puis une impossibilité de se lever a été rapporté. Le diagnostic d'une infection à *Anaplasma phagocytophilum* a été établi suite à l'observation de corps d'inclusion typiques dans les neutrophiles. Ainsi, la maladie peut parfois être incluse dans le diagnostic différentiel du « cheval couché ». (Nolen-Walston, D'Oench et al. 2004)

B) Infection subclinique ?

La prévalence en anticorps à *A.phagocytophilum* biovar *equi* dans certaines régions du nord de la Californie laisse supposer que l'infection par cet agent pathogène puisse être subclinique. En effet, dans certaines fermes de ces régions, près de la moitié des chevaux possédaient des anticorps contre *A.phagocytophilum* biovar *equi* alors qu'ils apparaissaient cliniquement sains. (Madigan, Hietala et al. 1990)

De plus, une étude a été menée sur trois chevaux infectés expérimentalement à partir des tiques *Ixodes pacificus* prélevées dans des zones endémiques situées dans le nord de la Californie. Le premier cheval est resté cliniquement normal pendant trois semaines puis au 21ème jour, le cheval s'est montré léthargique et a présenté de la fièvre pendant environ cinq jours, un léger œdème des membres postérieurs a également été observé pendant quelques jours.

Le deuxième cheval n'a pas montré de signe clinique pendant 17 jours puis il est apparu fiévreux pendant deux jours. Le troisième cheval n'a jamais montré de signes cliniques malgré une positivité au test PCR pendant quelques jours. Cette étude qui se rapprocherait le plus de l'infection naturelle met donc en évidence l'existence de cas subcliniques ou avec une clinique très frustrée. (Reubel, Kimsey et al. 1998)

C) Données paracliniques

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

a. Modification de la lignée blanche

Plus précisément, une lymphopénie brutale débutant le premier ou le deuxième jour de la période fébrile est persistant cinq à six jours est communément observée, avec moins de 1000 lymphocytes/cm³.

La neutropénie est plus progressive atteignant son plus bas niveau, le plus souvent, le quatrième, cinquième ou sixième jour avec moins de 2500 neutrophiles/cm³. (Gribble 1969)

La leucopénie peut néanmoins dans certains cas être masquée par la réponse inflammatoire d'une inflammation secondaire. (Bermann, Davoust et al. 2002)

b. Thrombopénie

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

c. Anémie

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

d. Augmentation de la bilirubinémie

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

e. Inclusions intracytoplasmiques

Dans l'étude menée par Gribble, l'apparition des inclusions intracytoplasmiques semble fortement corrélée à la période fébrile, elles restent présentes en moyenne de 9,4 jours et leur nombre augmente rapidement pour être maximal du troisième au cinquième jour. (Gribble 1969)

Dans l'étude de Franzen et al (2005) bien que la méthode de détection semble identique à celle de Gribble, la détection des inclusions se fait en moyenne 2,6 jours après l'apparition des premiers signes cliniques. (Franzen, Aspan et al. 2005)

D) Lésions post mortem

Les lésions caractéristiques sont constituées globalement par des hémorragies associant pétéchies, ecchymoses et œdèmes.

Ces hémorragies sont retrouvées presque exclusivement dans le tissu sous cutané et les fascias entourant les muscles des membres distalement au coude et au grasset.

Les lésions vasculaires sont souvent prolifératives et nécrotiques avec un œdème périvasculaire. Les vaisseaux atteints sont prioritairement ceux du tissu sous-cutané, du fascia et des nerfs, des membres puis des ovaires et testicules et du plexus pampiniforme. Enfin, des lésions vasculaires et interstitielles inflammatoires modérées sont observées dans les reins, le cœur, le cerveau et les poumons des chevaux autopsiés en phase clinique. (Gribble 1969)

Les œdèmes retrouvés à l'autopsie sont le reflet en localisation et en étendue des œdèmes ante mortem, le plus souvent localisés aux membres ou parfois dans le tissu sous cutané. Ils varient d'une légère humidité persistante des tissus à du liquide s'écoulant lors d'incisions de la peau et des fascias.

Les carcasses sont fréquemment ictériques et les mâles adultes présentent toujours une orchite. (Gribble 1969)

L'autopsie révèle parfois également de sévères lésions consécutives à des infections bactériennes secondaires, comme des bronchopneumonies, des arthrites, des lymphadénites et des cellulites. Ces lésions bactériennes sont alors dues à l'exacerbation d'infections chroniques préexistantes. (Gribble 1969)

L'examen histologique des tissus atteints montre l'existence de petites phlébites et artérites.

E) La réponse immunitaire de l'hôte et les différences de sensibilité vis-à-vis d'*Anaplasma phagocytophilum*

Nyindo et al. En 1978 font l'expérience d'inoculer *A. phagocytophilum* biovar *equi* à deux poneys avec du sang prélevé sur un poney infecté en phase aigue de l'inflammation. Les deux animaux inoculés présentent alors les signes cliniques de la maladie et des anticorps sériques sont détectés par une méthode d'immunofluorescence indirecte entre le 17ème et le 25ème jour post-inoculation avec un pic entre le 17ème et le 75ème jour. Des concentrations en anticorps sont encore détectables jusqu'au 300ème jour. Nyindo et al. confirment donc

qu'il existe une immunité protectrice à médiation humorale pendant au moins 300 jours après une première inoculation. (Nyindo, Ristic et al. 1978)

De plus, une réinoculation d'*A. phagocytophilum* à des poneys, plus de 300 jours après une première inoculation, et après un traitement à base de tétracycline a conduit à une rapide augmentation du titre en anticorps et à une réponse à médiation cellulaire mesurable mais sans signe clinique apparent. L'inoculation de l'agent pathogène entraîne donc la mise en place d'une réponse immunitaire humorale et cellulaire. Mais ces expériences suggèrent également que la réponse immunitaire ne dépendrait pas de la persistance de l'agent dans l'organisme puisque l'animal est toujours protégé, même après un traitement antibiotique éliminant la bactérie.

Les réponses à médiation humorale et cellulaire rapides et importantes observées lors d'une seconde inoculation sont certainement dues à un recrutement rapide et une division des lymphocytes mémoires.

Par ailleurs, dans cette même étude, l'inoculation à des poneys sensibles, du sang de poneys infectés 81 à 114 jours post-infection primaire à *A. phagocytophilum* a induit des signes cliniques modérés (fièvre, thrombocytopénie modérée). Il serait donc possible néanmoins qu'*A. phagocytophilum* persiste en petit nombre dans l'organisme des chevaux infectés malgré la présence concomitante d'anticorps.

Dans une étude menée sur 335 chevaux, aucune différence significative n'a été trouvée entre la séropositivité par rapport à *A. phagocytophila biovar equi* et l'âge, la race ou le sexe. (Gribble 1969)

Cependant, la sévérité des signes cliniques n'est pas la même pour tous les chevaux. Les jeunes chevaux présentent globalement les signes cliniques les moins sévères. Gribble a inoculé la bactérie à cinq poulains âgés de deux jours à neuf mois. Ces poulains ont bien été infectés, comme en témoignent l'observation des inclusions caractéristiques dans les neutrophiles, mais la maladie s'est manifestée par une simple élévation de température, l'état général étant conservé. La même expérience réalisée sur six chevaux âgés de un à deux ans a montré l'apparition d'une fièvre, parfois accompagnée d'un léger œdème et d'un abattement discret. (Gribble 1969)

La sévérité des signes cliniques semble donc directement liée à l'âge du sujet infecté. Ainsi, les chevaux adultes de plus de trois ans montrent une clinique progressive caractéristique associant dépression, anorexie, fièvre, œdème des membres, pétéchies, ictère et ataxie. Au contraire, les chevaux de moins de quatre ans tendent à développer des signes cliniques modérés alors que les chevaux de moins d'un an montrent une clinique difficile à reconnaître, parfois seulement associée à un épisode fébrile.

L'infection de juments gestantes quand à elle, a entraîné l'apparition de signes cliniques mais non suivis d'avortement. (Gribble 1969)

La mortalité est faible même en l'absence de traitement et les affections les plus sévères sont dues généralement à des infections bactériennes concomitantes.

Lors d'une étude rétrospective portant sur 49 cas, seuls 2 chevaux sont morts, l'un à la suite d'une fracture pelvienne consécutive à une chute, l'autre suit à une pneumonie causée par une surinfection bactérienne. (Madigan and Gribble 1987)

Lors d'une autre étude portant sur l'anaplasmose des équidés, un cheval de 19 ans qui faisait partie d'un groupe de 6 chevaux infectés expérimentalement par *Anaplasma phagocytophilum* est mort subitement 2 jours après avoir présenté des signes cliniques. Les signes cliniques et biologiques ante-mortem étaient similaires à ceux des autres chevaux, l'autopsie a révélé des hémorragies en nappes dans différents organes internes ainsi que des signes de vasculites et thrombose dans les reins. Ces signes sont compatibles avec un processus de CIVD également décrit dans certains cas d'ehrlichiose humaine. (Franzen, Berg et al. 2007)

III Le diagnostic

A) Epidémiologie - clinique

Il est basé sur la reconnaissance des principaux signes cliniques (hyperthermie, tachycardie, polypnée, abattement, dysorexie, œdème des membres et ataxie).

Le diagnostic peut également être appuyé par les signes paracliniques leucopénie, thrombocytopénie, augmentation de la bilirubinémie et anémie modérée.

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

Cependant, que ce soit chez les hommes ou les animaux, le diagnostic clinique de l'anaplasmose est difficile à établir étant donné la non spécificité des signes cliniques ainsi, les tests de laboratoire sont nécessaires pour la confirmation d'infections.

B) Diagnostic de laboratoire

a. Le frottis sanguin

Il consiste en une analyse morphologique des cellules sanguines, préalablement étalées sur une lame en verre et colorées. L'intérêt de cet examen réside dans l'observation des leucocytes par microscopie optique et la détermination de morulae dans le cytoplasme des polynucléaires neutrophiles, voire éosinophiles à la phase aiguë de la maladie. Les morulae peuvent varier par leur forme ou leur taille, mais la texture des inclusions est souvent grossière, plus pointillée et de coloration bleue foncée par rapport à la chromatine adjacente. (Amiel, Abadia et al. 2003)

Le frottis est une méthode simple, de réalisation rapide et peu coûteuse, qui peut apporter une aide précieuse dans l'orientation du diagnostic lorsqu'il est positif. Cependant, l'identification des morulae varie directement en fonction de l'expérience du biologiste et de la durée de la maladie, sachant que leur détection est moins fréquente après la première semaine de la maladie. Ainsi, l'absence de détection de morulae dans les neutrophiles ne permet pas d'exclure le diagnostic d'anaplasmose. (Dumler, Bakken et al. 2000; Amiel, Abadia et al. 2003)

De même, en raison des nombreuses erreurs possibles par excès (confusion avec divers artéfacts), Madigan et Gribble 1987 ont considéré que le diagnostic définitif de l'anaplasmose était positif si au moins trois cellules contenant des inclusions étaient identifiées à partir de frottis sanguins colorés par la méthode de Giemsa. (Madigan and Gribble 1987)

b. Diagnostic sérologique

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

On peut également utiliser la technique ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). L'ELISA consiste à révéler la liaison antigène-anticorps en y attachant un marqueur, enzyme capable d'induire une réaction colorée.

Le diagnostic nécessite deux voire trois sérums prélevés à 0, 4 et 8 semaines après apparition des premiers symptômes, afin de mettre en évidence une séroconversion. En effet, étant donné le nombre important de chevaux séropositifs asymptomatiques dans certaines régions endémiques (jusqu'à 50%), des titres élevés et une augmentation des titres en anticorps semble nécessaire pour affirmer l'infection clinique. (Madigan, Hietala et al. 1990)

Le pic en anticorps étant observé après un mois, il faut espacer les prélèvements d'au moins 3 semaines pour éliminer au maximum les faux négatifs. (Artursson, Gunnarsson et al. 1999)

Cependant, ces tests manquent de sensibilité et un résultat négatif ne permet d'exclure une infection par *A. phagocytophilum*. (Van Andel, Magnarelli et al. 1998)

Les tests sérologiques souffrent également d'un manque de spécificité. En effet, des réactions croisées sont observées parmi les agents appartenant au même génogroupe tant et si bien que jusqu'en 1996, le diagnostic par immunofluorescence indirecte de l'ehrlichiose granulocytaire humaine était réalisé en utilisant l'antigène *A. phagocytophilum biovar equi* provenant de leucocytes de chevaux infectés et l'antigène *Erhlichia. phagocytophila* issus de leucocytes de bovins infectés. (Amiel, Abadia et al. 2003)

Les résultats des tests sérologiques peuvent donc aider le clinicien dans son diagnostic, mais ils doivent toujours être interprétés avec prudence et doivent dans tous les cas être confrontés à la clinique et aux considérations épidémiologiques.

c. Diagnostic PCR

Un test PCR a été mis en place afin de détecter L'ARN 16 S d'*A. phagocytophilum*. Ce test est réalisable sur du sang de cheval ou permet la détection de la bactérie chez les tiques.

Le test PCR peut être réalisé sur le sang total, le sérum, le plasma ou les organes.

Dans une étude menée sur plusieurs chevaux contaminés à partir de sang infecté, les résultats PCR se sont révélés positifs 3 à 6 jours après inoculation et la positivité a perduré 18 à 21 jours.

Par ailleurs, dans cette même étude, la séroconversion a été observée 12 à 16 jours après l'inoculation. La méthode PCR semble donc être une méthode de détection plus rapide que le diagnostic sérologique. (Franzen, Aspan et al. 2005)

Cependant, dans une autre étude menée sur des chevaux infectés expérimentalement à partir de tiques prélevées dans une zone endémique, les résultats PCR se sont révélés positifs plus tardivement (de 12 à 22 jours après exposition aux tiques) et les chevaux ne sont restés positifs que quelques jours (de 20 à 40 jours). Ainsi, dans cette étude qui se rapprocherait le plus de ce qui pourrait se passer réellement sur le terrain, la réponse positive au test PCR est considérablement retardée et de durée très courte. (Reubel, Kimsey et al. 1998)

Les gènes ank et p44 sont également utilisés pour le diagnostic par PCR de l'ehrlichiose granulocytaire humaine. Cependant, aucune de ces méthodes ne permet de faire la distinction d'une infection entre les différentes souches d'*Anaplasma phagocytophilum*.

La méthode PCR présente néanmoins l'avantage d'être plus sensible que la méthode sérologique, elle est par ailleurs plus rapide et automatisable. Cependant, c'est une méthode qui reste à l'heure actuelle coûteuse et non réalisable dans tous les laboratoires. (Amiel, Abadia et al. 2003)

C) Diagnostic différentiel

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

L'hypothèse d'une affection hépatique doit également être écartée par la mesure de la concentration sanguine des enzymes hépatiques, de la bilirubine et des acides biliaires qui seront la plupart du temps augmentés en cas d'atteinte du foie.

Le diagnostic différentiel doit aussi inclure le purpura hémorragique, dans ce cas il n'y a généralement pas de thrombopénie mais l'historique d'une exposition à *Streptococcus equi* ou à d'autres pathogènes respiratoires.

Quand des infections bactériennes secondaires viennent affecter le tractus respiratoire, l'anaplasmose équine doit être différenciée de la grippe équine ou de toute autre affection respiratoire primaire. (Madigan and Gribble 1987)

Enfin et surtout, le diagnostic doit être établi par rapport à toutes les affections faisant parties du syndrome « piro-like ». Ce syndrome, défini comme l'existence d'une fièvre apparemment isolée, englobe les maladies infectieuses qui sont associées à un tableau clinique de fièvre récurrente d'origine inconnue,

sans symptôme caractéristique. Il peut parfois être accompagné d'ictère, d'anémie ou d'œdèmes périphériques. (Amory and Pitel 2007)

Ainsi, nous devons différencier l'anaplasmose de la piroplasmose causée par *Babesia caballi* ou *Theileria equi*. Etant donné la fréquence beaucoup plus importante en France de cette infection par rapport à l'anaplasmose et la similitude des expressions cliniques (hyperthermie, anorexie, abattement, perte de poids, ictère et œdèmes déclives) le plus souvent, le vétérinaire va instaurer en première intention un traitement à base d'imidocarbe qui, dans le cas d'une infection à *Anaplasma phagocytophilum*, ne sera pas suivie d'amélioration.

La borreliose (maladie de Lyme) causée par *Borrelia burgdorferi* entre aussi dans le diagnostic différentiel des fièvres apparemment isolées. Cette maladie inclut des signes variés tels qu'une fièvre modérée, de la léthargie, de l'anorexie, de la raideur, de la myosite, des arthrites avec distensions articulaires, une uvéite antérieure des avortements et une méningoencéphalite. Cependant, il semble que le nombre de cas cliniques de cette maladie soit limité voire même mis en doute.

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

IV) Traitement et prophylaxie

A) Traitement de l'anaplasmose des équidés

Devant une forte suspicion d'infection d'anaplasmose basée sur des éléments cliniques et épidémiologiques, le traitement antimicrobien doit être amorcé immédiatement d'autant plus si l'état général est fortement altéré. Les vétérinaires ne doivent pas attendre la confirmation d'infection *via* les résultats des tests complémentaires. Chez l'homme comme chez l'animal, les antibiotiques de la classe des tétracyclines constituent le traitement de choix.

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

Des tests montrant l'activité de plusieurs antibiotiques ont été menés en utilisant des cellules HL60 infectées par *A. phagocytophilum*, ceux-ci ont confirmé que la tétracycline est l'antibiotique de choix à utiliser (Maurin, Bakken et al. 2003).

