

**BURKINA FASO**  
**Unité-Progrès-Justice**

MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRES ET SUPERIEURS (M.E.S.S)

-----  
UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO DIOULASSO (UPB)

-----  
INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL (IDR)



**MEMOIRE DE FIN DE CYCLE**

en vue de l'obtention du

**DIPLÔME DE MASTER EN PRODUCTIONS ET INDUSTRIES  
ANIMALES**

Contribution à l'étude épidémiologique des anaplasmoses et des babésioses suite à l'introduction récente de la tique *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) dans le Sud-Ouest du Burkina Faso

Présenté par : BADOLO Honorine

**Directeur de mémoire** : Pr Adrien Marie Gaston BELEM

**Maître de Stage** : Dr Hassane ADAKAL

N°...../MaPIA

Mai 2014

## **DEDICACE**

A

- mes parents BADOLO Bali et KANYALA Véronique merci pour votre amour que Dieu vous accorde la grâce de voir réussir vos enfants tout en vous gardant en bonne santé ;
- mes frères Ferdinand, Fulgence et Basile, mon cousin Modera et ma sœur Delphine, merci pour votre affection et votre attention à mon égard ;
- tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce document.

## REMERCIEMENTS

Je remercie Le Dr Valentine C. YAPI-GNAORE, Directrice Générale du CIRDES pour nous avoir acceptés comme stagiaire dans son institution ;

L'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso et tous les enseignants de l'IDR pour la qualité des enseignements reçus ;

Le Professeur Adrien Marie Gaston BELEM, enseignant-chercheur à l'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, pour avoir accepté être notre directeur de mémoire, mais aussi pour ses encouragements ;

Le Docteur Hassane ADAKAL, notre maître de stage pour sa disponibilité à orienter notre travail ;

Le projet WECATIC pour avoir financé notre étude ;

Le Docteur Guiguibaza-Kossinga DAYO, chef de l'Unité de Recherche sur les Bases biologiques de la lutte Intégrée (URBIO), qui m'a reçu pour le stage au sein de son unité. Merci pour son grand soutien lors de nos travaux de laboratoire ;

Le Dr Zakaria BENGALY, Directeur scientifique du CIRDES. Merci pour votre soutien ;

Le Dr TOURE Alassane pour son soutien à la rédaction du document ;

Abel BIGUEZOTON, stagiaire en thèse au CIRDES pour nous avoir initiés aux travaux de laboratoire et pour son aide à la rédaction du document ;

Tout le personnel du CIRDES, en particulier ceux de l'URBIO : Sébastien ZOUNGRANA, Maurice KONKOBO, Souleymane SYLLA, Adrien ZOUNGRANA, Léopold MILLOGO, Youl MEME, BAZEMO pour leur disponibilité et leur soutien lors de nos travaux au laboratoire. Merci d'avoir partagé avec moi votre expérience très enrichissante ;

Tous les stagiaires en master et en thèse au CIRDES, particulièrement, Modou SERE, Ida BENAGABOU, Jethro DELMA, Fostin, Souleymane KANDE, Medina KARAMBIRI, Béatrice TINGUERI, Fatoumata KANAO,

Les docteurs SOMDA Bienvenu, Hervé VITOLEY et DAMA Emilie pour leur soutien,

Mon coéquipier Dr TOURE Mamadou pour sa bonne collaboration, son soutien et son amitié,

Mes condisciples, amis (très particulièrement Bakaye SANOU, Melissa PARE, et Souleymane KANDE), cousins, tantes, oncles et vous tous qui avez contribué à la réalisation de ce travail.

## TABLE DES MATIERES

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS .....	ii
TABLE DES MATIERES .....	iv
RESUME.....	vii
ABSTRACT .....	viii
SIGLES ET ABREVIATIONS .....	ix
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES FIGURES, PHOTOS ET CARTES .....	x
INTRODUCTION GENERALE.....	1
PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....	3
CHAPITRE I. GENERALITES SUR <i>R. MICROPLUS</i> .....	4
I. Importance économique et vétérinaire.....	4
II. Systématique.....	4
III. Identification .....	4
IV. Répartition géographique mondiale de <i>R. microplus</i> .....	5
VI. Biologie de <i>R. microplus</i> .....	7
VI.1. Alimentation.....	7
VI.2. Reproduction.....	8
VI.3. Cycle de vie de <i>R. microplus</i> .....	8
VI.4. Rôle pathogène de <i>R. microplus</i> .....	9
CHAPITRE II : Maladies transmises par <i>R. microplus</i> : anaplasmoses et babésioses bovines	10
I. Les babésioses.....	10
I.1. Généralités.....	10
I.2. Importance .....	10
I.3. Epidémiologie de la babésiose bovine.....	11
I.3.1. Distribution géographique.....	11
I.3.2. Mode de transmission .....	11
I.3.3. Facteurs de réceptivité de l'hôte .....	12
I.3.4. Symptômes .....	12
I.3.5. Lésion des babésioses.....	14
I.3.5.1. Lésions macroscopiques .....	14
I.3.5.2. Lésions microscopiques dans les babésioses bovines .....	14