Tableau 1 : Activité de divers antibiotiques sur *A. phagocytophilum* :
(Maurin, Bakken et al. 2003)

Résistant	Beta lactamide : Ampicilline, Ceftriaxone Aminoglycoside : Amikacine Macrolide : Erythromycine Azalide : Azithromycine
Sensible à haute concentration	Sulfamethoxazole + trimethoprime
Sensible (bactériostatique)	Tétracycline Rifampin Levofloxacin Chloramphénicol

D'autres mesures de soutien peuvent également être mises en place dans certains cas selon les symptômes observés. Le cheval peut ainsi être placé sous fluidothérapie, mettre en place des bandes de soutien sur les membres pour limiter l'œdème. Dans le cas d'ataxie sévère, il convient de placer le cheval dans un endroit confiné pour éviter au maximum les risques de blessures traumatiques secondaires.

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

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

B) Mesures de prophylaxie

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

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

Deux acaricides ont une Autorisation de Mise sur le Marché pour le cheval, il s'agit de :

- ACADREX® 60 (fenvalérate) antiparasitaire externe de la famille des pyréthriinoïdes, rémanent et très peu toxique pour les mammifères, il se présente sous la forme d'une solution à diluer pour applications locales et bains.
- SEBACIL® 50 % Solution contenant du Phoxim (organophosphoré), il s'agit également d'une solution à diluer pour application externe.

D'autres produits normalement réservés aux bovins sont également souvent utilisés pour prévenir l'infestation des chevaux, notamment le Butox® qui contient de la deltaméthrine, un pyréthriinoïde ayant une action insecticide ou acaricide. Il s'utilise sous la forme de solution externe à pulvériser ou de Pour-on. Egalement, certains éleveurs utilisent l'ivermectine sous forme injectable (Ivomec®) bien que cette utilisation présente des risques de choc non négligeable chez le cheval.

Par ailleurs, on peut s'interroger sur l'action possible des vermifuges administrés par voie orale à base d'ivermectine sur les tiques. Une étude menée sur des cerfs sauvages a permis de montrer une action acaricide systémique plusieurs mois après l'ingestion d'ivermectine. (Pound, Miller et al. 1996)

Enfin, la destruction des buissons et arbustes à proximité des chevaux peut être justifiée pour diminuer la possibilité de contact entre les tiques et leurs hôtes.

V) Etude des vecteurs de l'anaplasmose équine

A) Quels sont-ils ?

Pendant longtemps le véritable vecteur d'*A. phagocytophilum* est resté inconnu, mais en raison de la saisonnalité de la maladie, une tique était suspectée. Le printemps et l'automne sont les saisons pour lesquelles l'activité des tiques est la plus importante en Europe, alors que c'est le printemps et l'été aux Etats-Unis.

B) Les tiques parasites du cheval

Pour identifier les vecteurs potentiels de l'anaplasmose, il faut s'intéresser aux espèces de tiques capables de parasiter le cheval dans nos régions. Contrairement à ce que nous pouvons imaginer, les espèces de tiques susceptibles de parasiter le cheval sont assez mal connues et peu d'études en dressent une liste exhaustive.

Une étude portant sur l'identification des tiques des chevaux en Italie du sud a permis l'observation de 13 espèces différentes (Khoury, Manilla et al. 1994):

- *Ixodes : ricinus et gibbosus*
- *Haemaphysalis : inermis, parva, punctata et sulcata*
- *Dermacentor marginatus*
- *Rhipicephalus : sanguineus, bursa et turanicus*
- *Hyalomma : marginatum et detritum*
- *Boophilus annulatus*

Néanmoins, les principales espèces de tiques retrouvées chez le cheval en Europe d'après la littérature sont : *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus turanicus*, *Dermacentor marginatus*, et *Hyalomma marginatum*.

C) Le genre *Ixodes*: l'unique vecteur de l'anaplasmose des équidés ?

Depuis, plusieurs études ont montrés que l'anaplasmose équine pouvait être transmise par des tiques du genre *Ixodes*.

Ainsi, lors d'une étude menée en 1993, 80 tiques du genre *Ixodes ricinus* ont été collectées en France dans le Puy-de-Dôme. Une *Ehrlichia* très proche des *Ehrlichia* du groupe *Ehrlichia phagocytophila* a été détectée par PCR chez une tique *Ixodes ricinus*. Ces résultats ont fait suspecter le rôle potentiel d'*Ixodes ricinus* comme vecteur d'ehrlichiose granulocytaire sur notre territoire et la possibilité de la présence de l'ehrlichiose granulocytaire humaine en France et en Europe (Parola, Beati et al. 1998).

De même, l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire humaine a pu être mis en évidence chez des tiques du genre *Ixodes ricinus* en Suisse : 1667 tiques *Ixodes ricinus* ont été collectées dans 5 régions de Suisse où des cas sporadiques d'ehrlichiose granulocytaire chez des chiens et des chevaux sont régulièrement observés. Les tiques ont été testées pour la recherche de rickettsies du groupe d'*Ehrlichia phagocytophila* par «PCR nichée» : 1.3% étaient positives. Le nombre de tiques positives variait selon le stade de développement (0.5% étaient des nymphes, 1.3% des adultes mâles et 1.9% des adultes femelles) et selon l'origine géographique. Les séquences nucléotidiques isolées par PCR sur toutes les tiques étaient identiques et montraient une homologie de 100% avec l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire humaine isolée aux Etats Unis. (Pusterla, Leutenegger et al. 1999)

Par ailleurs, plusieurs études similaires dans d'autres pays européens ont permis de mettre en évidence, des souches d'*Ehrlichia* proche de l'agent de l'ehrlichiose granulocytaire humaine et équine chez des tiques du genre *Ixodes ricinus*; en Allemagne la prévalence était de 4.1% (von Loewenich, Baumgarten et al. 2003), en Slovénie de 3.2% (Petrovec, Sumner et al. 1999) en Autriche de 8,7%. (Polin, Hufnagl et al. 2004)

Anaplasma phagocytophilum a également été retrouvée chez des tiques appartenant à l'espèce *Ixodes trianguliceps* en Grande Bretagne. (Bown, Begon et al. 2003)

Par ailleurs, il apparaît qu'aux Etats-Unis, les vecteurs de l'anaplasmose sont les tiques *Ixodes scapularis* (Magnarelli, Stafford et al. 1995) et *Ixodes pacificus*. (Richter, Kimsey et al. 1996)

En effet, *Anaplasma phagocytophilum* a pu être transmise expérimentalement à des chevaux sains à partir de chevaux infectés via des morsures de tiques du genre *Ixodes pacificus*, il s'agissait en outre de la seule

tique qui infectait systématiquement les chevaux et qui était présente dans la végétation des trois régions où des cas d'anaplasmose équine ont été simultanément retrouvés et, en particulier, *Ixodes pacificus* était la seule espèce retrouvée fixée sur tous les chevaux infectés. (Richter, Kimsey et al. 1996)

De plus, certains chercheurs américains ont pu mettre en corrélation l'épidémiologie de l'ehrlichiose granulocytaire équine avec la distribution spatiale et temporelle d'*Ixodes pacificus* et en se basant sur le mode de vie de cette tique, il semble qu'*Ixodes pacificus* soit le seul vecteur biologique possible d'*Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi* en Californie. (Vredevoe, Richter et al. 1999)

Lors d'une autre étude, des chercheurs ont réussi à isoler in vitro *Anaplasma phagocytophilum* à partir de lignées cellulaires d'*Ixodes scapularis*. L'agent de l'anaplasmose équine a pu être cultivé et la maladie a pu être reproduite expérimentalement en inoculant des cellules infectées chez un cheval. Par la suite, l'organisme a pu être isolé à nouveau dans une culture cellulaire à partir du cheval inoculé. Le cheval présentait tous les symptômes habituellement décrits lors d'anaplasmose et la présence d'*Anaplasma phagocytophilum* chez celui-ci a été confirmée par PCR. (Munderloh, Madigan et al. 1996)

Cependant, plusieurs régions endémiques pour l'anaplasmose présentent un climat méditerranéen caractérisé par des températures élevées et une grande sécheresse or, ces caractéristiques climatiques sont théoriquement incompatibles avec la présence des tiques *Ixodes* qui sont habituellement retrouvées dans des sous-bois humide, en zone de forte végétation. Se pose alors la question du véritable vecteur de l'anaplasmose dans ces régions : s'agit-il tout de même de tiques du genre *Ixodes* qui auraient alors la capacité de s'adapter à un milieu qui leur est théoriquement défavorable ou bien est-ce que d'autres espèces de tiques seraient capables de transmettre *Anaplasma phagocytophilum* ?

Une étude menée en Sardaigne entre 2002 et 2004, a consisté à analyser le sang de chevaux et de chiens récolté par des vétérinaires suite à une suspicion de fièvre liée à une morsure de tique. Au total 70 échantillons de sang ont été prélevés issus de 50 chiens et de 20 chevaux qui étaient parasités par des tiques et présentaient des symptômes tels que de la fièvre, de l'anorexie, de l'ictère (seulement chez les chevaux), de l'anémie, des myalgies et une réticence au mouvement.

Par ailleurs, dans cette même étude, les chercheurs ont extrait l'ADN de 50 tiques du genre *Rhipicephalus sanguineus* issues de 30 chiens parasités.

Les échantillons de sang et les tiques ont été soumis à une recherche PCR pour *Anaplasma phagocytophilum*. Sur les 120 échantillons, 1 tique, 3 chiens et 3 chevaux se sont révélés positifs par PCR vis-à-vis de cette bactérie.

Cette étude a permis de mettre en évidence pour la première fois l'infection à *Anaplasma phagocytophilum* chez des chiens et des chevaux en Sardaigne et, pour la première fois *Anaplasma phagocytophilum* a été isolée dans une tique n'appartenant pas au genre *Ixodes*. Ainsi, la présence d'*Anaplasma phagocytophilum* dans une tique du genre *Rhipicephalus sanguineus* pourrait montrer le rôle de cette tique comme vecteur de l'anaplasmose en Sardaigne. Cette hypothèse est renforcée par la présence respective des différentes espèces de tiques sur l'île. En effet, seulement 0,3 % des 4086 tiques récoltées dans 72 sites de Sardaigne ont été identifiées comme des *Ixodes* alors que les autres genres de tiques étaient largement plus représentés sur l'île (*Rhipicephalus* 67.2%; *Haemaphysalis* 24.1%; *Dermacentor* 4.9%). (Alberti, Addis et al. 2005)

Finalement, si les tiques du genre *Ixodes* sont incontestablement des vecteurs de l'anaplasmose équine aux Etats-Unis et en Europe du Nord, du fait de l'existence de la maladie dans des régions défavorables à la survie de ces tiques, nous pouvons néanmoins légitimement nous interroger sur la capacité pour d'autres espèces de tiques de transmettre *Anaplasma phagocytophilum* biovar *equi* aux chevaux.

D) Etude des Ixodidae

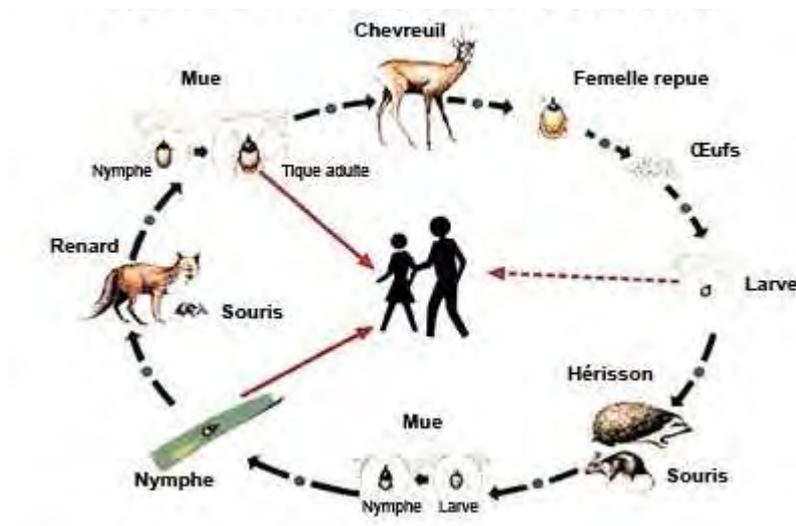
Les tiques sont des acariens dont on connaît environ 850 espèces dans le monde, réparties en trois familles : les tiques dures, ou Ixodidae, représentent environ 670 espèces connues ; elles possèdent des zones de tégument chitinisé dur et s'opposent aux tiques molles les Argasidae qui ont un tégument sans sclérisation ; un seul représentant des Nuttalliellidae a été identifié, il appartient à une famille intermédiaire entre les deux précédentes. (Georges 2001)

Le cycle évolutif des Ixodidae se déroule habituellement en trois stades : de l'œuf naît une larve hexapode, inframillimétrique, à peine perceptible à l'œil nu; après s'être fixée pendant quelques jours sur un vertébré pour se gorger lentement de sang, elle se laisse tomber sur le sol, pour digérer et muer en une nymphe octopode mesurant environ un millimètre à jeun. Le deuxième repas de sang est pris dans les mêmes conditions de durée, la nymphe repue mesure alors

2mm, elle se détache et tombe au sol pour muer en une tique adulte de 3 à 4 mm. La femelle, après copulation, devra une dernière fois se gorger pleinement de sang, jusqu'à prendre la taille d'un petit pois. Ce repas lui permettra de pondre de 1 000 à 20 000 œufs, selon l'espèce et le sang ingéré, avant de se dessécher et de mourir.

Malgré le nombre d'œufs pondus, la densité de ces acariens reste relativement stable d'une année sur l'autre. Le taux de survie demeure en effet très modeste. Le mâle ne s'alimente pas, ou rarement et très peu. La durée d'un cycle est en moyenne de 2 à 4 ans, pouvant aller à 7 ans si les conditions climatiques ne sont pas favorables l'acarien entre alors dans une phase de diapause. (Georges 2001)

Figure 3 : Cycle de développement d'une tique



(Georges 2001)

a. Le genre *Ixodes*

Le genre *Ixodes* est représenté en France par *Ixodes ricinus* qui est de loin l'espèce la plus répandue.

Le cycle de vie d'*Ixodes ricinus* dure en moyenne 2 à 4 ans et se décompose en 3 stases (larve, nymphe et adulte) qui correspondent chacune à un stade parasitaire hématophage pendant lequel la tique se fixe 3 à 10 jours sur un hôte. La tique gorgée se détache ensuite pour muer ou si c'est une femelle fécondée, pour pondre. Les phases de développement, de mue et de ponte sont réalisées à même le sol. Leur durée est fonction de la température. (Boyard, Gasqui et al. 2007)

La nature des hôtes d'*Ixodes ricinus* est remarquablement variée : grands et petits mammifères, oiseaux et reptiles, il accepte plus de 300 espèces d'hôtes. S'il y a ubiquité parasitaire, il n'y a jamais égalité de choix entre les différentes catégories d'hôtes et cette préférence peut s'exprimer en pourcentage : 80 à 90% des immatures se retrouvent sur des rongeurs (essentiellement campagnol et mulots), insectivores (musaraignes et hérissons) et oiseaux ; 10 à 20% sur léporidés, carnivores et ongulés ; les adultes se retrouvent presque exclusivement sur les grands mammifères sauvages et domestiques (cervidés, sangliers, renards, chiens, moutons). A noter qu'à ses trois stades évolutifs il est susceptible de s'attaquer à l'Homme. (Perez et Rodhain 1977)

Bien qu'*Ixodes ricinus* soit assez répandue en France, elle paraît cependant quasiment absente de toute la zone soumise au climat méditerranéen (Provence, Languedoc, Roussillon), où seuls quelques individus isolés ont pu être détectés, et de distribution restreinte dans les formations situées au-dessus de 1 000 m. Elle est fréquente dans tout le reste de la France, comme a pu le montrer une étude où a été réalisé un découpage du territoire français en 54 zones phytoécologiques, *I. ricinus* a été décelé dans les 54 zones échantillonnées sauf 3, soit sur 95 % du territoire étudié (Gilot and Perez-Eid 1998). Les aires négatives ne dépassent pas 1/20 du territoire national et correspondent, pour l'essentiel, à des zones soumises aux inondations périodiques ou trop sèches. Cependant, la répartition de ces acariens n'est pas uniforme : la densité des populations varie en fonction de différents facteurs : qui sont tous indirectement liés entre eux :

- la température ambiante
- l'hygrométrie
- la végétation

Figure 4 : Aire de répartition d'*Ixodes ricinus* en Europe :



(Georges 2001)

Très hygrophile, *Ixodes ricinus* vit dans les sous-bois humides et dans différents biotopes abrités où la végétation est abondante (sous-bois, prairie en bordure de bois, haies, bosquets, fougères). Végétation couvrante ou anfractuosités du terrain à forte humidité sont donc des lieux de prédilection pour les tiques pour autant qu'il y ait passage et regroupement d'animaux hôte (Guetard 2001).

Après éclosion des œufs en larves ou après la mue, pour les nymphes et les adultes, *Ixodes ricinus* entre dans une phase de recherche d'hôte. Elle attend à l'affût sur des herbes, fougères, feuilles mortes, etc., qu'un hôte potentiel vienne la frôler. C'est la période d'activité des tiques. Le temps qui s'écoule entre le moment où la tique gorgée se détache de l'hôte et le moment où cette même tique entre en activité est variable. En effet, la tique peut à tout moment de son cycle entrer dans une phase de diapause, ce qui lui permettra de revenir en activité au moment le plus favorable. (Boyard, Gasqui et al. 2007)

Le rôle vecteur de l'espèce reste très diversifié. Elle transmet principalement deux maladies à l'homme : une arbovirose, le plus souvent caractérisée par une encéphalite, l'encéphalite à tiques ou Tick-Borne-Encephalitis (TBE) des anglo-saxons, et une bactériose, due à une bactérie spiralee du genre *Borrelia* : la borréliose de Lyme. Plus accessoirement l'espèce est vectrice pour l'homme de la babésiose humaine à *Babesia divergens*. Sur le plan vétérinaire, la tique est vectrice des babésioses et des piroplasmoses. (Gilot and Perez-Eid 1998)

b. Le genre *Dermacentor*

Les tiques du genre *Dermacentor* présentent un cycle triphasique¹, ditrope². Les stades immatures sont endophiles (les nymphes et les larves parasitent les micro-mammifères), alors que le stade adulte est exophile les tiques parasitant essentiellement le chien et plus rarement les autres carnivores, domestiques et sauvages. Les ongulés sont aussi parasités mais ce parasitisme est en général très secondaire par rapport à celui du chien.

L'adulte pratique l'affût sur la végétation, mais davantage en milieu ouvert qu'*Ixodes ricinus*, car il préfère les prairies et les bosquets, aux forêts où il se limite plutôt à la lisière des chemins et aux clairières. Sa présence est retrouvée aussi en zone péri-urbaine notamment dans les terrains vagues.

¹ Triphasique : on parle de cycle triphasique lorsqu'une tique parasite trois hôtes au cours de son cycle (c'est le cas le plus fréquent)

² Ditrope : on parle de cycle ditrope lorsque les larves et les nymphes parasitent une catégorie d'hôtes (souvent des petits mammifères, des oiseaux ou des reptiles) et les adultes parasitent une autre catégorie d'hôtes (souvent des grands mammifères).

Le genre *Dermacentor* est représenté en France par deux espèces voisines : *Dermacentor reticulatus* et *Dermacentor marginatus*.

***Dermacentor reticulatus* :**

Si dans la plupart des pays européens *Dermacentor reticulatus* paraît être absent ou très localisé, il n'en est pas de même en France où l'espèce est distribuée dans la quasi-totalité du pays, témoignant d'une grande faculté d'adaptation aux multiples conditions écologiques qui lui sont offertes. La preuve en est apportée par les nombreuses collectes sur la végétation, dans différentes régions. Cependant il convient de souligner la très inégale fréquence d'implantation de l'espèce selon le contexte climatologique. Ainsi les populations se raréfient considérablement, pour disparaître à peu près complètement, lorsqu'on aborde la zone soumise au climat méditerranéen. L'espèce y a cependant été détectée (Provence, Roussillon) sous la forme de petites populations isolées (Gilot and Perez-Eid 1998).

Figure 5 : Aire de répartition de *Dermacentor reticulatus* en Europe :



(Georges 2001)

Dermacentor reticulatus reste actif presque toute l'année, mais il ne peut pas être collecté par des températures inférieures à 0°C ; il marque une véritable diapause en été. La période d'activité maximale se situe au printemps et en automne.

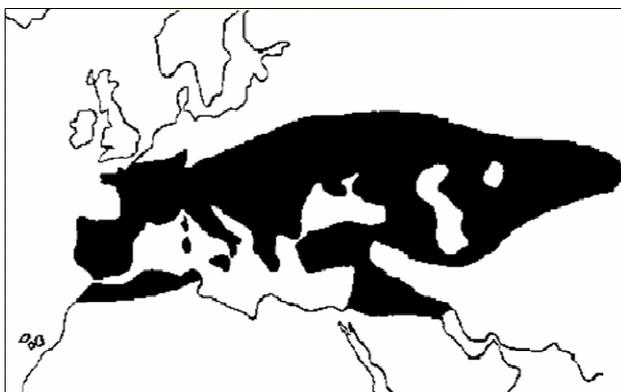
Le rôle de *Dermacentor reticulatus* est de premier plan en médecine vétérinaire car l'espèce transmet de nombreux protozoaires dont le principal est *Babesia canis*, à l'origine de la babésiose du chien et *Babesia caballi* au cheval.

***Dermacentor marginatus* :**

Dermacentor marginatus est une espèce très voisine de *Dermacentor reticulatus*, tant sur le plan de la morphologie que sur celui des agents pathogènes qu'elle transmet. Elle est retrouvée plus au sud, notamment dans les pays qui bordent la Méditerranée. (Gilot and Perez-Eid 1998)

L'espèce est assez abondante dans notre pays, notamment dans l'ouest et le midi méditerranéen, sa répartition suit celle des animaux domestiques, son cycle est identique à celui de *Dermacentor reticulatus*.

Figure 6 : Aire de répartition de *Dermacentor marginatus* en Europe :



(Georges 2001)

Dermacentor marginatus a un rôle de vecteur pour l'anaplasmose à *Anaplasma ovis* qui affecte les moutons, et également les piroplasmoses des équidés (*Babesia caballi* et *Theileria equi*).

c. Le genre *Rhipicephalus*

Le genre *Rhipicephalus* comporte environ 65 espèces parasites de mammifères réparties en Eurasie et en Afrique. Ces tiques se nourrissent essentiellement sur des mammifères. (Bourdeau 1993)

La faune des tiques de France comporte quatre espèces appartenant à deux sous genres : *Rhipicephalus bursa* du sous genre *Digineus* ; *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus pusillus* et *Rhipicephalus turanicus* du sous genre *Rhipicephalus*. Pour la quasi-totalité des espèces le cycle est triphasique sauf pour les espèces du sous genre *Digineus* (comprenant *R bursa*) qui sont diphasiques. (Perez 2007)

Rhipicephalus (Dignus) bursa

Rhipicephalus bursa est une espèce diphasique, ainsi après gorgement, les larves ne se laissent pas tomber au sol mais muent sur l'hôte (en général un ongulé) et les nymphes prennent leur repas à leur tour sur le même animal ; les nymphes, elles, se laissent tomber sur le sol après leur repas et y muent en adultes, lesquels se gorgeront sur un nouvel ongulé. C'est une espèce exophile monotrope à sélectivité parasitaire qui porte vers les ongulés sauvages ou domestiques : bovidés, capridés, ovidés, suidés, équidés. Elle vit dans les formations semi-ouvertes ou ouvertes, notamment du maquis méditerranéen, souvent en conditions péri-domestiques. En France, *Rhipicephalus bursa* est relativement peu abondante et son aire de distribution ne dépasse pas l'étage sub-méditerranéen. L'importance médico-vétérinaire de cette espèce est multiple puisque cette tique transmet l'agent de la babésiose bovine à *Babesia bigemina* ainsi que probablement l'agent de l'anaplasmose bovine (*Anaplasma marginale*) et celui de l'anaplasmose des petits ruminants (*Anaplasma ovis*) et la transmission expérimentale de *Theileria equi* a récemment été démontrée en Espagne. (Perez 2007)

Rhipicephalus pusillus

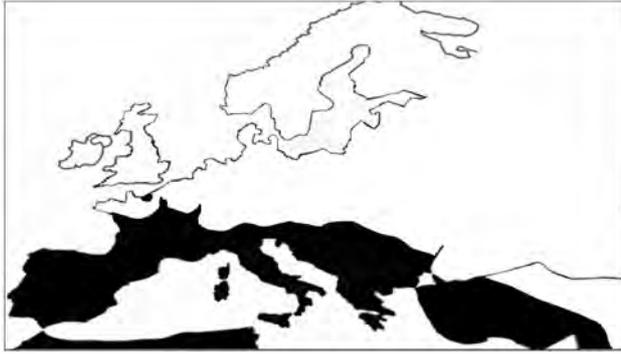
Rhipicephalus pusillus est une espèce triphasique, elle est endophile et donc monotrope³ avec le lapin pour hôte très préférentiel dans le terrier duquel elle vit. En France, l'espèce est surtout présente dans la zone à climat méditerranéen. (Perez 2007)

Rhipicephalus sanguineus

Rhipicephalus sanguineus est une espèce triphasique. Elle est essentiellement endophile et donc monotrope en Europe avec le chien pour hôte quasi exclusif bien qu'il soit capable de se nourrir sur un grand nombre d'espèces hôtes (chat, rat et divers rongeurs, léporidés...). Sa fixation sur l'homme est possible mais s'accompagne rarement de gorgement véritable. Cette espèce est très abondante dans le midi méditerranéen et le sud-ouest de la France son extension est liée à celle de son hôte principal : le chien, ainsi, l'espèce est susceptible d'être rencontrée aussi bien en Bretagne que dans le Bassin Parisien et même, plus sporadiquement, dans le nord du pays. Son adaptation parfaite à la sécheresse lui permet les invasions domiciliaires. (Gilot and Perez-Eid 1998)

³ Monotrope : se dit d'un cycle où tous les stades sont sur le même type d'hôtes.

Figure 7 : Aire de répartition de *Rhipicephalus sanguineus* :



(Georges 2001)

La tique est considérée comme le réservoir et le vecteur de la fièvre boutonneuse à *Rickettsia conorii* qui affecte l'homme. Sur le plan vétérinaire, *Rhipicephalus sanguineus* transmet en France l'ehrlichiose canine monocytaire à *Ehrlichia canis*, l'hémobartonellose canine à *Hemobartonella canis* et l'hépatozoonose canine à *hepatozoon canis*. (Gilot and Perez-Eid 1998)

Rhipicephalus turanicus

R. turanicus est triphasique, elle a un comportement ditrope avec des larves et des nymphes endophiles parasites des petits mammifères, rongeurs et insectivores, et des adultes exophiles parasites d'animaux de plus grande taille. En France, où les adultes ne seraient actifs que de mars à mai-juin, l'espèce parasite le chien comme les animaux de grande taille : bovins, caprins, ovins, et divers animaux sauvages tels que renards, fouines, sangliers... *R. turanicus* est en France, présent dans la zone soumise au climat chaud avec pour limite la zone du chêne vert (Perez 2007). En pathologie vétérinaire, parallèlement à *R. bursa*, *R. turanicus* transmet aux petits ruminants, *Babesia ovis* et *Anaplasma ovis* dans une large partie sud de l'Europe.

d. Le genre *Hyalomma*

Il existe une trentaine d'espèce de tiques du genre *Hyalomma*, parasites d'ongulés en Eurasie et en Afrique.

La majeure partie des espèces de *Hyalomma* est triphasique mais, comme le genre est particulièrement adapté aux milieux les plus difficiles, certaines espèces se sont adaptées par l'intermédiaire de cycles diphasiques, plus rarement monophasiques. Le ditropisme est la règle pour les espèces triphasiques, avec un tropisme des adultes envers les grands mammifères et des larves et nymphes le plus souvent envers les rongeurs. Tous les adultes libres sont exophiles et pratiquent un affut actif. La faune des tiques de France

comporte deux espèces endémiques : *Hyalomma lusitanicum* et *Hyalomma marginatum marginatum* (Perez 2007).

Hyalomma lusitanicum

H.lusitanicum est une espèce triphasique ditrope et a un comportement parasitaire sélectif avec des larves et des nymphes qui endophiles, confinées dans le terrier du lapin de garenne qu'elles parasitent de manière exclusive, et des adultes exophiles, qui parasitent les mammifères de grande taille, notamment les bovins mais aussi d'autres ongulés domestiques ou sauvages. *H.lusitanicum* est essentiellement retrouvée en Espagne et dans la moitié sud de l'Italie alors qu'en France cette tique ne survit que dans la frange la plus méridionale du pays, dans des refuges botaniques particuliers tels que les terres salées du delta du Rhône. En Espagne, *H.lusitanicum* est reconnue vecteur de *Theilera annulata* responsable de la theileriose des bovins, alors qu'en France, sa présence très discrète ne permet pas qu'on lui attribue de rôle pathogène.

Hyalomma marginatum marginatum

H.marginatum marginatum est une espèce diphasique ditrope et a un comportement parasitaire sélectif avec des larves et des nymphes qui parasitent généralement les lièvres ou les oiseaux alors que les adultes sont parasites des grands ongulés sauvages ou domestiques. L'espèce a une vaste aire de distribution dans tous les pays du pourtour méditerranéen.(Perez 2007)

Finalement d'après les renseignements fournis par la littérature, en considérant les répartitions territoriale de chaque tique, les espèces que l'on s'attend à récolter majoritairement dans l'environnement camarguais sont :

Rhipicephalus sanguineus, *Rhipicephalus turanicus*, *Rhipicephalus bursa*, *Dermacentor marginatus*, *Hyalomma lusitanicum* et *Hyalomma marginatum*.

Si on considère ensuite les espèces capables de parasiter les équidés, on peut s'attendre à récolter sur les chevaux camarguais les espèces suivantes :

Rhipicephalus turanicus, *Rhipicephalus bursa*, *Hyalomma marginatum* et *Dermacentor marginatus*.

Notre étude ayant pour but de lister les espèces de tiques potentiellement vectrices de l'anaplasmose granulocytaire équine en Camargue, nous avons procédé à la récolte puis à l'identification des tiques présentes dans l'environnement et sur les chevaux afin de vérifier les données de la littérature. Nous allons donc maintenant voir la méthode que nous avons utilisée pour réaliser ces prélèvements puis les résultats que nous avons obtenus.

Deuxième partie étude pratique :
Récolte et identification des
vecteurs potentiels d'*Anaplasma*
phagocytophilum

I Objectif de l'étude

L'objectif de notre étude est d'identifier la ou les espèces de tiques vectrices potentielles d'*Anaplasma phagocytophilum* chez le cheval en Camargue (région endémique de l'anaplasmose équine en France).

Nous avons donc cherché à identifier les espèces de tiques présentes dans la région d'étude et dans l'environnement proche des chevaux d'une part ainsi que les espèces de tiques parasites du cheval dans cette même région d'autre part.

En effet, l'étude bibliographique nous a permis de mettre en évidence des lacunes quant à la connaissance des tiques parasites du cheval et présentes dans le sud méditerranéen de la France. D'autre part, la littérature indique généralement *Ixodes ricinus* comme vecteur présumé de l'anaplasmose équine en France et en Europe or, il est généralement admis que cette espèce de tique est absente du pourtour méditerranéen. Se pose donc la question de savoir si *Ixodes ricinus* est réellement le vecteur de l'anaplasmose équine dans le sud de la France ou si le vecteur pourrait être une autre espèce de tique plus abondante dans cette région.

II Données préalables

A) Délimitation géographique et caractéristiques de la zone d'étude :

La zone d'étude est la Camargue au sens large, elle occupe une surface de 50km² environ, cette zone est délimitée par :

- A l'ouest : Mauguio, Aigues-Vive et Baillargues
- Au nord : Nîmes, Tarascon et Beaucaire
- A l'est : Saint Martin de Crau et Port Saint Louis
- Au Sud : la mer.

Figure 8 : Carte de la Camargue (www.lemasduluron.com, 2008)



La Camargue est composée de nombreux écosystèmes variant à la fois dans le temps et dans l'espace, abritant une avifaune tout aussi variée en fonction des saisons.

La Camargue au sens strict est la zone comprise entre les deux bras du Rhône. Au sens large, elle est constituée de la Grande Camargue entre les 2 bras du Rhône, de la Petite Camargue située à l'ouest des Saintes-Maries-de-la-Mer, de la Camargue Gardoise à l'ouest du petit bras du Rhône, et du Plan du Bourg, à l'Est du grand bras du Rhône.

La diversité écologique repose sur 3 caractéristiques :

- la topographie décroissante, de la tête de la Camargue (Arles), jusqu'à la mer, avec environ 20% de l'espace qui est situé en dessous du niveau de la mer.
- la salinité des eaux et des sols globalement croissante du Nord au Sud
- la nature des sols, à dominante sableuse vers l'ouest, limoneuse et argileuse vers l'est.

Tout milieu est susceptible de subir des modifications importantes et rapides par suite des fortes variations des conditions de submersion et d'inondation qu'elles soient d'origine humaine ou météorologique. Les écarts de température, d'ensoleillement ou d'hygrométrie entre les saisons et au sein d'une même journée peuvent être très grands.(Blondel,1981)

La Camargue montre une mosaïque de biotopes dispersés entre les deux bras du Rhône. Du Nord au sud, on rencontre :

- La forêt riveraine, établie le long des deux bras du Rhône, c'est une forêt dense, composée uniquement d'arbres au feuillage dense caduque.

- les cultures, composées des rizières, des vignes, des céréales et des prairies.

- Les sansouires, étendues caractéristiques de la Camargue, formées par les salicornes, seules plantes à s'adapter à ce sol fortement imprégné de sel, elles se présentent sous un aspect moutonné de couleur verte en été et rougeâtre en hiver. Cette végétation très particulière occupe presque toutes les terres salées de la Camargue laguno-marine.

- Les pelouses à saladelles, dans les terrains plus secs et moins salés, il s'agit d'une végétation plus riche et plus épaisse qui recouvre complètement le sol. Ces zones sont souvent traversées par des roubines. Une végétation herbacée et de nombreux arbres poussent sur les bourrelets jusqu'à former de véritables bosquets envahis par les ronces.

- Les marais, ils sont alimentés par les eaux de pluie. Ils occupent les innombrables dépressions de la sansouire. Leur salinité très faible (de 0,5g à 5g/l) permet la présence d'une flore d'eau douce.

- Les Etangs saumâtres et lagunes. D'origine laguno-marine, les étangs saumâtres occupent tout le sud du Delta. Ils sont en général peu profonds, seuls d'importants massifs d'herbiers immergés s'y développent. (Blondel,1981)

Le climat de la zone d'étude est un climat méditerranéen, il se caractérise par un été chaud et sec, un automne où se concentrent les pluies et un hiver doux. La température moyenne annuelle est d'environ 20°C.

B) Le cheval dans la zone d'étude

Le cheval est omniprésent dans cette zone, qu'il s'agisse de chevaux de propriétaire, de centre équestre ou de « manade » (troupeau de chevaux et de taureaux en semi-liberté).

Le cheval Camargue fait partie des plus anciennes races du monde, d'origine tellement lointaine que celle-ci demeure encore entourée de mystères : d'origine arabe, barbe, asiatique ou celte, descendant du cheval de Prewjalsky, le cheval Camargue présenterait plutôt de nettes similitudes avec le cheval de Solutré.