I.3.6. Diagnostic des babésioses bovines.....	15
I.3.6.1. Identification de l'agent pathogène : la méthode parasitologique.....	15
I.3.6.2. Diagnostic sérologique.....	17
I.3.6.3. Diagnostic moléculaire : réaction de polymérase en chaîne (PCR).....	18
I.3.7. Lutte et prophylaxie.....	18
II. ANAPLASMOSE BOVINE.....	18
II.1. Définition et importance .....	18
II.2. Epidémiologie .....	19
II.2.1. Principales espèces parasites des bovins et distribution géographique .....	19
II.2.2. Modes de transmission et facteurs de réceptivité .....	20
II.2.3. Signes cliniques.....	21
II.2.4. Lésions des anaplasmoses .....	21
II.2.5. Diagnostic .....	22
II.2.5.1. Diagnostic parasitologique .....	22
II.2.5.2. Diagnostic sérologique.....	23
II.2.5.3. Diagnostic moléculaire (Réaction de Polymérase en Chaîne).....	23
II.2.3. Traitement et prophylaxie .....	23
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE.....	24
CHAPITRE I : MILIEU D'ETUDE, MATERIEL ET METHODES.....	25
I. Milieu d'étude.....	25
II. Matériel.....	26
II.1. Matériel biologique .....	26
II.2. Matériel de laboratoire .....	27
III. Méthodes .....	28
III.1. Etudes antérieures.....	28
III.2. Extraction d'ADN.....	28
III.3. Réalisation des PCR.....	29
III.3.1. PCR semi-nichée.....	29
III.3.2. Détection d' <i>A. marginale</i> : la PCR-RFLP.....	30
III.3.3. Détection de <i>B. bovis</i> et <i>B. bigemina</i> .....	32
III.3.5. Analyse des données .....	33
CHAPITRE 2 : RESULTATS ET DISCUSSION .....	35
I. RESULTATS.....	35
I.1. Amplification du gène Msp5 et détection d' <i>A. marginale</i> .....	35

I.2. Amplification du gène Msp4 par RFLP.....	35
I.3. Prévalence .....	36
I.3.1. Prévalence des anaplasmoses .....	36
I.3.2. Prévalence de la babésiose à <i>B. bigemina</i> .....	37
I.3.3. Prévalence de la babésiose à <i>B. bovis</i> .....	37
I.4. Densité d'incidence.....	38
I.4.1. Densité d'incidence d'anaplasmose bovine causée par <i>A. marginale</i> .....	39
I.4.2. Densité d'incidence de la babésiose bovine à <i>B. bigemina</i> .....	39
I.4.3. Densité d'incidence de la babésiose bovine à <i>B. bovis</i> .....	40
I.5. Concordance entre les différentes méthodes de diagnostic.....	40
II. DISCUSSION.....	41
CONCLUSION GENERALE ET SUGGESTIONS.....	45
BIBLIOGRAPHIE .....	46
ANNEXE PHOTOGRAPHIQUE .....	50

## RESUME

*Rhipicephalus (R.) microplus* est une tique invasive nouvellement introduite au Burkina Faso et vectrice de maladies bovines majeures telles les anaplasmoses et les babésioses. L'objectif de la présente étude était d'évaluer l'impact de l'installation de cette tique sur l'épidémiologie de ces maladies par l'utilisation de différentes méthodes de diagnostic de laboratoire (parasitologique, sérologique et moléculaire). Un total de 421 échantillons fut collecté sur 36 bovins au cours d'une étude longitudinale mensuelle réalisée dans trois villages du Sud-Ouest du Burkina Faso: Farnifasso, Kimini et Ouangolodougou. Ces échantillons ont été utilisés pour rechercher trois parasites du bétail (*Anaplasma marginale*, *Babesia (B.) bovis* et *B. bigemina*), responsables des babésioses et anaplasmoses. Notre étude a montré la présence de ces trois hémoparasites dans la zone, mais à des prévalences et incidences différentes selon les sites et selon le test de diagnostic utilisé. Pour le diagnostic de l'anaplasmosose, nous avons enregistré une prévalence de 100% à la PCR sur l'ensemble des trois sites, cependant les prévalences avec le test du frottis, étaient de 83,3 % à Kimini, 16,1 % à Farnifasso et 58,3 % à Ouangolodougou. Pour le diagnostic de la babésiose à *B. bovis*, la prévalence obtenue à Kimini était de 16,6 % avec les frottis, 0 % avec le test ELISA et 100 % avec la PCR; pendant qu'à Farnifasso, les valeurs enregistrées pour les deux autres tests étaient inférieures à 10 %; et à Ouangolodougou elles étaient de 66,6 % avec la PCR et 0 % pour les 2 autres tests. Pour le diagnostic de la babésiose à *B. bigemina*, aucun échantillon n'a donné de résultats positifs avec les frottis alors qu'ils étaient tous positifs à la PCR dans les 3 villages. Par ailleurs, les densités d'incidences, pour l'anaplasmosose avec la PCR étaient de 80 nouveaux animaux infectés sur 100 animaux présents chaque mois à Farnifasso ; 66 à Kimini et 17 à Ouangolodougou. Pour la babésiose à *B. bigemina*, les densités d'incidence de 31 nouveaux animaux infectés sur 100 animaux présents chaque mois à Farnifasso, 58 à Kimini et 100 à Ouangolodougou ont été enregistrées. Pour la babésiose *B. bovis*, une densité d'incidence de 13 nouveaux animaux infectés sur 100 animaux présents chaque mois a été enregistrée à Farnifasso à la PCR, 31 à Kimini et 9 à Ouangolodougou. Cette étude a généré des données récentes et consolidées sur l'épidémiologie des babésioses et de l'anaplasmosose dans la région du Sud-Ouest en permettant ainsi de rendre plus efficace la lutte contre ces maladies.

**Mots clefs:** Prévalence, Incidence, *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Anaplasma marginale* Frottis, ELISA, PCR.

## ABSTRACT

This study aims to evaluate the impact of *Rhipicephalus microplus*, on the epidemiology of hemoparasitosis (babesiosis and anaplasmosis) in South-west Burkina Faso, by using different laboratory diagnostic techniques: parasitology, serology and molecular tools. To achieve above objective it was carried out a monthly longitudinal study for a year in 3 villages (Farnifasso, Kimini, and Ouangolodougou). 421 samples were collected on 36 bovines to seek three parasites of the cattle (*Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* and *B. bigemina*) for which *R. microplus* is a vector. Our study showed the presence of the three hemoparasites in the zone, but different prevalences and incidences that were varying according to the sites and the diagnostic test used. Moreover, the prevalence and densities of incidence according to molecular diagnostic test seem close to the prevalence and densities of incidence of two other tests (smear and ELISA). For the diagnosis of anaplasmosis, we recorded a prevalence of 100% by using PCR tool on all three sites. However, with the smear test, we obtained a prevalence of 83.3% at Kimini, 16.1% at Farnifasso and 58.3% at Ouangolodougou. For the diagnosis of Babesiosis due to by *B. bovis*, in Kimini we recorded a prevalence of 16.6% with the smears, 0% with the ELISA test and 100% with the PCR test; whereas in Farnifasso, we obtained 0% with the smears, 8.3% with the ELISA test and 83.3% with the PCR test. Concerning Ouangolodougou site, we recorded 0% with smears test as well as with ELISA test. PCR test yielded to 66.6% of prevalence. For the diagnosis of the babesiosis caused by *B. bigemina*, we recorded a prevalence of 0% with the smear test in all of the three sites but 100% when using the PCR test. With regard to the densities of incidences, for anaplasmosis, the results have shown with the PCR test a density of incidence of 80 new animals infected for 100 animals present each month at Farnifasso; 66 new infected animals for Kimini; 17 new infected animals for Ouangolodougou. For Babesiosis due to by *B. bigemina*, this study has indicated with the PCR a density of incidence of 31 new animals infected for 100 animals present each month at Farnifasso, 58 new infected animals in Kimini and 100 new infected animals in Ouangolodougou. For Babesiosis caused by *B. bovis*, in Farnifasso we recorded a density of incidence of 13 new infected animals for 100 animals present each month with the PCR, 31 new animals in Kimini and 9 new infected animals in Ouangolodougou. This study has produced recent and strong data on Babesiosis and anaplasmosis epidemiology in Burkina Faso southeast region, thus permitting more effective control of these diseases.

**Key words:** Prevalence, incidence, *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, *Anaplasma marginale*, smear, Elisa, PCR.