Le nombre de chevaux résidant dans la zone est estimé à 7000 (données AFSSA et RGA 2000).

C) Etude préliminaire de 2007 (Tilliette 2008)

a. Objectifs de l'étude de 2007

Une enquête séro-épidémiologique sur les chevaux a été effectuée en 2007, dans la zone d'étude en Camargue. Cette enquête avait pour but d'établir la prévalence de l'anaplasmosse équine en Camargue grâce à l'analyse de prélèvements sanguins des chevaux de la zone d'étude et de comparer cette prévalence avec les résultats trouvés dans cette même région en 2001, ceci afin d'étudier une possible émergence de la maladie.

L'étude consistait également à recueillir des informations sur les chevaux prélevés et sur les écuries afin d'étudier les facteurs de risque potentiels de l'anaplasmosse des équidés.

Une récolte de tiques sur les chevaux prélevés été également entrepris afin de connaître les tiques parasite du cheval dans la zone d'étude.

b. Protocole et modalités d'échantillonnage

Les écuries ont été sélectionnées au hasard, parmi les clientèles des vétérinaires équins exerçant dans la zone d'étude, avec une répartition géographique la plus homogène possible. Dans la mesure du possible, tous les chevaux présents au moment de la visite été prélevés dans chaque écurie.

Le test utilisé pour les analyses sérologiques était un test d'immunofluorescence indirect.

Les coordonnées GPS de chaque site été également relevées afin de pouvoir ensuite situer les différentes écuries sur une carte.

La collecte de tiques sur les chevaux a été réalisée manuellement après inspection des zones de fixation préférentielle, au mois de mai 2007.

c. Résultats de l'étude préliminaire

L'enquête de terrain de 2007, a permis de prélever des échantillons de sérum sur 643 chevaux dans 118 sites visités.

Les résultats des analyses sérologiques sont les suivant :
Sur les 643 chevaux prélevés, 91 sont positifs au criblage (dilution au 50ème), soit une séroprévalence de 14,2%, après dilution, seuls 55 sérums se sont avérés positifs au moins au 100ème, ce qui donne une séroprévalence de 8,6% (IC95% = 7,5 - 9,7) et le nombre de douteux s'élève à 8, soit 1,2%. (Tilliette 2008)

Tableau 2 : Résultats des sérologies sur l'ensemble des chevaux

Statut sérologique du cheval	Négatif	Douteux	Positif au 100ème	Positif au 200 ^{ème}	Positif au 400ème	Positif au 800ème	Positif au 1600ème	Total
Nombre de chevaux	580	8	27	15	9	3	1	643
Pourcentage dans la population étudiée	90,2 %	1,2 %	4,2 %	2,3 %	1,4 %	0,5 %	0,2 %	100 %

Parmi les chevaux séropositifs, la moitié sont positifs au-delà du 100ème et 23% sont très fortement positifs, avec des anticorps retrouvés à des dilutions allant du 400ème au 1600ème.

Pour la suite de l'exposé, une écurie est définie positive vis-à-vis de l'anaplasmose équine si au moins un des chevaux de l'écurie est séropositif. Sur les 84 écuries de l'étude, 33 sont positives (39,3 %, IC95% : 34-45%).

Tableau 3 : Résultats des écuries

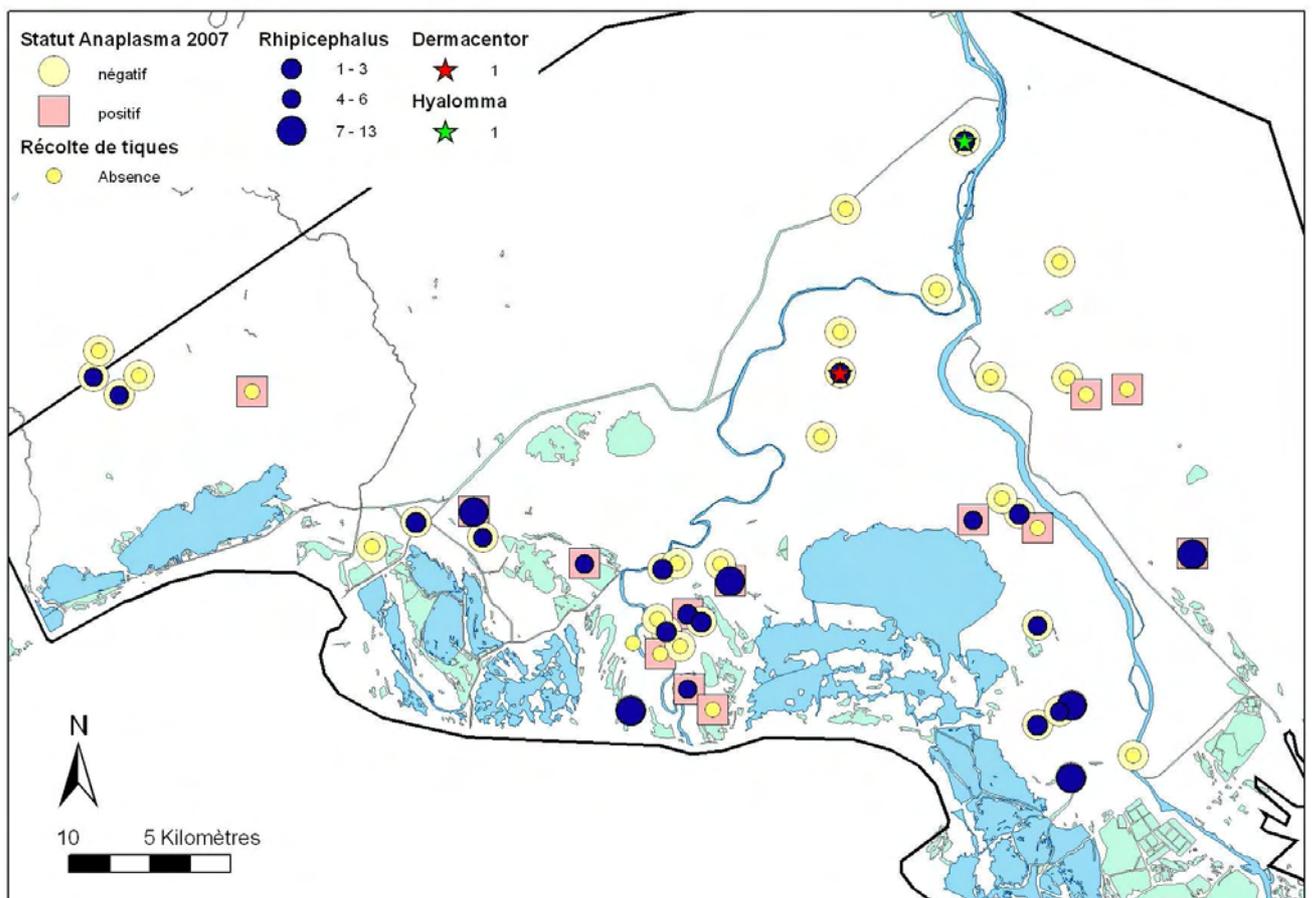
Proportion de chevaux séropositifs par écurie (nombre minimum et maximum de chevaux séropositifs par écurie)	Aucun (0)	<10% (1)	De 10 à 19% (1 à 2)	De 20 à 30% (1 à 8)	> 30% (1 à 6)	Total
Nombre d'écuries Concernées	51	2	14	10	7	84
Pourcentage sur l'ensemble des écuries	60,7 %	2,4 %	16,7 %	11,9 %	8,3 %	100 %

Grace aux coordonnées GPS relevées sur chaque site, les différentes écuries ont pu être situées sur une carte. L'étude de la répartition de celles-ci en fonction de leur statut sérologique a permis de mettre en évidence une agrégation des sites positifs, les écuries positives étant essentiellement situées dans les zones humides, notamment autour de l'Etang de Vaccarès et le long des rivières et canaux de l'arrière pays gardois. (Tilliette 2008)

Concernant l'étude des facteurs de risque potentiels, 4 données ont été testées pour identifier un lien avec la réponse sérologique des chevaux pour l'anaplasmose : La race, le sexe, l'activité et l'âge ; d'après les résultats obtenus, aucune association significative n'a finalement été notée entre le statut sérologique anaplasmose et ces 4 critères. Concernant les écuries, aucun lien significatif n'est observé entre l'activité des écuries et leur statut vis-à-vis de l'anaplasmose. (Tilliette 2008)

Le prélèvement de tiques sur les chevaux examinés a permis la récolte de 105 tiques. Sur la trentaine d'écuries enquêtées, 19 avaient des chevaux parasités. Le genre, le sexe et le stade de chaque tique ont été déterminés à l'aide d'une loupe binoculaire. Toutes les tiques étaient des adultes, une tique adulte femelle du genre *Dermacentor* et un adulte mâle du genre *Hyalomma* ont été identifiés, les autres tiques étaient toutes du genre *Rhipicephalus* (43 femelles et 60 mâles).

Figure 9 : Répartition des espèces de tiques prélevées sur les chevaux en 2007



Aucune tique du genre *Ixodes* n'a été collectée durant cette période sur ces chevaux. Or, nous avons déjà vu que le vecteur présumé d'*Anaplasma phagocytophilum* en Europe et en France est une tique du genre *Ixodes* et plus précisément, la littérature et diverses études placent *Ixodes ricinus* comme vecteur principal de l'anaplasmose. C'est pourquoi, lors de notre étude, en 2008, nous avons cherché à mettre en évidence par des collectes sur les chevaux et dans leur environnement, des tiques du genre *Ixodes*.

III) Matériel et méthode

A) Sélection des écuries

Le terme d'écurie est ici employé au sens large, il regroupe en fait toutes les structures possédant des chevaux : particuliers, manades, centre équestres... Pour les études séro-épidémiologiques réalisées en 2005 et 2007, les écuries ont été sélectionnées au hasard, parmi les clientèles des vétérinaires équins exerçant dans la zone d'étude, avec une répartition géographique la plus homogène possible.

En 2008, la récolte de tiques sur les chevaux et les prises de sang se sont déroulées dans la continuité de l'année 2007, les nouvelles écuries étant sélectionnées de façon à compléter la répartition territoriale dans la zone d'étude.

Pour chaque écurie, le relevé des coordonnées géographiques grâce à un GPS nous permet de cartographier la localisation des chevaux d'une part et la pâture prélevée d'autre part.

Dans chaque écurie, dans la mesure du possible, environ 10 chevaux sont prélevés et examinés.

B) Période d'étude

L'étude se déroule au printemps sur trois périodes de quinze jours en avril, en mai et en juin. Ces périodes correspondant au pic théorique de l'activité des tiques du genre *Ixodes*.

C) Prélèvement de sang et de tiques sur les chevaux

Dans les écuries nous avons procédé à la récolte des tiques sur les chevaux d'une part et sur la végétation d'autre part. Les chevaux présents dans la pâture sont examinés individuellement, et plus particulièrement les sites de fixation préférentiels des tiques (tête, encolure, ars, aine, queue et extrémités des membres).

Les tiques repérées sur les chevaux, qu'elles soient fixées ou pas, sont extraites manuellement et placées dans de l'alcool non dénaturé à 70°. Chaque tube est immédiatement identifié par un numéro. En effet, à chaque cheval correspond un numéro d'identifiant composé du numéro de l'écurie suivi du numéro correspondant au cheval dans l'écurie, ceci afin de garantir l'anonymat dans la suite de l'étude.

Par ailleurs, une prise de sang sur tube sec et tube EDTA est réalisée sur tous les chevaux pour la recherche d'une infection vis-à-vis d'*Anaplasma phagocytophilum* par sérologie et éventuellement PCR. Les renseignements sur l'état de santé du cheval dans les mois précédents sont également recueillis. (Voir questionnaire maladie en annexe).

D) Sélection des pâtures et récolte des tiques sur la végétation

Pour le prélèvement de tiques dans la végétation, 21 écuries ont été tirées au sort dans la base de données.

La base de données contenait les références de 84 écuries dans lesquelles des chevaux avaient été prélevés en 2007 et pour lesquelles les résultats vis-à-vis de l'anaplasmose étaient connus. Parmi elles, des écuries « positives » et des écuries « négatives » ont été définies sachant qu'une écurie est considérée comme « positive » lorsqu'au moins un des chevaux prélevé dans l'écurie en 2007 s'est avéré positif vis-à-vis d'*Anaplasma Phagocytophilum* par le test d'immunofluorescence indirecte et qu'une écurie est considérée comme négative lorsque tous les chevaux prélevés dans cette écurie se sont avérés négatifs. Ainsi, sur les 84 écuries, 33 sont « positives ».

Nous avons choisi dans le cadre de notre étude de récolter les tiques uniquement dans l'environnement des écuries qui s'étaient révélées positives en 2007.

Ainsi, 21 écuries ont été tirées au sort parmi les 33 écuries positives. Par ailleurs, les écuries ayant un effectif supérieur ou égal à 5 chevaux ont été sélectionnées pour une plus grande représentativité.

Une seule pâture par écurie a été échantillonnée. La pâture est choisie avec l'éleveur, en fonction des critères suivants :

- pâture fréquentée par les chevaux actuellement ou dans les mois qui précèdent la visite
- en prairie naturelle,
- de préférence où il y a des broussailles et/ou des bosquets.

La méthode d'échantillonnage de la pâture s'effectue selon la technique du drapeau, décrite par Boyard et coll. en 2007. Il s'agit d'une collecte par leurre mécanique qui joue sur la réponse des tiques en recherche d'hôte à une incitation mécanique. Les avantages de la technique au drapeau sont triples. D'une part, elle permet de situer très exactement le site de collecte, elle permet aussi de quantifier la densité de l'espèce de tique, par unité de temps ou de surface, enfin, elle peut être employée sur des territoires étendus à un prix de revient très réduit. Les limites de cette technique sont liées d'une part aux conditions météorologiques, puisque son emploi est impossible en temps de pluie, de fortes rosées ou de vent trop violent, d'autre part au type de végétation car son utilisation est délicate lorsque les formations végétales sont denses ou dominées par des épineux (Perez 2007).

La méthode d'échantillonnage de la pâture par la technique du drapeau permet la récolte des tiques qui sont à l'affût sur la végétation. Or la hauteur à laquelle les tiques attendent le passage d'un hôte est variable selon le stade (adulte, nymphe ou larve) et selon la hauteur maximale de la végétation. En végétation basse (80 cm), les larves se placent préférentiellement entre 0 et 9 cm au dessus du sol, les nymphes entre 30 et 39 cm. En végétation haute (140 cm), les larves se trouvent entre 10 et 19 cm, les nymphes entre 50 et 59 cm et les adultes entre 60 et 79 cm. L'hypothèse expliquant cette répartition sélective des stades est que les tiques sont à l'affût là où elles vont trouver leurs hôtes préférés.

Par ailleurs, température et humidité relative agissent de manière importante sur la distribution verticale des tiques en modifiant leurs besoins en eau, ce qui explique qu'il existe des périodes de l'année plus favorable à l'affût (Meljon and Jaenson 1997).

Dans notre étude, nous disposons de pièces de tissu en éponge de 1 mètre de large sur un mètre de long. Le tissu est utilisé monté sur un manche à la manière d'un drapeau, le tout étant tiré à l'aide d'une ficelle par l'opérateur qui marche à l'avant du dispositif. Pour un meilleur repérage des tiques, le tissu est de couleur claire. Le tissu en éponge est changé à chaque nouvelle pâture et est remplacé par un nouveau propre.

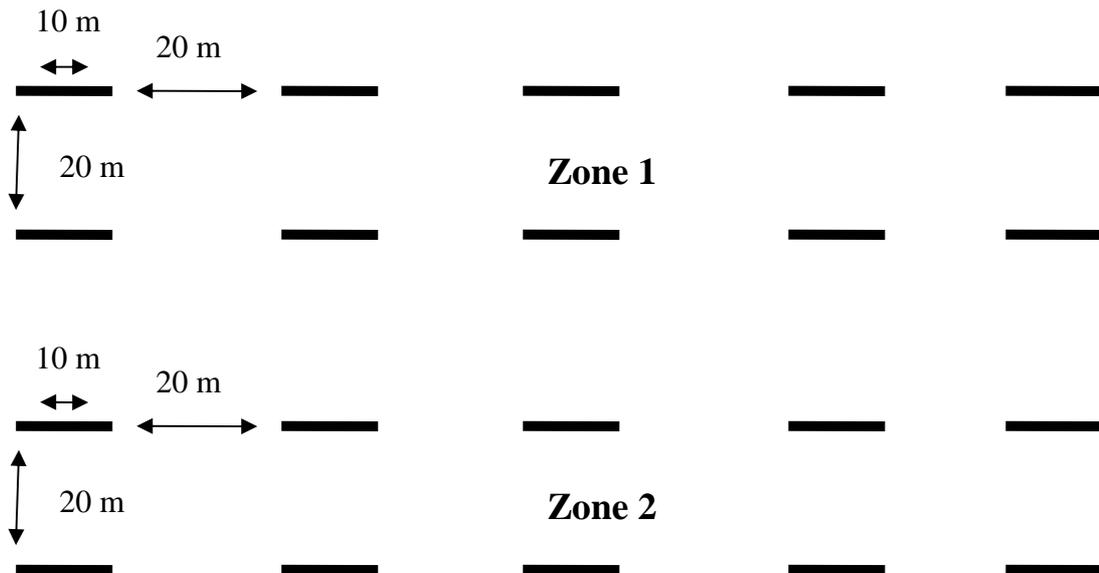
Figure 10 : récolte des tiques par la méthode du drapeau



Pour chaque pâture deux zones sont échantillonnées, les deux zones sont choisies de manière à couvrir l'ensemble de la pâture ou selon une estimation de la plus grande probabilité de trouver des tiques en fonction de la végétation.

Dix tranches de 10m, espacées de 20m sont échantillonnées pour chaque zone.

Figure 11 : Schéma de récolte des tiques dans la pâture :

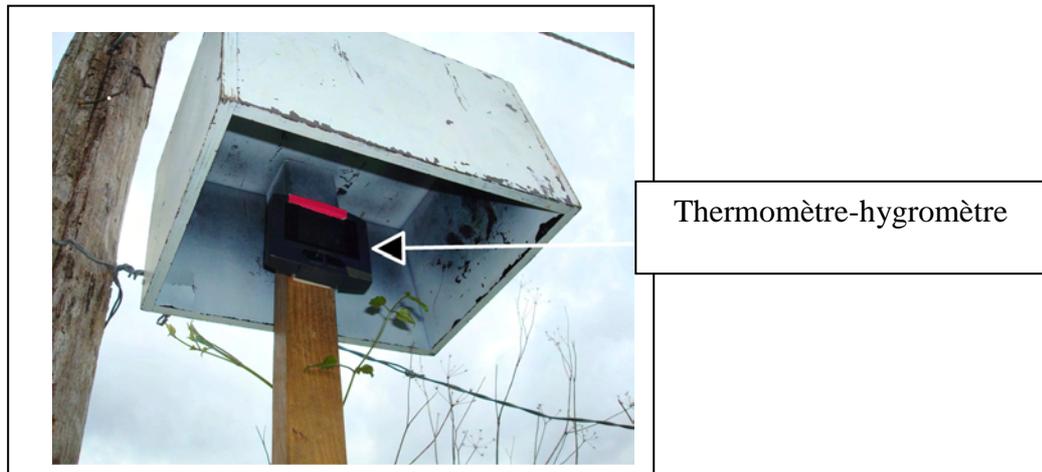
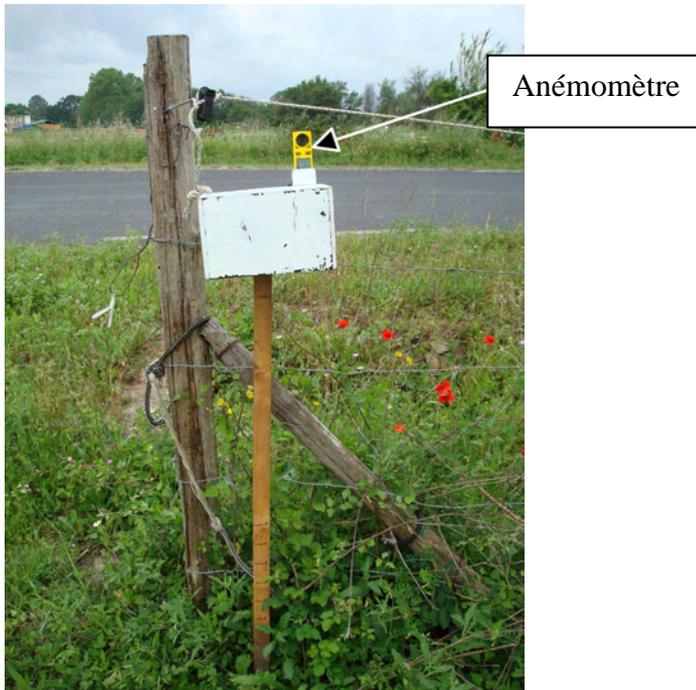


Chaque pâture est identifiée par un numéro correspondant au numéro de l'écurie, ensuite, les 2 zones sont différenciées par l'addition de Z1 ou Z2 à la suite du numéro.

Pour chaque zone, les tiques récoltées sont placées dans des tubes contenant de l'alcool non dénaturé à 70°C, chaque tube étant identifié selon le numéro de l'écurie suivi de Z1 ou Z2 selon la zone de prélèvement de la pâture.

Les variables caractéristiques de chaque pâture et de chaque zone dans la pâture sont relevées (Voir Questionnaires « caractéristiques Pâture » et « Caractéristiques zones » en annexe). Pour se faire, un thermomètre-hygromètre permet le relevé de la température et de l'humidité ambiante de chaque pâture. Un anémomètre permet également de mesurer la vitesse du vent. Ces instruments de mesure sont placés en bordure de zone et restent en place le temps du prélèvement, les données étant recueillies en fin de récolte.

Figure 12 : Prélèvement des conditions météorologiques :



Par ailleurs, afin de récolter un maximum d'informations sur l'environnement, des photographies de chaque pâture et de chaque zone ont été réalisées.

E) Identification des tiques

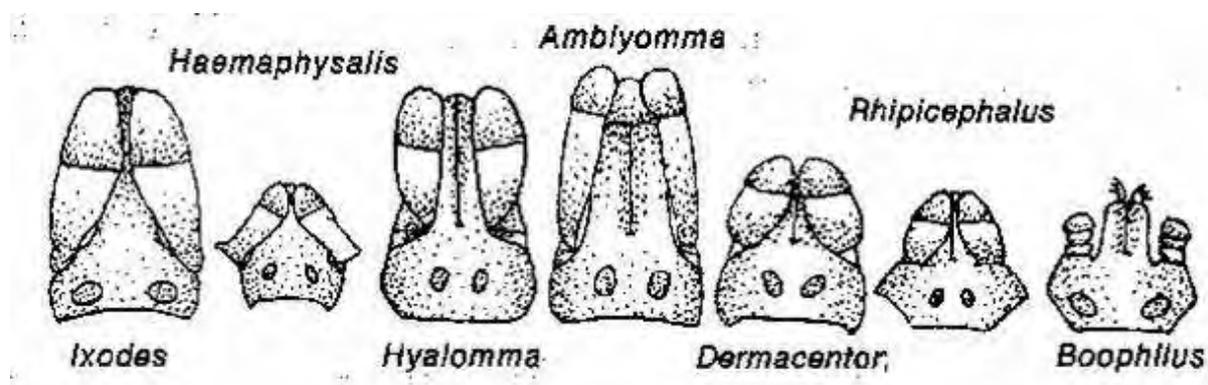
L'identification des tiques a été réalisée sous loupe binoculaire à partir de critères morphologiques en se basant sur des clés d'identification :

Tout d'abord toutes les tiques que nous avons récolté possèdent un capitulum visible dorsalement, il s'agit donc de tiques dures.

Ensuite, l'observation de la longueur du rostre et de la forme de sa base (capitulum) permet de distinguer les différents genres :

- *Ixodes* : longirostre (rostre terminal plus long que large)
- *Dermacentor* : brévirostre (rostre terminal plus large que long) et capitulum rectangulaire
- *Rhipicephalus* : brévirostre (rostre terminal plutôt carré) et capitulum hexagonal
- *Hyalomma* : longirostre

Figure 13 : formes des rostres (Georges 2001)



Nous avons également réalisé l'identification des genres avec l'aide d'autres critères morphologiques :

- La position du sillon anal par rapport à l'anus : l'anus est bordé par un sillon anal antérieur chez les *Ixodes* alors que pour les autres genres le sillon anal est postérieur à l'anus.
- La présence d'yeux visibles dorsalement.
- La présence d'ornementations sur le scutum pour le genre *Dermacentor*.

L'observation à la loupe binoculaire permet également de distinguer le stade, en effet, la larve est hexapode alors que les nymphes et les adultes sont octopodes, de plus, les nymphes ont généralement une taille inférieure à celle de l'adulte et possèdent également un écusson dorsal réduit et un orifice génital difficilement visible alors qu'il est bien développé chez l'adulte.

Enfin, nous avons également déterminé le sexe de chaque tique grâce à l'observation de l'écusson dorsal, celui-ci est en effet réduit chez la femelle et très développé chez le mâle.

IV) Résultats

A) Prélèvement de tiques sur les chevaux

a. Première session

Lors de la première période qui s'étendait du 14 au 26 avril 2008, 23 écuries ont été visitées et 225 chevaux ont été examinés. Ceci nous a permis de récolter 14 tiques sur 6 chevaux issus de 3 écuries différentes. Ceci correspond donc à un pourcentage d'infestation d'environ 3% [1,8-4,1%] de chevaux et de 11% [0-24%] d'écuries (intervalle de confiance à 95%).

Les tiques sont du genre *Rhipicephalus* ou *Dermacentor* répartie de la façon suivante : 5 tiques du genre *Rhipicephalus* mâles, 3 tiques *Rhipicephalus* femelles ainsi que 3 tiques du genre *Dermacentor* mâles et 3 tiques *Dermacentor* femelles.

b. Deuxième session

La période suivante se déroulait du 12 au 24 mai. Lors de cette deuxième session nous avons visitées 26 écuries et 269 chevaux ont été examinés. 85 tiques ont ainsi pu être prélevées sur 40 chevaux issus de 13 écuries différentes.

Ceci correspond alors à un pourcentage d'infestation de 15% [13-17%] pour les chevaux et 50% [40-60%] pour les écuries (intervalle de confiance à 95%).

L'essentiel des tiques est représenté par le genre *Rhipicephalus* (39 mâles et 44 femelles). Seuls 2 tiques du genre *Hyalomma* ont pu également être identifiées.

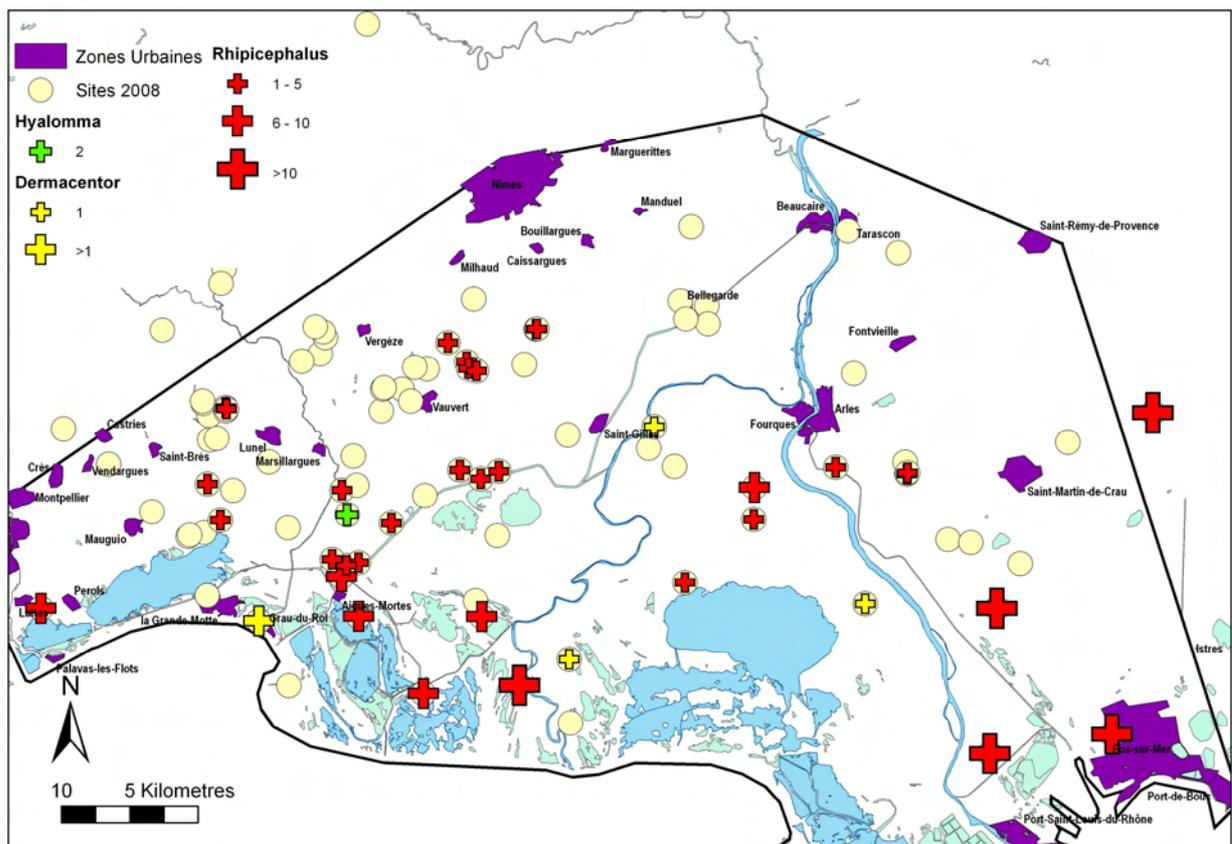
c. Troisième session

Enfin, lors de la dernière période qui se déroulait du 9 au 21 juin 2008, 22 écuries ont été visitées et 206 chevaux examinés. 81 tiques ont alors été prélevées sur 37 chevaux, eux même issus de 10 écuries différentes. Le pourcentage d'infestation des chevaux s'élève alors à 18% [11-24%] alors qu'il est de 45% [30-60%] pour les écuries (intervalle de confiance à 95%).

Cette fois-ci, la totalité des tiques est constituée par le genre *Rhipicephalus* avec une prédominance du sexe femelle représenté par 58 tiques contre 23 mâles.

d. Répartition des tiques prélevées sur les chevaux en 2008

Figure 14 : carte de répartition des tiques prélevées sur les chevaux en 2008



D'après la carte, il semble que l'infestation des chevaux soit plus importante aux alentours des étangs et des cours d'eau.

d. Traitements antiparasitaires externes

Concernant les traitements antiparasitaires externes entrepris, 29 propriétaires sur les 71 interrogés ont déclaré réaliser au moins un traitement par an.

La molécule la plus utilisée est la deltaméthrine qui est un pyréthrianoïde contenu notamment dans le Butox® utilisé à hauteur de 57% de l'effectif équin. D'autres molécules de la famille des pyréthrianoïdes sont également utilisées tels que le fenvalérate contenu dans Acadrex® et dans Arkofly® ou la perméthrine qui est utilisée sous forme de pour-on (Ectotrène®) ou de spray (Emouchine total®, Flymax®, Tritex 14®). Les organophosphorés sont également employés *via* les dénominations commerciales Sébacil® (contenant du phoxim) ou Dimpygal® (dimpylate).

Il est néanmoins important de rappeler que tous ces produits n'ont pas la même efficacité ni la même rémanence et que des produits tels que Butox®, Arkofly® ou Ectotrène® ne possèdent pas d'autorisation de mise sur le marché pour les équins.

Par ailleurs, plusieurs écuries utilisent différents anti-parasitaires en alternance.

La fréquence moyenne d'utilisation est de 8 traitements par an essentiellement réalisés au printemps et en été. Nous remarquons cependant une assez grande disparité, certains propriétaires réalisant un à deux traitements par an alors que d'autres en pratiquent plusieurs dizaines.

Sur les 42 écuries où aucun traitement n'est entrepris, nous avons retrouvées des tiques dans 8 écuries soit 28%. Ceci correspondant également à 8% des chevaux non traités.

Paradoxalement, le nombre de chevaux parasités est plus important dans les écuries où un traitement est entrepris.

En effet, 41% des écuries où l'on utilise un traitement antiparasitaire présentaient des chevaux parasités, ce qui représente 15% des chevaux traités.

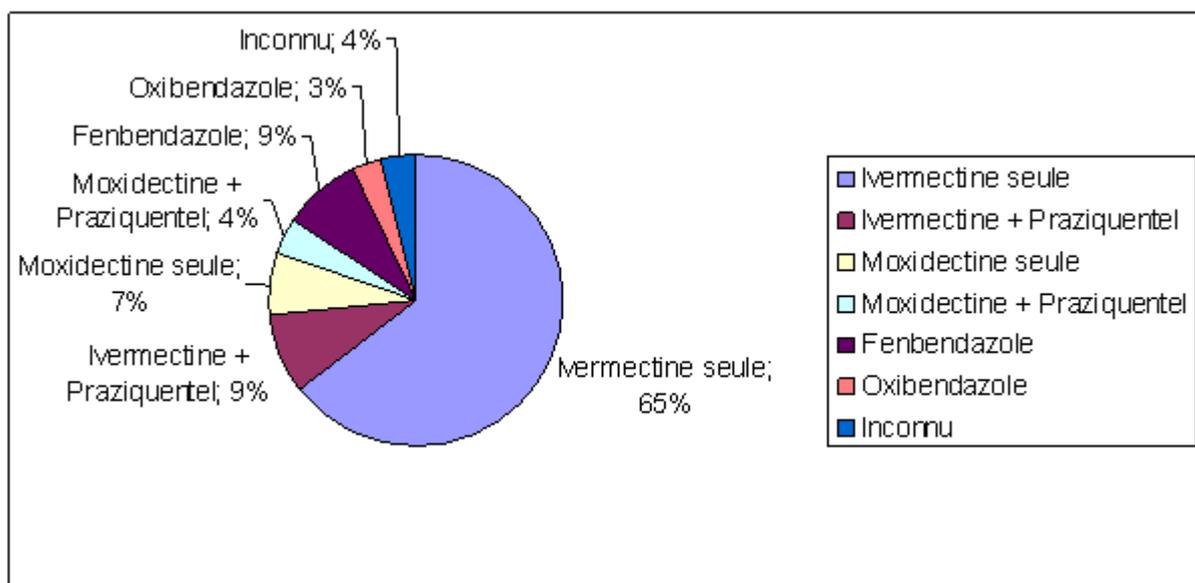
e. Traitements antiparasitaires systémiques

Il nous a paru important de savoir si les chevaux examinés étaient vermifugés et si oui avec quel produit. En effet, certaines études ont semblé montrer une action de l'ivermectine *per os* sur la présence de tique. Ainsi, une étude menée sur des cerfs sauvages a permis de montrer une action acaricide systémique après plusieurs mois d'ingestion d'ivermectine (Pound, Miller et al. 1996).