## **SIGLES ET ABREVIATIONS**

**CIRDES** : Centre International de Recherche-Développement sur l'Elevage en zone Subhumide

**URBIO** : Unité de Recherche sur les bases Biologiques de la lutte Intégrée

**WECATIC** : Contrôle Intégré des Tiques et maladies transmises en Afrique de l'Ouest et du Centre

**UPB** : Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso

**IDR** : Institut du Développement Rural

**RCPA** : Réseau de Prévention des Crises Alimentaires

**MRA** : Ministère des Ressources Animales

**OIE** : Office Internationale des Epizootie actuelle Organisation mondiale de la santé animale

**CFSPH**: Center for Food Security and Public Health

**DI**: Densité d'Incidence

**IgG**: immunoglobuline G

**IgM**: immunoglobuline M

**ADN**: Acide Désoxyribonucléique

**RFLP**: Restriction Fragment Length Polymorphism

**PCR**: Réaction de Polymérase en Chaîne

**Pb** : Paire de bases

**ELISA** : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Classification de la tique <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> (Horak <i>et al.</i> , 2002a).....	4
<b>Tableau II</b> : <i>R. microplus</i> , hôtes, et maladies transmises (Squarzoni, 2001). .....	9
<b>Tableau III</b> : Programme d'amplification du gène Msp5 en premier tour (PCR1) .....	30
<b>Tableau V</b> : Prévalence de l'anaplasmose bovine à <i>A. marginale</i> par site et par test .....	37
<b>Tableau VI</b> : Prévalence de la babésiose bovine à <i>B. bigemina</i> par site et par test .....	37
<b>Tableau VII</b> : Prévalence de <i>B. bovis</i> par site et par test .....	38
<b>Tableau VIII</b> : Densité d'incidence d'anaplasmose bovine causée par <i>A. marginale</i> (en nombre de nouvelles infections par mois sur 100 bovins présents).....	39
<b>Tableau IX</b> : Densité d'incidence de <i>B. bigemina</i> (en nombre de nouvelles infections par mois sur 100 bovins présents).....	39
<b>Tableau X</b> : Densité d'incidence de <i>B. bovis</i> par village et par test(en nombre de nouvelle infections par mois sur 100 bovins présents). .....	40
<b>Tableau XI</b> : Concordance entre les différents tests par parasite.....	40

## LISTE DES FIGURES, PHOTOS ET CARTES

<b>Figure 1</b> : Morphologie d'une tique femelle <i>R. microplus</i> (Marchal, 2011).....	5
<b>Figure 2</b> : Fixation d'une tique lors du repas sanguin (Walker <i>et al.</i> , 2003).....	7
<b>Figure 3</b> : Cycle de la tique <i>R. microplus</i> (Barre et Uilenberg, 2010).....	9
<b>Figure 4</b> : Morphologie de <i>B. bovis</i> (Troncy <i>et al.</i> , 1981).....	16
<b>Figure 5</b> : Morphologie de <i>B. bigemina</i> (Troncy <i>et al.</i> , 1981) .....	16
<b>Figure 6</b> : <i>A. marginale</i> vu au microscope (www.insecta.ufv.br) .....	22

<b>Photo 1</b> : une hotte	<b>Photo 2</b> : un thermocycleur .....	27
<b>Photo 3</b> : un équipement de révélation d'électrophorèse.....		28
<b>Photo 4</b> : Electrophorèse sur gel	<b>Photo 5</b> : Electrophorèse sur gel d'agarose .....	35
du gène Msp5 (PCR1)	du gène Msp5 (PCR2). .....	35
<b>Photo 6</b> : Profil RFLP de produit PCR du gèneMsp4.....		36
<b>Carte 1</b> : Distribution de <i>R. microplus</i> en Afrique de l'Ouest(Adakal <i>et al.</i> , 2013a).....		6
<b>Carte 2</b> : Sites d'études du Sud-Ouest du Burkina Faso .....		26

## INTRODUCTION GENERALE

L'élevage contribue à hauteur de 44 % au Produit Intérieur Brut (PIB) agricole en Afrique (RCPA, 2010). Au Burkina Faso, l'élevage participe à 11,3 % au PIB national, à 30 % aux recettes d'exportation et à 12 % à la valeur ajoutée (MRA, 2011). L'une des principales contraintes qui influence négativement l'amélioration de la productivité du cheptel est l'invasion massive du bétail par les tiques ainsi que les maladies qu'elles transmettent.

Les tiques sont des acariens hématophages qui se fixent de façon plus ou moins durable sur la peau du bétail. Elles sont sources non seulement d'actions directes telles que les irritations, les lésions cutanées et les spoliations sanguines, mais aussi d'effets indirects comme la transmission d'agents pathogènes (Farougou *et al.*, 2007). Cette présence, quoique temporaire, a un impact négatif sur les animaux domestiques. Ainsi les tiques et les maladies qu'elles transmettent représentent un obstacle majeur à l'amélioration de la productivité des élevages de ruminants. Chez un animal subissant une infestation importante, les pertes de poids peuvent atteindre 15 à 20 kg et une diminution de la production laitière est observée chez les femelles en lactation. En milieu tropical, des retards de croissance et des mortalités atteignant 6,12 % chez des agneaux non sevrés et 20 % chez des agneaux sevrés ont été rapportées (Stachurski *et al.*, 1988). Il existe plusieurs espèces de tiques qui peuvent transmettre une variété d'agents pathogènes aux mammifères. L'une des tiques les plus nuisibles à l'élevage est *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (*R. microplus*) (FAO, 1990) avec un cycle de développement court pouvant être accompli en 3 à 4 semaines (Walker *et al.*, 2003). Cette tique du bétail originaire d'Inde et d'Indonésie s'est avérée particulièrement invasive en de nombreuses zones tropicales et subtropicales.

En Afrique de l'Ouest elle a été identifiée pour la première fois en 2007 en Côte d'Ivoire à Azaguié à 50 km d'Abidjan (Madder, 2010) puis au Bénin (De Clercq *et al.*, 2012) et plus récemment au Burkina Faso, Mali et Togo (Adakal *et al.*, 2013b). Il est suspecté que son introduction en Afrique de l'Ouest se serait faite via l'importation de bovins de race Girolando (Gir X Holstein) du Brésil.