Après questionnement des propriétaires, il apparaît que la grande majorité des chevaux est vermifugée au moins une fois par an puisque seuls deux

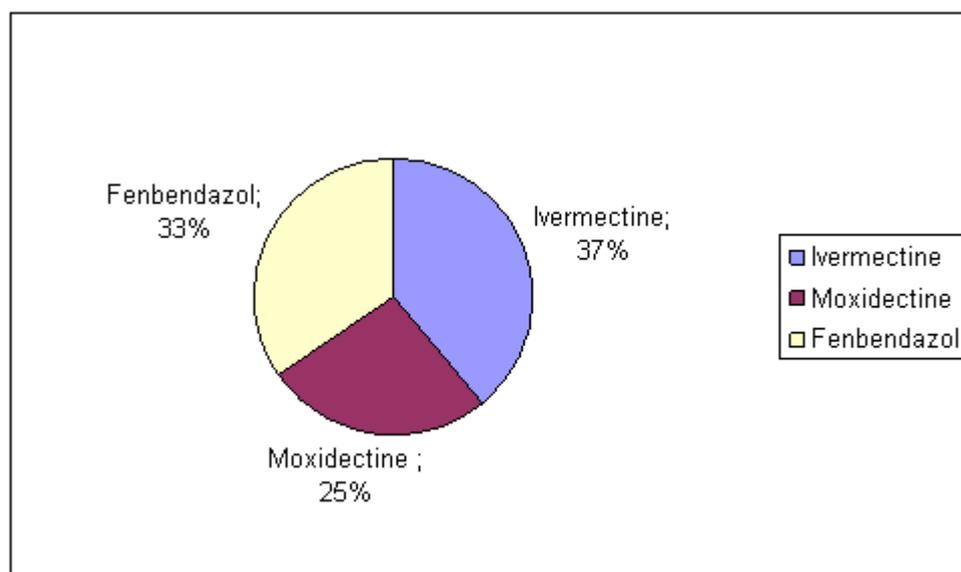
propriétaires d'écuries ont déclaré ne pas utiliser de vermifuge ce qui correspond à environ 86% de chevaux vermifugés. La molécule la plus utilisée est l'ivermectine seule (65% des écuries), l'ivermectine est aussi utilisée associée au praziquantel pour 9% des écuries. A côté de l'ivermectine, nous trouvons également la moxidectine utilisée seule dans 7% des écuries ou associée au praziquantel dans 4% des écuries. Enfin, le fenbendazole est utilisé dans 9% des écuries et l'oxibendazole dans 3%. Le vermifuge est inconnu pour 3 écuries (4%).

Figure 15 : les différents vermifuges utilisés dans les écuries de l'étude.



Si on compare le pourcentage de chevaux infestés par les tiques en fonction du vermifuge utilisé, on obtient les résultats suivant :

Figure 16 : Pourcentage d'écuries parasitées en fonction du vermifuge utilisé



Les résultats obtenus ne semblent pas montrer pour l'ivermectine administrée per os de rôle protecteur vis-à-vis des tiques (chi2 p=0,45). Cependant, ces résultats sont à considérer avec une grande prudence étant donné que les fréquences d'administrations et la date de la dernière administration sont très différentes selon les écuries.

B) Prélèvement de tiques dans les pâtures

a. Première session

Lors de la première période de prélèvement (du 14 au 26 avril 2008) nous avons procédé à l'exploration de 7 pâtures et avons ainsi pu récolter 14 tiques au total sur 5 pâtures différentes. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous sachant que chaque pâture est représentée par son numéro et que la zone 1 correspond à la première zone de prélèvement dans la pâture alors que la zone 2 correspond à la deuxième zone de prélèvement.

Tableau 4 : Résultat de la récolte de tiques sur pâture lors de la première période

	Zone 1				Zone 2				Total
	Rhipicephalus		Dermacentor		Rhipicephalus		Dermacentor		
Numéro pâturation	Mâle	femelle	Mâle	femelle	mâle	femelle	mâle	femelle	
1002		1			1	1			3
1013						1			1
1101									0
1111	1	1							2
1824	1				3	2		1	7
2103		1							1
2112									0
Total	2	3	0	0	4	4	0	1	14

Ainsi, lors de ces récoltes, nous avons pu mettre en évidence l'existence de deux espèces : *Rhipicephalus* et *Dermacentor* dans l'environnement.

b. Deuxième session

La deuxième session nous a permis d'explorer un plus grand nombre de pâtures ainsi, la technique a été mise en place sur 14 pâtures.

Parmi elles, seules 4 pâtures ont permis de recueillir des tiques, 33 tiques ont pu être récoltées en tout. Ici encore, les tiques sont représentées par les deux genres *Rhipicephalus* et *Dermacentor*.

Tableau 5 : Résultat de la récolte de tiques sur pâture lors de la deuxième période

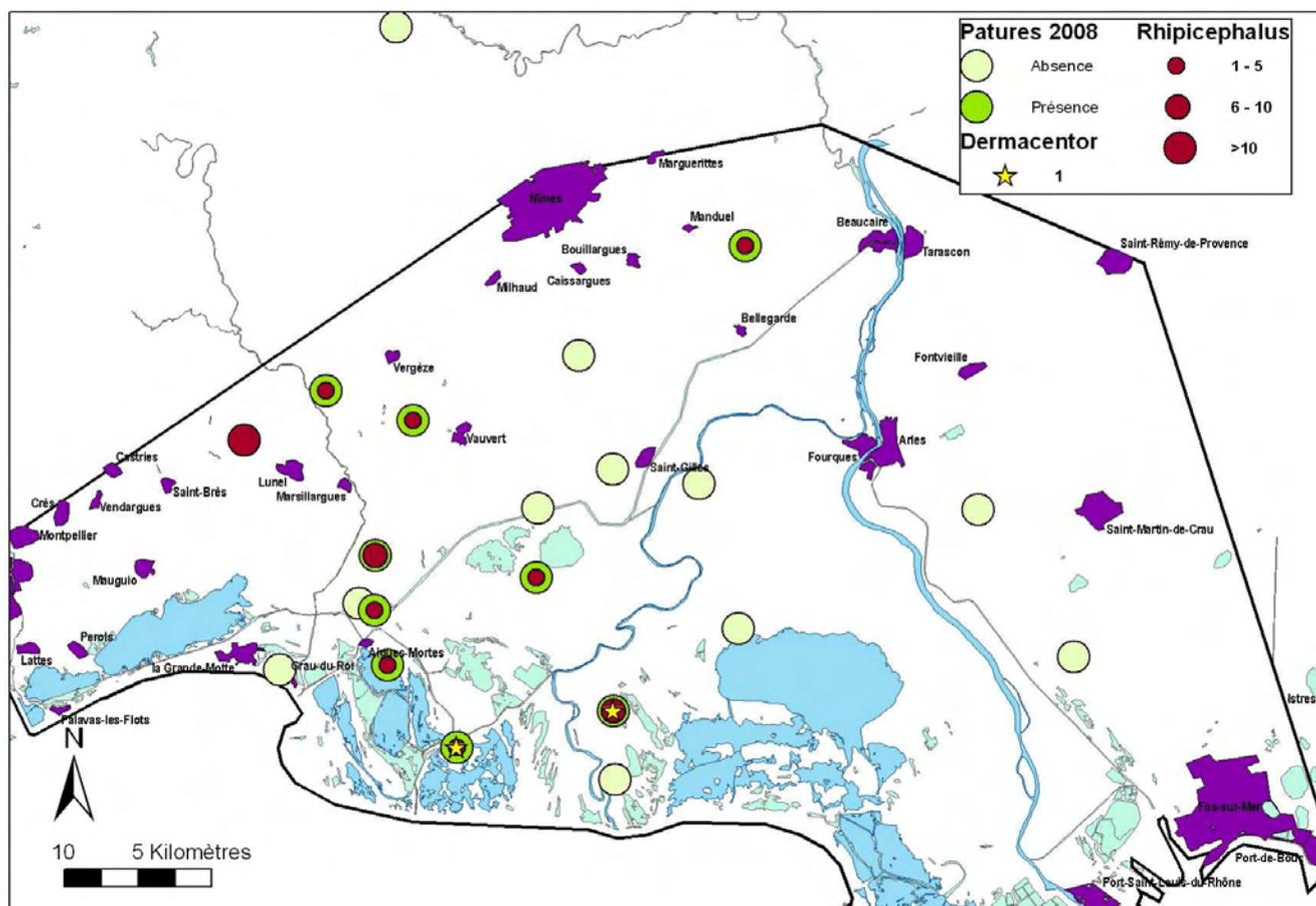
	Zone 1				Zone 2				Total
	Rhipicephalus		Dermacentor		Rhipicephalus		Dermacentor		
Numéro pâture	mâle	femelle	Mâle	femelle	mâle	femelle	mâle	femelle	
1004					1	1			2
1008 P1									0
1008 P2	4			1	1				6
1103									0
1109									0
1118	2	2			2				6
1301									0
1812									0
2005									0
2207									0
2212									0
2424									0
2603	3	1			13	2			19
2802									0
Total	9	3	0	1	17	3	0	0	33

Finalement, concernant la récolte de tiques dans l'environnement, seuls deux genres ont pu être mis en évidence avec une large prédominance des *Rhipicephalus*, à noter qu'aucune tique du genre *Ixodes* n'a été récoltée.

Concernant la répartition des tiques, on voit que celle-ci semble assez inégale selon l'environnement. 9 pâtures sur 21 explorées ont révélé la présence de tiques, soit environ 43% avec une moyenne d'environ 5 tiques par pâture.

c. Répartition des tiques prélevées dans les pâtures

Figure 17: carte de la répartition des tiques prélevées dans les pâtures en 2007



D'après la carte, on s'aperçoit que les pâtures qui ont permis la récolte de tiques se situent préférentiellement à l'Ouest de la zone d'étude dans la région de la « petite Camargue » et Camargue Gardoise.

d. Etude des biotopes :

D'après les données recueillies à l'aide du « questionnaire pâture », nous pouvons comparer les caractéristiques des biotopes des pâtures.

Premièrement, en étudiant les caractéristiques générales de chaque pâture, nous nous apercevons qu'aucune d'entre elles n'a été traitée par un produit quelconque. Par ailleurs, la surface moyenne est de 3,9 hectares avec une grande disparité puisque certaines ne font que 2500 m² alors que d'autres font jusqu'à 25 hectares.

Concernant les éléments paysagers observés, il apparaît que les espèces de la strate arbustive (ligneux de moins de 10 mètres de haut) les plus représentées sont les tamaris et les ronces, nous trouvons également de l'aubépine, des joncs, ainsi que des arbres de taille modérée : peupliers, cyprès et pins.

La strate arborescente (ligneux de plus de 10 mètres de haut) est observée dans seulement 7 pâtures sur les 21, et nous avons récolté des tiques dans 2 d'entre elles. Compte tenu de cet effectif réduit, il n'est pas possible d'interpréter l'influence éventuelle de la présence d'arbres sur l'abondance de tiques. Nous avons également distingué les arbres fruitiers de la strate arbustive car la présence d'arbres fruitiers semblait être associée à la présence de tiques dans certaines études. Dans le cas de notre étude, seules trois pâtures comportaient des arbres fruitiers et nous n'avons pas trouvé de tiques dans ces pâtures.

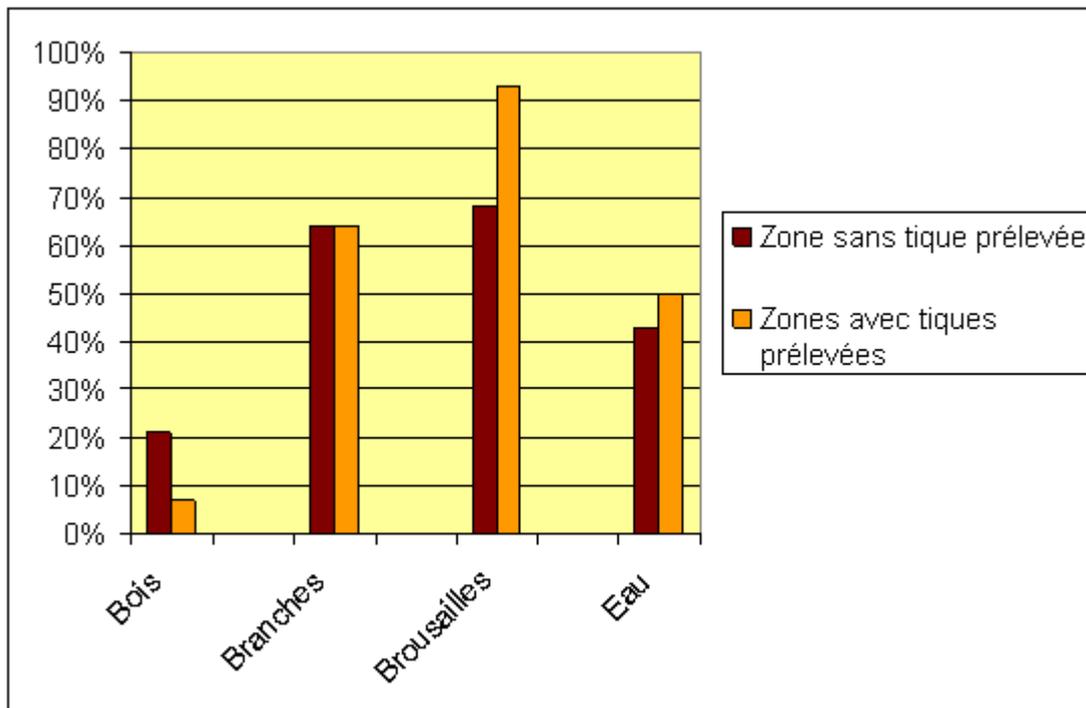
D'autre part, la présence de bovins dans la pâture semble être un élément défavorable à la présence de tiques. En effet, aucune tique n'a été prélevée dans des pâtures contenant des bovins alors que celles-ci représentent 29% des pâtures au total. Cependant, nous pouvons nous demander si c'est la présence directe des bovins qui est un facteur limitant ou bien si c'est la réduction de la végétation due au pâturage qui limite l'abondance des tiques.

Nous avons également recueilli les caractéristiques de chaque zone de prélèvement au sein de chaque pâture.

Tableau 6 : Comparaison des caractéristiques environnementales des zones de prélèvement au sein des pâtures

<i>(Nombre de pâtures)</i>	Zone sans tique prélevée <i>(28)</i>	Zone avec tiques prélevées <i>(14)</i>	Moyenne en % <i>(42)</i>	Degré de signification par le test du CHI2 (p)
Présence d'un bois à moins de 20 m	21% (6)	7% (1)	17% (7)	p=0,51
Présence de branche surplombant la zone	64% (18)	64% (9)	64% (27)	p=0,81
Présence de broussailles dans la zone	68% (19)	93% (13)	52% (22)	p=0,24
Présence d'eau dans la zone	43% (12)	50% (7)	45% (19)	p=0,70
Le drap passe sur de l'herbe	96% (27)	100% (14)	98% (41)	p=0,57
Le drap passe sur des feuilles, de la terre ou du sable	68% (19)	28% (4)	55% (23)	p=0,005
Le drap passe sur des ronces/broussailles	57% (16)	64% (9)	59% (25)	p=0,45
hauteur de l'herbe majoritaire:				
0	7% (2)	0%	5% (2)	
0-5 cm	0%	0%	0%	
5-10cm	29% (8)	14% (2)	24% (10)	
10-30 cm	50% (14)	71% (10)	57% (24)	
30-50 cm	14% (4)	14% (2)	14% (6)	

Figure 18 : Comparaison des biotopes



Même s'il est difficile de tirer des conclusions à partir d'un échantillon aussi réduit, il semble néanmoins que la présence de broussailles et d'herbes hautes soient des facteurs favorisant l'abondance de tiques ; alors que les zones plus sèches constituées de sable ou de terre ne sont pas des biotopes favorables à la présence de tiques. La présence d'arbres ne semble pas être un facteur très influent.

Par ailleurs, nous avons retrouvé des tiques du genre *Dermacentor* sur seulement 2 pâtures et, sur ces 2 pâtures on a également récolté des tiques du genre *Rhipicephalus*. Ces résultats ne nous permettent pas de distinguer des types d'environnements favorables spécifiquement à l'un ou l'autre des deux genres, on peut donc simplement dire que ces deux genres sont capables de vivre dans des biotopes similaires. Dans le cas de notre étude, ces pâtures étaient caractérisées par la présence d'herbes hautes (entre 10 et 50 cm), de broussailles et d'eau sous forme de cours d'eau.

Enfin, il faut signaler que trois pâtures que nous avons explorées (numéro 1013,2112 et 2802) et sur lesquelles nous n'avons trouvé qu'une seule tique, se trouvaient à proximité de vergers ou de vignes qui sont des cultures particulièrement traitées à l'aide de pesticides. Ces traitements pourraient expliquer la raréfaction des tiques dans ces pâtures.

Les pâtures que nous avons visitées étaient relativement diverses et montraient des paysages variés assez représentatifs de la mosaïque de biotopes qu'offre l'espace camarguais. Les photos qui suivent illustrent quelque peu cette diversité :

Exemples des pâtures qui ont permis la récolte de tiques :

Figure 19 : Exemple 1 Pâturation présentant des herbes hautes (pâturation n°1008)



Figure 20 : Exemple 2 « sansouire » (pâturation n°1824)



Figure 21 : Exemple 3 pâture associant la présence d'herbes hautes et de broussailles (pâturage n°2603)



Exemples de pâtures qui n'ont pas permis la récolte de tiques :

Figure 22 : Exemple 1 pâture présentant de l'herbe de taille moyenne bordée par des marécages



Figure 23 : Exemple 2 pâture en terre battue avec peu d'herbe (pâture n°1103)



Figure 24 : Exemple 3 pinède (pâture n°2112)



e. Les conditions météorologiques

Lors de chaque récolte, nous avons relevé les conditions météorologiques.

Tableau 7 : Comparaison des conditions météorologiques lors des prélèvements

(nombre de pâtures)	Pâtures sans tique prélevée (11)	Pâtures avec tiques prélevées (10)	Moyennes des pâtures (21)
T° moyenne (°C)	22,4	21,46	22
Hygrométrie moyenne (%)	51,18	56,6	54,8
Vitesse du vent (km/h) ⁴	4	5,9	4,9
Couverture nuageuse :			
Ensoleillé	54% (6)	50% (5)	52% (11)
Nuageux	45% (5)	50% (5)	48% (10)
Pluvieux	0%	0%	

C) Synthèse des résultats

La recherche de tiques que ce soit dans l'environnement ou directement sur les chevaux a permis de montrer l'existence dans notre zone d'étude de trois genres : *Rhipicephalus*, *Dermacentor* et *Hyalomma*. Le décompte numérique place le genre *Rhipicephalus* largement prédominant avec une prépondérance du sexe femelle dans l'infestation des chevaux.

Ces résultats confirment les études précédentes puisque ces mêmes espèces avaient déjà été mises en évidence sur les chevaux en 2007.

Aucune tique *Ixodes* n'a par ailleurs été récoltée, ceci confirme les données de la littérature concernant la répartition de ce genre théoriquement absent du climat méditerranéen.

⁴ Vitesse du vent : cette donnée doit être interprétée avec prudence, en effet, certaines mesures données par l'anémomètre nous semblaient être en désaccord avec les conditions réelles observées.

TROISIEME PARTIE :

DISCUSSION

I Choix du protocole de récolte

Il existe différentes méthodes de prélèvement des tiques dans l'environnement. Pour les tiques exophiles, on dénombre quatre méthodes classiquement utilisées : l'utilisation d'un filet fauchoir (couramment utilisé pour la collecte des insectes), le recours à un leurre mécanique ou à un leurre olfactif enfin, nous pouvons également nous servir d'animaux comme appât. Nous avons choisi la méthode par leurre mécanique dite « méthode du drapeau » car c'est une méthode peu couteuse, assez facile à mettre en place et qui permet de quantifier la densité de tiques dans une zone très précisément délimitée. Par ailleurs, il a fallu mettre en place un protocole qui nous permette d'explorer une partie assez importante de la végétation tout en étant assez rapide et réalisable dans les conditions pratiques. Initialement, nous pensions séparer les pâtures en une zone de repos (lieu privilégié par les chevaux) et une zone d'abreuvement or, une fois sur le terrain, il nous est apparu plus judicieux d'explorer soit la totalité de la pâture (quand la surface nous le permettait) soit les lieux où la végétation était assez abondante et en bordure du pré, là où les chances de récolte étaient meilleures.

Nous avons choisi de trainer le drap dans chaque zone sur 10 tranches de 10 mètres, espacées chacune de 20 mètres, ceci afin de couvrir une partie assez importante de la pâture (2600 m² par zone) tout en ayant des tranches suffisamment espacées entre elles pour être considérées comme indépendantes les unes des autres.

II Choix des pâtures

Les pâtures ont été sélectionnées dans la base de données en fonction des résultats sérologiques de l'année précédente. Nous pensions initialement faire une étude cas/témoins en réalisant des récoltes dans des pâtures appartenant à des écuries « positives » et dans des pâtures appartenant à des écuries « négatives ». Cependant, devant le nombre réduit de tiques récoltées lors des premiers échantillonnages, nous avons décidé ensuite de choisir uniquement des écuries qui s'étaient révélées « positives » vis-à-vis d'*Anaplasma phagocytophilum* en 2007.

En effet, nous avons estimé que le prélèvement des tiques sur les chevaux nous permettrait tout d'abord de répondre à la question : Quelles sont les tiques parasites du cheval présentes dans la zone d'étude ?

Ensuite, afin d'avoir plus de chance de récolter des tiques potentiellement vectrices d'*Anaplasma phagocytophilum*, nous avons préféré prélever des tiques uniquement dans l'environnement des zones où une circulation de la bactérie avait été mise en évidence par sérologie en 2007.

Il serait intéressant par la suite également de faire ces mêmes prélèvements dans des écuries « négatives » afin de comparer les résultats obtenus.

Par ailleurs, la sélection a été réalisée de façon aléatoire dans la base de données. Cependant, nous avons été obligé de prélever des tiques dans des pâtures appartenant à des écuries « positives » avec un effectif supérieur ou égal à 5 chevaux mais non initialement tirées au sort. En effet, parmi les écuries tirées au sort, certains propriétaires n'étaient pas disponibles ou non disposés à nous recevoir. Malgré ces quelques « arrangements », nous pouvons considérer que les 21 pâtures explorées nous ont permis d'avoir un éventail assez large de paysages. En effet, nous avons pu faire des prélèvements dans des endroits très variés mais néanmoins assez représentatifs de la diversité de l'espace Camarguais, qu'il s'agisse des prés d'herbe bordés par les roubines, ou les terrains sablonneux, les sansouires, et même les zones arborescentes.

De même, les écuries se sont révélées être assez diverses, représentatives des différentes formes d'utilisation du cheval en Camargue, du cheval de centre équestre, au cheval de particulier en passant par le cheval de manade.

III Discussion des résultats obtenus

L'objectif défini initialement pour l'étude a bien été atteint puisque 21 pâtures ont pu être explorées en tout.

Nous pouvons néanmoins penser que l'on a prélevé un effectif assez réduit de tiques dans les pâtures par rapport au nombre attendu.

Différentes raisons peuvent être avancées pour expliquer cet effectif réduit:

Tout d'abord, l'inconvénient de la méthode de prélèvement au drapeau est qu'il s'agit d'une technique très tributaire des conditions climatiques. En effet, la présence de vent très fort ou de pluie même réduite lors de certaines séances ne nous a pas permis de trouver des tiques. Nous savons effectivement que dans ces conditions les tiques ne pratiquent pas l'affut sur les hautes herbes et, de

plus, le tissu en éponge ne permet pas l'adhésion des tiques lorsqu'il est imbibé d'eau ou lors de vent important.

D'autre part, l'échantillonnage consistant à prélever 2 zones de 10 tranches de 10 mètres chacune, espacées de 20 mètres s'est révélé parfois très insuffisant par rapport à la taille totale de la pâture. En effet, dans cette région d'élevage semi-extensif, les pâtures s'étendent parfois sur plusieurs dizaines voire certaines d'hectares, il est donc difficile dans ces conditions de couvrir un espace représentatif de la surface totale. Il nous a donc fallu définir les zones de prélèvements en fonction de la végétation et de la fréquentation de ces zones par les chevaux.

De plus, la répartition des tiques ne semble pas due au hasard. Ainsi, les tiques adultes semblent regroupées sur des surfaces elles-mêmes agrégées, dont le diamètre varie de 2 à 8 mètres selon la saison. Ce rassemblement est vraisemblablement dû au comportement grégaire des hôtes au moment où la tique se détache. On peut donc en attendre une répartition similaire des nymphes et un rassemblement encore plus important pour les larves qui naissent là où des milliers d'œufs ont été pondus. Cette répartition en « patchs » conduit alors à des différences importantes entre les prélèvements (Li and Dunley 1998). Ainsi, il est probable que lors de certains échantillonnages nous sommes passés à côté des « patchs » et que nous n'avons alors récolté aucune tique alors que celles-ci se trouvaient concentrées dans une zone bien précise.

Par ailleurs nous avons choisi, dans la mesure du possible, de prélever les pâtures qui nous semblaient le plus susceptibles de contenir des tiques pouvant parasiter les chevaux. Nous avons donc sélectionné uniquement : des pâtures en prairie naturelle, récemment fréquentées par les chevaux et avec une végétation dense. Cependant, la récolte étant assez longue et fastidieuse, nous n'avons pu rechercher des tiques que sur une seule pâture par écurie, or, le plus souvent, les chevaux tournent dans différentes pâtures tout au long de l'année et il est difficile même pour l'éleveur de savoir où les chevaux sont le plus susceptibles d'attraper des tiques.

La plupart des chevaux sont utilisés pour le travail du taureau, les promenades ou le loisir, or toutes ces utilisations impliquent des déplacements dans l'environnement en dehors des lieux pâturés et, il est bien évident, que lors de tous ces déplacements, les chevaux sont susceptibles d'attraper des tiques.

Les périodes de prélèvements sur les chevaux se sont étalées sur trois quinzaines en avril, mai et juin alors que les pâtures n'ont été prélevées qu'en avril et mai. Bien qu'il s'agisse des périodes théoriques du pic d'activité des tiques, l'intervalle de temps est néanmoins assez limité et il serait certainement approprié de faire de nouvelles récoltes à d'autres périodes de l'année afin d'avoir une plus grande représentativité de la présence et de l'activité respective des différentes espèces de tiques.

Nous avons pu observer pour plusieurs pâtures la présence de vergers ou de vignes en bordure. Ces cultures sont habituellement particulièrement traitées à l'aide de pesticides, l'utilisation de tels produits à proximité des pâtures engendre une destruction assez importante de la micro-faune résidante et par la même occasion limite fortement le nombre de tiques. De même, on peut s'interroger sur l'impact de la démoustication réalisée dans certaines régions ainsi que de l'épandage par hélicoptère de produit visant à détruire les chenilles processionnaires sur l'abondance des acariens.

Enfin, l'utilisation régulière pour la plupart des chevaux d'antiparasitaires externes limite évidemment la probabilité de trouver des tiques.

En ce qui concerne l'utilisation d'antiparasitaire externe, nous avons pu constater que paradoxalement le nombre de chevaux parasités est plus important dans les écuries où un traitement est entrepris

Ce constat peut en fait s'expliquer par plusieurs raisons :

- tout d'abord, c'est la présence des tiques visualisées sur les chevaux qui motive en priorité les propriétaires à instaurer un traitement, ainsi, les écuries où l'on traite sont le plus souvent des écuries situées dans des « zones à tiques » ;
- ensuite, plus de la moitié des traitements (52%) dataient du printemps ou de l'été 2007, ainsi, au moment de notre visite on peut considérer ces chevaux comme non traités (les antiparasitaires externes ayant une durée d'action ne dépassant pas quelques semaines) ;
- enfin, l'efficacité des traitements est bien sûr limitée et l'effectif traité n'est pas toujours la totalité du troupeau.

Les prélèvements réalisés sur les chevaux ou dans leur environnement ont permis de mettre en évidence la coexistence dans la zone d'étude des 3 genres de tiques : *Rhipicephalus*, *Dermacentor* et *Hyalomma*, avec une très nette prédominance du genre *Rhipicephalus*. Cependant, le point le plus intéressant est que cette année, comme l'an dernier, sur les chevaux comme dans l'environnement, aucune tique du genre *Ixodes* n'a été prélevée. Or, nous avons vu que les tiques du genre *Ixodes* (et notamment l'espèce *Ixodes ricinus* en Europe) sont considérées comme étant le vecteur présumé de l'anaplasmose équine. D'après ces résultats, et au vu de la répartition théorique de cette espèce de tique, nous pouvons donc légitimement nous interroger sur le rôle effectif de cette tique en tant que vecteur d'*Anaplasma phagocytophilum* dans la région d'étude. En effet, les données sur le mode de vie et l'environnement de cette tique (bosquet et sous-bois humides) ainsi que les résultats que nous avons obtenus semblent montrer que cette tique est bien absente de notre région d'étude, pourtant zone endémique de l'anaplasmose équine.

A la lumière de ces résultats, une question se pose alors, si *Ixodes* est effectivement absent de la Camargue, quelle tique est le vecteur d'*Anaplasma phagocytophilum* dans cette région ?

IV Perspectives d'avenir

Pour répondre à la question de savoir qui est le réel vecteur de l'anaplasmose en Camargue et poursuivre ainsi notre travail, il serait maintenant très intéressant de réaliser des recherches PCR pour *Anaplasma phagocytophilum* sur les tiques récoltées afin de mettre en évidence d'éventuelles traces de la bactérie. Une telle découverte serait une grande avancée dans la connaissance du cycle épidémiologique de l'anaplasmose dans la zone d'étude. En effet, la connaissance d'un vecteur autre qu'*Ixodes* implique la potentialité d'une extension nouvelle de la maladie et, la connaissance des vecteurs réels de la maladie se révélerait particulièrement intéressante en cas d'épidémie puisque la lutte contre une maladie vectorielle passe avant tout par la lutte contre le ou les vecteurs compétents.

Par ailleurs, comme nous l'avons déjà évoqué, il serait intéressant de renouveler ces récoltes à d'autres périodes de l'année et sur un plus grand échantillon de pâtures afin d'avoir une vision plus représentative de la répartition des tiques et de leur activité.

Conclusion :

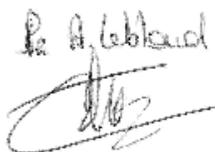
L'anaplasmose granulocytaire équine est une maladie infectieuse, non contagieuse, due à la bactérie *Anaplasma phagocytophilum* et transmise par les tiques, le plus souvent *Ixodes ricinus* en France. Chez le cheval, le tableau clinique de la maladie est généralement celui d'un syndrome fébrile avec peu de symptômes spécifiques hormis la présence d'oedèmes.

Depuis 2002, l'anaplasmose granulocytaire équine semble une maladie émergente en Camargue (Pradier 2004, Tilliette 2008) alors que les tiques *Ixodes ricinus* semblent selon la littérature plutôt absentes de ces biotopes méditerranéens. Afin de lister les tiques potentiellement vectrices de l'anaplasmose granulocytaire équine dans cette région de Camargue, nous avons étudié les tiques présentes sur les chevaux et dans leur environnement direct.

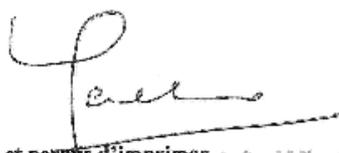
Lors de notre étude, nous avons mis en évidence l'existence dans l'environnement et sur les chevaux de trois genres de tiques : *Rhipicephalus*, *Dermacentor* et *Hyalomma*. Aucune tique du genre *Ixodes* n'a été récoltée bien qu'il s'agisse du vecteur théorique de l'anaplasmose équine. Les résultats de notre étude semblent donc suggérer la capacité pour d'autres genres de tiques de transmettre *A. phagocytophilum* biovar *equi*. Pour confirmer cette hypothèse, il serait maintenant intéressant de rechercher la bactérie dans les tiques récoltées par la technique PCR.

Par ailleurs, l'étude des différents biotopes observés lors des prélèvements semble montrer le rôle favorable de la présence d'herbe haute et de broussailles sur la présence des tiques alors qu'au contraire, la présence concomitante de bovins dans la pâture semble être un élément défavorable.

Le Professeur responsable
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon



Le Président de la thèse



Vu et permis d'imprimer 19 JAN. 2009

Lyon, le 19 JAN. 2009

Pour le Président de l'Université,
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,
Professeur F.N GILLY



Vu : Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

LE DIRECTEUR

Pour le Directeur et par délégation,
Stéphane MARTINOT

Professeur Françoise GRAIN

Bibliographie

Alberti, A., M. F. Addis, et al. (2005).

Anaplasma phagocytophilum, Sardinia, Italy.

Emerg Infect Dis **11**(8): 1322-4.

Amiel, C., G. Abadia, et al. (2003).

L'ehrlichiose granulocytaire humaine en Europe.

Medecine et maladies infectieuses **34** 111-122.

Amory, H. and P.-H. Pitel (2007).

Le syndrome piro-like: diagnostic différentiel du syndrome piro-like sur la base des symptômes et cas cliniques de cas de syndrome piro-like incluant les moyens de diagnostic.

Congrès de l'AVEF, Deauville.

Artursson, K., A. Gunnarsson, et al. (1999).

A serological and clinical follow-up in horses with confirmed equine granulocytic ehrlichiosis.

Equine Vet J **31**(6): 473-7.

Bermann, F., B. Davoust, et al. (2002).

Ehrlichia equi (*Anaplasma phagocytophila*) infection in an adult horse in France.

Vet Rec **150**(25): 787-8.

Berrington, A., R. Moats, et al. (1996).

A case of *Ehrlichia equi* in an adult horse in British Columbia.

Can Vet J **37**(3): 174-5.

Bjoersdorff, A., S. Bergstrom, et al. (2001).

Ehrlichia-infected ticks on migrating birds.

Emerg Infect Dis **7**(5): 877-9.

Blondel, J., Isenmann, P. (1981).

Guide for the birds of Camargue.

Ed Delachaux et Niestle, Lausanne Suisse.

Bourdeau, P. (1993).

Les tiques d'importance vétérinaire et médicale. 2^{ème} partie, principales espèces de tiques dures (Ixododae et Amblyomidae).

Point Veterinaire **25(151)**: 27-41.

Bown, K. J., M. Begon, et al. (2003).

Seasonal dynamics of *Anaplasma phagocytophila* in a rodent-tick (*Ixodes trianguliceps*) system, United Kingdom.

Emerg Infect Dis **9(1)**: 63-70.

Boyard, C., P. Gasqui, et al. (2007).

Comment diminuer le risque de maladies transmises par les tiques chez les bovins au pâturage?

Bulletin des GTV **41**: 67-72.

Butler, C. M., A. M. Nijhof, et al. (2008).

Anaplasma phagocytophilum infection in horses in the Netherlands.

Vet Rec **162(7)**: 216-7.

Chae, J. S., J. E. Foley, et al. (2000).

Comparison of the nucleotide sequences of 16S rRNA, 444 Ep-ank, and groESL heat shock operon genes in naturally occurring *Ehrlichia equi* and human granulocytic ehrlichiosis agent isolates from Northern California.

J Clin Microbiol **38(4)**: 1364-9.

Chen, S. M., J. S. Dumler, et al. (1994).

Identification of a granulocytotropic Ehrlichia species as the etiologic agent of human disease.

J Clin Microbiol **32(3)**: 589-95.

Davoust, B., D. Parzy, et al. (1995).