Au Burkina Faso, les premiers constats sur le terrain dus à l'introduction de la tique étaient alarmants : les traitements mis en œuvre par les éleveurs n'étaient plus en mesure de contrôler efficacement les populations de *R. microplus* qui infestaient les animaux et occasionnaient ainsi des pertes économiques et sociales (Pamela, 2012). Cette tique constitue une sérieuse

menace pour l'élevage au Burkina Faso et en général en Afrique de l'Ouest à cause de son caractère invasif et surtout de sa capacité à entrer en compétition et à s'établir au détriment des autres espèces autochtones de tiques comme *R. (Boophilus) annulatus* et *R. (Boophilus) decoloratus* (Madder *et al.*, 2011). Les transhumances frontalières non contrôlées sont aussi à l'origine du risque de propagation de *R. microplus*. C'est le cas au Burkina Faso, surtout la région du Sud-Ouest située à la frontière avec la Côte d'Ivoire. Par ailleurs, *R. microplus* est un très bon vecteur de certaines maladies à tiques telles que les babésioses et les anaplasmoses (Walker *et al.*, 2003). Il est donc à craindre que l'épidémiologie de ces hémoparasitoses soit modifiée avec une augmentation de leur prévalence chez l'hôte bovin. C'est en cela que notre étude qui a été conduite au CIRDES à travers le projet « Contrôle Intégré des tiques et des maladies transmises émergentes en Afrique de l'Ouest et du Centre » (WECATIC) trouve sa justification. Pour mener à bien cette étude, les objectifs et les hypothèses suivants ont été formulés :

#### Objectifs de l'étude

L'objectif global de l'étude était d'évaluer l'impact sur la santé des animaux de l'introduction de la tique *R. microplus* au Burkina Faso.

De manière spécifique, il s'est agi d'adopter au CIRDES, des méthodes de diagnostic moléculaire existantes, et d'évaluer l'incidence et la prévalence des babésioses et des anaplasmoses chez l'hôte bovin.

#### Hypothèses

- l'introduction de la tique *R. microplus* entraîne une modification de l'épidémiologie des babésioses et des anaplasmoses bovines.
- les méthodes de diagnostic moléculaire donnent une meilleure image de la prévalence et de l'incidence des anaplasmoses et des babésioses bovines vis-à-vis des autres méthodes de diagnostic classique.

**PREMIERE PARTIE : REVUE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

# CHAPITRE I. GENERALITES SUR *R.MICROPLUS*

## I. Importance économique et vétérinaire

L'importance de la tique *R. microplus* est également économique et environnementale. En effet, l'utilisation des pesticides contre ces tiques peut non seulement altérer la qualité de la viande, et du lait mais aussi polluer l'environnement. Elle occasionne une perte annuelle mondiale d'environ 1,2 milliard de dollars par an (Luis *et al.*, 2012). *R. microplus* provoque une diminution de la productivité des animaux en lait et en viande et cause des dommages aux cuirs et peaux qui ne peuvent plus être commercialisés (Walker *et al.*, 2003). L'importance vétérinaire plus évidente de *R. microplus* est qu'elle est vectrice d'un certain nombre de maladies telles que la babésiose causée par les parasites protozoaires, *B. bovis* et *B. bigemina* et l'anaplasmose bovine causée par *Anaplasma marginale* et *Anaplasma centrale* (Jonsson *et al.*, 2008). Dans des conditions expérimentales, cette tique peut transmettre *B. equi* qui est responsable de la babésiose équine.

## II. Systématique

La classification de la tique *R. microplus* est donnée comme suit dans le tableau I :

**Tableau I** : Classification de la tique *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Horak *et al.*, 2002a).

Embranchement	Arthropodes
Classe	Arachnides
Ordre	Acariens
Famille	<i>Ixodidae</i>
Genre	<i>Rhipicephalus(Boophilus)</i>
Espèce	<i>microplus</i>

## III. Identification

*R. microplus* est un membre de la famille des *Ixodidae* (tiques dures). Cette tique qui était autre fois connue sous le nom de *Boophilus microplus* a été récemment classée comme étant un sous-genre du genre *Rhipicephalus* (Horak *et al.*, 2002b). Les tiques dures ont un bouclier dorsale (scutum), une pièce buccale (capitulum) placée en avant quand elles sont vues de dessus. Les adultes de *R. microplus* ont un capitulum court et droit ; leurs pattes sont de couleur crème pâle avec un large espace entre la première paire de patte et les pièces buccales (constituant l'hypostome ou rostre) ; le corps et le scutum sont de forme ovale et plus large à

l'avant. Les nymphes ont un scutum orange-brun avec un corps de forme ovale plus large à l'avant ; la couleur du corps varie du marron au gris avec du blanc à l'avant des deux côtés. Les larves ont un capitulum court et droit avec un corps brun, elles ont six pattes au lieu de huit pour les stases avancées (Lempereur *et al.*, 2010). La figure 1 présente une tique femelle *R. microplus*, au microscope électronique.



Face dorsale

Face ventrale

**Figure 1:** Morphologie d'une tique femelle *R. microplus* (Marchal, 2011)

#### **IV. Répartition géographique mondiale de *R. microplus***

*R. microplus* est considérée comme la tique tropicale ayant la plus vaste répartition (Barre et Uilenberg, 2010). Elle est présente dans les zones tropicales et subtropicales, notamment en Asie, Afrique, Amérique centrale et du Sud, Sud de l'Europe, et une partie de l'Australie (CFSH, 2008).

Auparavant inexistante en Afrique de l'Ouest, la présence de *R. microplus* a été démontrée pour la première fois en Côte d'Ivoire à la suite de d'importation de bovins de race Girolando du Brésil (Madder *et al.*, 2007). Une autre étude dans la même région a mis en évidence son caractère invasif (Madder *et al.*, 2011). La même année, la présence de la tique a été révélée au Bénin grâce à un échantillonnage effectué sur le site d'implantation des bovins importés et sur des sites proches. La tique fut récemment découverte au Burkina Faso, au Mali et au Togo (Adakal *et al.*, 2013a). La carte 1 nous présente les différents pays d'Afrique de l'Ouest touchés par la tique *R. microplus*.



- Pays touchés par *R. microplus* avant 2011
- Pays touchés par *R. microplus* après 2011
- Pays récemment touchés par *R. microplus*

**Carte 1:** Distribution de *R. microplus* en Afrique de l'Ouest (Adakal et al., 2013a).

## VI. Biologie de *R. microplus*

### VI.1. Alimentation

Les tiques sont des parasites hématophages à tous les stades de leur cycle de vie (Chartier *et al.*, 2000). L'hypostome de la tique *R. microplus* pénètre au travers de la peau de l'hôte grâce non seulement à une action mécanique, mais aussi à l'action de sécrétions salivaires qui entraînent une lyse des tissus. Cette brèche dans la peau de l'animal hôte peut s'accompagner de surinfection bactérienne ou constituer des voies d'entrée pour d'autres parasites externes comme les myiases (Walker *et al.*, 2003). La fixation de la tique se traduit aussi par une réaction inflammatoire locale, qui est variable en fonction des hôtes (notamment entre les races des bovins) mais peut se traduire par des sérieuses lésions lors de fortes infestations. Une fois fixée, la tique se gorge lors d'un repas sanguin au cours duquel le sang aspiré est concentré ; les stases qui se gorgent considérablement ingèrent en fait une quantité de sang d'environ 3 à 10 fois supérieure à leur volume de départ ; ce phénomène constitue l'un des facteurs responsables des pertes économiques directes (Morel, 1981). Lors d'infestations massives, les retards de croissance peuvent être importants chez les animaux infestés. La figure 2 nous montre l'image d'une tique en alimentation.

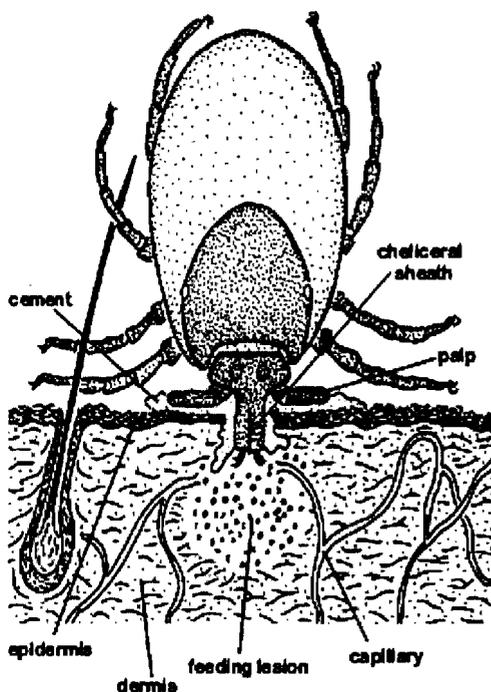


Figure 2 : Fixation d'une tique lors du repas sanguin (Walker *et al.*, 2003)