Actualités des Ehrlichioses.

Bull Soc Vét Prat de France **79, 4**: 183-204.

Dumler, J., J. Bakken, et al. (2000).

Human granulocytic ehrlichiosis.

Clin Infect Dis **31**: 554-560.

Dumler, J. S., K. M. Asanovich, et al. (1995).

Serologic cross-reactions among *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila*, and human granulocytic Ehrlichia.

J Clin Microbiol **33(5)**: 1098-103.

Dumler, J. S., A. F. Barbet, et al. (2001).
Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*
Int J Syst Evol Microbiol **51**(Pt 6): 2145-65.

Euzéby, J. P. Mis à jour le 4 février 2008
Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire, list of Prokaryotic names with standing in Nomenclature [en ligne]
<http://www.bacterio.cict.fr> (consulté le 20 Octobre 2008)

Franzen, P., A. Aspan, et al. (2005).
Acute Clinical, Hematologic, Serologic, and Polymerase Chain Reaction Findings in Horses Experimentally Infected with a European Strain of *Anaplasma phagocytophilum*,
J Vet Intern Med **19**: 232-239

Franzen, P., A. L. Berg, et al. (2007).
Death of a horse infected experimentally with *Anaplasma phagocytophilum*.
Vet Rec **160**(4): 122-5.

Georges, J.
Maladies à tiques.
[en ligne] mis à jour le 24 Avril 2008
[www.maladies-a-tiques.com] (consulté le 21 Oct 2008)

Gilot, B. and C. Perez-Eid (1998).
Bioécologie des tiques induisant les pathologies les plus importantes en France.
Med Mal Infect **28**: pp. 325-334

Gribble, D. H. (1969).
Equine ehrlichiosis.
J Am Vet Med Assoc **155**(2): 462-9.

Guétard, M. (2001).
Ixodes ricinus: morphologie, biologie, élevage, données bibliographiques,
Thèse de doctorat vétérinaire, université Paul Sabatier Toulouse, 189 p

- Inokuma, H., P. Brouqui, et al. (2001).
Citrate synthase gene sequence: a new tool for phylogenetic analysis and identification of *Ehrlichia*.
J Clin Microbiol **39**(9): 3031-9.
- Inokuma, H., Y. Terada, et al. (2001).
Analysis of the 16S rRNA gene sequence of *Anaplasma centrale* and its phylogenetic relatedness to other ehrlichiae.
Clin Diagn Lab Immunol **8**(2): 241-4.
- Khoury, C., G. Manilla, et al. (1994).
Parasitic horse ticks in Italy. Observations on their distribution and pathogenic role.
Parassitologia **36**(3): 273-9.
- Leblond, A., S. Pradier, et al. (2005).
Enquête épidémiologique sur l'anaplasmose équine (*Anaplasma phagocytophilum*) dans le Sud de la France.
Rev Sci Tech **24**(3): 899-908.
- Lester, S. J., E. B. Breitschwerdt, et al. (2005).
Anaplasma phagocytophilum infection (granulocytic anaplasmosis) in a dog from Vancouver Island." Can Vet J **46**(9): 825-7.
- Lewis, G. E., Jr., D. L. Huxsoll, et al. (1975).
Experimentally induced infection of dogs, cats, and nonhuman primates with *Ehrlichia equi*, etiologic agent of equine ehrlichiosis.
Am J Vet Res **36**(1): 85-8.
- Li, X. and J. E. Dunley (1998).
Optimal sampling and spatial distribution of *Ixodes pacificus*, *Dermacentor occidentalis* and *Dermacentor variabilis* ticks (Acari: Ixodidae).
Exp Appl Acarol **22**(4): 233-48.
- Liz, J. S., L. Anderes, et al. (2000).
PCR detection of granulocytic ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks and wild small mammals in western Switzerland.
J Clin Microbiol **38**(3): 1002-7.
- Madigan, J. E. and D. Gribble (1987).
Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968-1981).
J Am Vet Med Assoc **190**(4): 445-8.

Madigan, J. E., S. Hietala, et al. (1990).
Seroepidemiological survey of antibodies to *Ehrlichia equi* in horses of Northern California.
J Am Vet Med Assoc **196**, **12**: 1962-1964.

Madigan, J. E. and N. Pusterla (2000).
Ehrlichial diseases
Vet Clin North Am Equine Pract **16**, **3**: 487-499.

Madigan, J. E., P. J. Richter, Jr., et al. (1995).
Transmission and passage in horses of the agent of human granulocytic ehrlichiosis.
J Infect Dis **172**(4): 1141-4.

Magnarelli, L. A., K. C. Stafford, 3rd, et al. (1995).
Hemocytic rickettsia-like organisms in ticks: serologic reactivity with antisera to *Ehrlichiae* and detection of DNA of agent of human granulocytic ehrlichiosis by PCR.
J Clin Microbiol **33**(10): 2710-4.

Maurin, M., J. S. Bakken, et al. (2003).
Antibiotic susceptibilities of *Anaplasma (Ehrlichia) phagocytophilum* strains from various geographic areas in the United States.
Antimicrob Agents Chemother **47**(1): 413-5.

Meljon, H. A. and T. G. T. Jaenson (1997).
Questing behaviour of *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae).
Exp Appl Acarol **21**: 747-754.

Munderloh, U. G., J. E. Madigan, et al. (1996).
Isolation of the equine granulocytic ehrlichiosis agent, *Ehrlichia equi*, in tick cell culture.
J Clin Microbiol **34**(3): 664-70.

Nolen-Walston, R. D., S. M. D'Oench, et al. (2004).
Acute recumbency associated with *Anaplasma phagocytophilum* infection in a horse.
J Am Vet Med Assoc **224**(12): 1964-6, 1931.

Nyindo, M. B., M. Ristic, et al. (1978).
Immune response of ponies to experimental infection with *Ehrlichia equi*.
Am J Vet Res **39**(1): 15-8.

- Parola, P., L. Beati, et al. (1998).
Ehrlichial DNA amplified from *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in France.
J Med Entomol **35**(2): 180-3.
- Perez, C.-E., Ed. (2007).
Les tiques Identification, biologie, importance médicale et vétérinaire.
1^{ère} ed Paris Lavoisier, 314p
- Petrovec, M., J. W. Sumner, et al. (1999).
Identity of ehrlichial DNA sequences derived from *Ixodes ricinus* ticks with those obtained from patients with human granulocytic ehrlichiosis in Slovenia.
J Clin Microbiol **37**(1): 209-10.
- Polin, H., P. Hufnagl, et al. (2004).
Molecular evidence of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks and wild animals in Austria.
J Clin Microbiol **42**(5): 2285-6.
- Pound, J. M., J. A. Miller, et al. (1996).
Systemic treatment of white-tailed deer with ivermectin-medicated bait to control free-living populations of lone star ticks (Acari: Ixodidae).
J Med Entomol **33**(3): 385-94.
- Pusterla, N., R. J. Anderson, et al. (2001).
Susceptibility of cattle to infection with *Ehrlichia equi* and the agent of human granulocytic ehrlichiosis." J Am Vet Med Assoc **218**(7): 1160-2.
- Pusterla, N., J. S. Chae, et al. (2002).
Transmission of *Anaplasma phagocytophila* (human granulocytic ehrlichiosis agent) in horses using experimentally infected ticks (*Ixodes scapularis*).
J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health **49**(10): 484-8.
- Pusterla, N., C. M. Leutenegger, et al. (1999).
Evidence of the human granulocytic ehrlichiosis agent in *Ixodes ricinus* ticks in Switzerland.
J Clin Microbiol **37**(5): 1332-4.
- Raoult, D. and P. Brouqui (1998).
Les rickettsioses
Ed Elsevier, Paris, 190 p.

Reubel, G. H., R. B. Kimsey, et al. (1998).
Experimental transmission of *Ehrlichia equi* to horses through naturally infected ticks (*Ixodes pacificus*) from Northern California.
J Clin Microbiol **36**(7): 2131-4.

Richter, P. J., Jr., R. B. Kimsey, et al. (1996).
Ixodes pacificus (Acari: Ixodidae) as a vector of *Ehrlichia equi* (Rickettsiales: Ehrlichieae).
J Med Entomol **33**(1): 1-5.

Scarpulla, M., M. E. Caristo, et al. (2003).
Equine ehrlichiosis in Italy.
Ann. N.Y. Acad. Sci **990**: 259-263.

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

Telford, S. R., 3rd, J. E. Dawson, et al. (1996).
Perpetuation of the agent of human granulocytic ehrlichiosis in a deer tick-rodent cycle.
Proc Natl Acad Sci U S A **93**(12): 6209-14.

Tilliette, B. (2008).
Anaplasmosse granulocytaire équine: enquête séro-épidémiologique dans le Sud-Est de la France en 2007
Thèse de doctorat vétérinaire, Alfort: 98.

Van Andel, A. E., L. A. Magnarelli, et al. (1998).
Development and duration of antibody response against *Ehrlichia equi* in horses.
J Am Vet Med Assoc **212**(12): 1910-4.

Von Loewenich, F. D., B. U. Baumgarten, et al. (2003).
High diversity of ankA sequences of *Anaplasma phagocytophilum* among *Ixodes ricinus* ticks in Germany.
J Clin Microbiol **41**(11): 5033-40.

Vredevoe, L. K., P. J. Richter, Jr., et al. (1999).
Association of *Ixodes pacificus* (Acari: ixodidae) with the spatial and temporal distribution of equine granulocytic ehrlichiosis in California.
J Med Entomol **36**(5): 551-61.

Annexes

Annexe 1 : Questionnaire CARACTERISTIQUES EXPLOITATION

I) CARACTERISTIQUES GENERALES

Date : N° identification de l'exploitation :

Vétérinaire traitant :

Enquêteur :

Etablissement : Nom :

Adresse :

Tél. / Fax :

II) GEOREFERENCEMENT DU SITE - PÂTURE

Coordonnées (WGS84 décimal) : X = Y = Z =

Proximité : Bâtiments d'élevage Couloir/corral Pâturage d'été Pâturage d'hiver

III) CARACTERISTIQUES DE L'EXPLOITATION (à remplir si nouvelle exploitation)

• Activité principale :

• Surface pour l'activité d'élevage (chevaux et bovins, ovins) :

• Nombre de parcelles à disposition des chevaux :

• Nombre d'animaux domestiques de l'exploitation :

• Nombre de chevaux prélevés en 2007 / en 2008 :

Chevaux = Poneys = Anes = Mules = Vaches = Moutons =

Chèvres = Porcs = Canards = Poules = Autres (pigeons, oies...) =

IV) TIQUES ET TRAITEMENTS ANTIPARASITAIRES

Récolte de tiques sur la pâture : OUI NON (si non, arrêter à la fin de IV)

Récolte de tiques sur les chevaux : OUI NON

Les animaux sont-ils traités contre les tiques ? OUI NON

Si oui, nombre de traitements/an ?

Date du dernier traitement (mois/année) : _____/_____

Nom du produit :

Les animaux sont-ils vermifugés ? OUI NON

Si oui, date du dernier traitement (mois/année) : _____/_____

Nom du produit :

Annexe 2 : Questionnaire CARACTERISTIQUES PATURE

I) CARACTERISTIQUES GENERALES

N° identification de l'exploitation (rappel) : N° IdSite _____ - Pâture (rappel) :
Nombre de chevaux dans la pâture : _____
Date d'arrivée des chevaux dans la pâture : _____ / _____ / _____
Autres espèces dans la pâture : OUI NON Lesquelles :
Coordonnées (WGS84 décimal UTM) du lieu de la récolte : X = _____ Y = _____ Z = _____

II) DONNEES PÂTURE

Date de la récolte : _____ Heure de la récolte : _____
Surface de la pâture (ha) : _____
La pâture a-t-elle été traitée depuis 2005 ? OUI NON
Si oui, quelle(s) année(s) ? _____
Si oui avec quoi ? _____

III) CONDITIONS METEOROLOGIQUES :

Couverture nuageuse : Ensoleillé Nuageux Pluvieux
Vent (anémomètre km/hr) : _____ Remarques : _____
Température : _____
Hygrométrie : _____

IV) ELEMENTS PAYSAGERS :

% de la pâture (y compris pourtour) avec strate arbustive¹ : _____
Espèces (2 max) : _____
% de la pâture avec strate arborescente² : _____
Espèces (2 max.) : _____
Présence d'arbres fruitiers³ à l'intérieur ou sur le pourtour ? OUI NON
Espèces (2 max.) : _____
Présence d'eau dans la pâture :
Non Cours d'eau Roubines Marécage⁴ Abreuvoir

V) OBSERVATIONS

¹ Strate arbustive = ligneux < 10 m, exemple : aubépine, ronces, petits noisetiers, houx, jeunes arbres, tamaris, joncs, roseaux
² Strate arborée = ligneux > 10m, exemple : pins, frêne, peuplier
³ Exemples : pommier, cerisier, vigne, ...
⁴ Eau stagnante ; en cas de marécage, ne pas passer le drap sur un sol détrempé

CARACTERISTIQUES ZONES⁵

I. CARACTERISTIQUES GENERALES

N° identification de l'exploitation (rappel) : N°IdSite (rappel) :

N°IdZone (Z1 ou Z2) :

Nom du préleveur :

II. CARACTERISTIQUES DE VEGETATION DE LA ZONE

Présence d'un bois ⁶ <20m de la zone ? Oui Non

Des branches surplombent-elles la zone ?

Non Moins de la moitié Plus de la moitié Totalement

Sur le bord ou dans la zone il y a (présence/absence) :

Clôture Broussailles ⁷/haies Arbres fruitiers

Feuillus/conifères<10m Arbres feuillus>10m Arbres conifères>10m

Obstacle:eau Obstacle:en dur

Pour l'ensemble des tranches de la zone,

Plantes herbacées Feuilles mortes/ aiguilles/ terre / sable Ronces / broussailles

Le drap passe sur (présence/absence) :

(Plusieurs choix possibles)

Le drap passe majoritairement sur :

(1 seul choix)

Hauteur majoritaire (cm) :

0]0-5]]5-10]]10-30]]30-50] >50

III. RECOLTE DE TIQUES

N° Tranche	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total
Nb larves											
Nb Nymphes											
Nb adultes femelles											
Nb adultes mâles											

IV. COMMENTAIRES

⁵ A remplir une fois pour la zone 1 et une fois pour la zone 2

⁶ Bois = arbres sur 100m², soit 10x10m

⁷ Broussailles : végétation qui se situe entre l'herbe et les ligneux. Ex. genêts, fougères, ronces, joncs,...

Annexe 3 : Questionnaire Maladie

Date

Code du cheval

I) IDENTIFICATION

Enquêteur

Responsable

Cheval

Date d'acquisition ou date d'arrivée sur l'exploitation : _____

Site (nom de la parcelle ou bâtiment principal) : _____

II) CARACTERISTIQUES SANITAIRES GLOBALES

• Vaccination

	Date du dernier rappel	
Tétanos : Oui <input type="checkbox"/>	_____	Non <input type="checkbox"/>
Grippe : Oui <input type="checkbox"/>	_____	Non <input type="checkbox"/>
Rhinopneumonie : Oui <input type="checkbox"/>	_____	Non <input type="checkbox"/>
Autre : Oui <input type="checkbox"/>	_____	Non <input type="checkbox"/>

• Activité PRINCIPALE du cheval (ne cocher qu'une seule case)

Travail taureau Course Endurance

Reproduction Dressage Attelage

Tourisme équestre CSO

Sans activité ou Ballade occasionnelle

Autre _____

• Maladies récentes (depuis 2007) ?

Oui Non Date (mois / an) : _____

Un vétérinaire a-t-il vu le cheval ? Oui Non

Quel a été le diagnostic établi (ou suspicion) ? _____

• Déplacements durant les 15 jours précédant l'apparition des signes cliniques

Déplacement 1 : Date : Motif : Lieu : Durée (jours) : _____

Déplacement 2 : Date : Motif : Lieu : Durée (jours) : _____

MOULIN Elsa

**TIQUES POTENTIELLEMENT VECTRICES DE
L'ANAPLASMOSE GRANULOCYTAIRE EQUINE EN
CAMARGUE**

Thèse Vétérinaire : Lyon , 30 Janvier 2009

RESUME :

L'anaplasmose granulocytaire équine est une maladie infectieuse, due à la bactérie *Anaplasma phagocytophilum* et transmise par les tiques, le plus souvent *Ixodes ricinus* en France.

L'anaplasmose granulocytaire équine semble une maladie émergente en Camargue alors que les tiques *Ixodes ricinus* semblent selon la littérature plutôt absentes de ces biotopes méditerranéens. Afin de lister les tiques potentiellement vectrices de l'anaplasmose granulocytaire équine dans cette région de Camargue, nous avons étudié les tiques présentes sur les chevaux et dans leur environnement direct.

Lors de notre étude, nous avons mis en évidence l'existence de trois genres de tiques : *Rhipicephalus*, *Dermacentor* et *Hyalomma*. Aucune tique du genre *Ixodes* n'a été récoltée, ce qui semble suggérer la capacité pour d'autres genres de tiques de transmettre *A. phagocytophilum* biovar *equi*.

Par ailleurs, l'étude des différents biotopes semble montrer le rôle favorable de la présence d'herbe haute et de broussailles sur la présence des tiques alors qu'au contraire, la présence concomitante de bovins dans la pâture semble être un élément défavorable.

MOTS CLES :

- *Anaplasma phagocytophilum*
- cheval
- tiques
- anaplasmose
- Camargue

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur Yves Pacheco
1er Assesseur :	Madame le Professeur Agnès Leblond
2ème Assesseur :	Monsieur le Professeur Gilles Bourdoiseau

DATE DE SOUTENANCE : 30 Janvier 2009

ADRESSE DE L'AUTEUR : Les eaux claires
07210 St Vincent de Barres