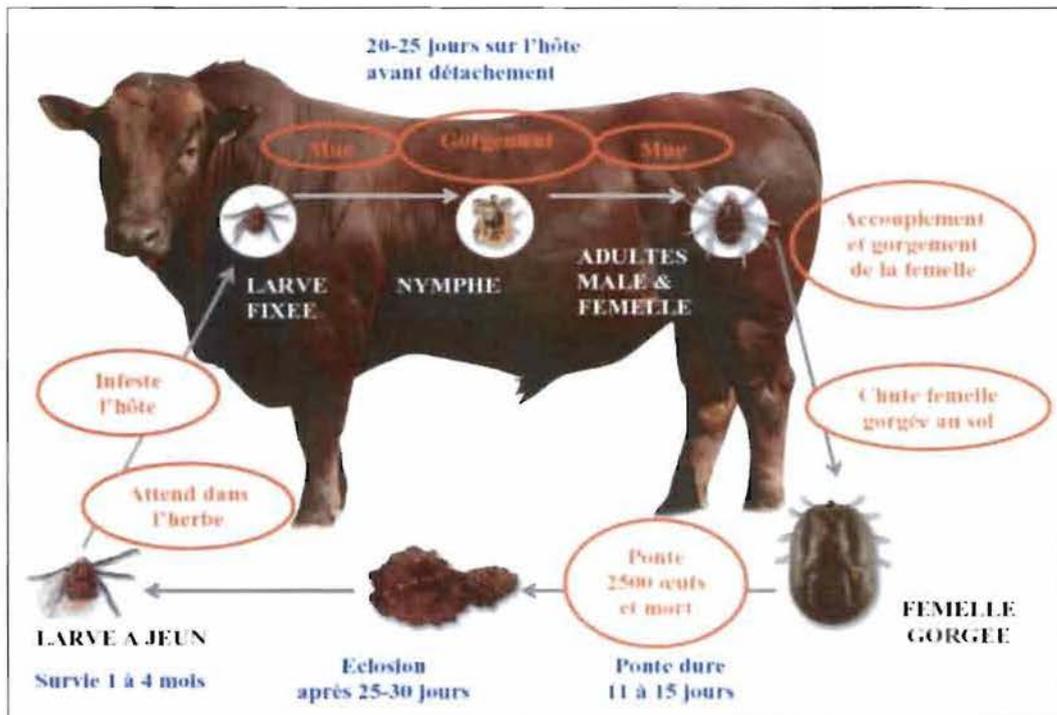
## **VI.2. Reproduction**

Comme la plus part des tiques dures, l'accouplement de *R. microplus* a lieu sur l'hôte. Les tiques mâles demeurent sur l'hôte et s'accouplent avec plusieurs tiques femelles pendant leur alimentation. Ils transfèrent un sac de sperme (spermathèque) à la femelle. Après l'engorgement, les tiques femelles se détachent avec suffisamment de spermatozoïdes pour féconder les œufs qui seront pondus dans la nature (Walker *et al.*, 2003).

## **VI.3. Cycle de vie de *R. microplus***

*R. microplus* est une tique monotrope, toutes les étapes de son développement se passent sur le même animal (figure 3). Elle a un cycle de vie assez court pouvant être accompli en 3 à 4 semaines (Walker *et al.*, 2003). Les œufs sont éclos dans l'environnement et donnent des larves qui rampent jusqu'au sommet des herbes ou d'autres plantes, attendant le passage d'un hôte pour se fixer. Ils peuvent être aussi soufflés par le vent (Estrada-Peña *et al.*, 2006). En été, *R. microplus* peut survivre 3 à 4 mois sans se nourrir. A des températures plus fraîches, elle peut vivre sans nourriture pour un maximum de six mois. Les larves qui ne trouvent pas d'hôtes finissent par mourir de faim. Les larves qui arrivent à trouver des hôtes se fixent habituellement sur les parties les plus fines de la peau, à l'intérieur des cuisses, les flancs, et les membres antérieurs. Elles peuvent également se fixer sur l'abdomen et la poitrine.

Après alimentation, les larves muent pour donner des nymphes, et à leur tour, les nymphes muent pour donner des adultes. Les mâles atteignent la maturité sexuelle et s'accouplent avec les femelles en alimentation. Les femelles adultes nourries et accouplées se détachent de l'hôte et vont déposer un tas d'œufs dans l'environnement avant de mourir. Généralement les œufs sont déposés dans des crevasses ou sous des pierres (Walker *et al.*, 2003).



**Figure 3** : Cycle de la tique *R. microplus* (Barre et Uilenberg, 2010)

#### VI.4. Rôle pathogène de *R. microplus*

Les tiques se nourrissent du sang des animaux et peuvent leur inoculer des germes pathogènes avec des conséquences sur leur santé (pertes de poids, de production laitière...). C'est ainsi que la tique *R. microplus* transmet des agents pathogènes responsables de maladies qui peuvent conduire à la mort de l'animal. Ainsi sont décrites dans le tableau ci-dessous les maladies que *R. microplus* peut transmettre:

**Tableau II** : *R. microplus*, hôtes, et maladies transmises (Squarzoni, 2001).

Tique vectrice	Hôtes	Agents pathogènes Transmis	Maladie provoquée
<i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	Bovins et autres grands mammifères	<i>Babesia bovis</i> <i>Babesia bigemina</i> <i>Anaplasma marginale</i> <i>Borrelia theileri</i>	Babésioses Babésioses Anaplasmose Théileriose

## **CHAPITRE II : Maladies transmises par *R. microplus* : anaplasmoses et babésioses bovines**

### **I. Les babésioses**

#### **I.1. Généralités**

Les babésioses sont des maladies infectieuses, virulentes, inoculables, non contagieuses affectant la plupart des mammifères domestiques et sauvages (Troncy *et al.*, 1981). Leur agent causal est un sporozoaire du genre *Babesia*, obligatoirement transmis par les tiques. Il existe plusieurs espèces de *Babesia* parasites des bovins (*B. bigemina*, *B. bovis*, *B. major*, *B. divergens* et *B. equi*). Les principales espèces parasites des bovins en Afrique sont *B. bovis* et *B. bigemina* transmis par les tiques du genre *Rhipicephalus* (Luis *et al.*, 2012). Les *Babesia* se localisent uniquement dans les érythrocytes. On rencontre les babésioses chez les mammifères domestiques, les chiens, les chevaux et les bovins. Elle est plus rare chez les ovins. Les mammifères sauvages sont également parasités en particulier, les rongeurs et les cervidés, bien qu'ils ne présentent pas de signes cliniques (Euzeby, 1988). La pathologie se caractérise par une anémie hémolytique parasitaire primitive déterminant un ictère hémoglobinurique et par un état de choc souvent accompagné de thromboses capillaires. La splénomégalie est de règle en fonction directe de la gravité de l'hémolyse, avec une pulpe boueuse.

#### **I.2. Importance**

La babésiose bovine est mondialement la plus importante des parasitoses du bétail transmises par un vecteur arthropode et figure à ce titre parmi les maladies listées par l'organisation Mondiale de la Santé Animale (CFSPH, 2008 ; OIE, 2008). Son importance est principalement économique dans les pays en développement touchés par *B. bovis* et *B. bigemina*, mais également épidémiologique par le rôle de réservoir joué dans certains cas par les animaux sauvages (Maslin *et al.*, 2004). En effet, la babésiose bovine est responsable de morbidité, mortalité, avortement, perte de lait et retard de croissance chez les animaux atteints (Marchal, 2011). Il en résulte également une très grande difficulté pour l'amélioration des races rustiques locales par croisement avec des reproducteurs de races améliorées importées à cause de leur sensibilité (Euzeby, 1988).

## I.3. Épidémiologie de la babésiose bovine

### I.3.1. Distribution géographique

La babésiose bovine est rencontrée mondialement dans les régions tropicales où sévissent à la fois les parasites *B. bovis* et *B. bigemina* transmis par les tiques vectrices *R. microplus* et *R. annulatus* et *B. bigemina* transmis par les 4 espèces de *Rhipicephalus (Boophilus)* (Bock *et al.*, 2004). Plus précisément, la distribution de *B. bovis* concerne l'Afrique tropico-équatoriale, Madagascar, l'Australie, l'Asie et l'Amérique tropico-équatoriales, le bassin méditerranéen, et l'Asie Centro-occidentale. L'aire de transmission de *B. bigemina* transmissible par l'ensemble des tiques du genre *Rhipicephalus (Boophilus)* est de ce fait, plus large que celle de *B. bovis* notamment en Afrique (Chartier *et al.*, 2000).

### I.3.2. Mode de transmission

La transmission du parasite aux tiques vectrices est transovarienne, c'est-à-dire que le protozoaire passe d'une génération à la suivante : en effet, une femelle *Rhipicephalus (Boophilus)* s'infecte durant son repas sanguin ; les larves qui sortiront des œufs qu'elle pondra seront infectées par *Babesia* et celle-ci pourront transmettre la maladie (Jonsson *et al.*, 2008). Il semble qu'en fonction de l'espèce de *Babesia* en cause, le stade infectant soit la larve (lorsqu'il s'agit de *B. bovis*) ou la nymphe (lorsqu'il s'agit de *B. bigemina*). Les larves et les nymphes après avoir transmis les parasites en sont stérilisés de sorte que ni les nymphes, ni les adultes de la 2<sup>ème</sup> génération ne transmettent la maladie (Marchal, 2011). Le fait de trouver des adultes infectés ne signifie pas que les *Babesia* ont sauté plusieurs générations, mais plus probablement que les tiques adultes se sont réinfectées sur l'animal qu'elles avaient contaminé à un stade précédent.

La transmission du parasite aux bovins se fait par des tiques infectées lors de leur prélèvement sanguin par l'intermédiaire de la salive. L'efficacité de cette transmission dépend notamment du temps de fixation de la tique sur l'hôte (Maslin *et al.*, 2004).

### I.3.3. Facteurs de réceptivité de l'hôte

Des espèces voisines de mammifères, appartenant habituellement au même genre ou à des genres voisins, sont réceptives aux mêmes espèces de *Babesia* (Troncy *et al.*, 1981). Ainsi Les taurins, les zébus, les buffles d'Afrique et ceux d'Asie appartenant au même genre ou à des genres voisins peuvent être infectés par *B. bovis* et *B. bigemina*. La réceptivité est globale, mais la sensibilité est beaucoup plus nuancée selon les effets pathogènes des parasites ; le zébu est moins sensible aux différentes espèces de *Babesia* que le taurin, la maladie est moins grave, et il fait moins de rechutes (Chartier *et al.*, 2000).

A l'intérieur d'une même espèce d'hôte, une différence de sensibilité raciale peut se manifester. En général, les races traditionnelles, locales sélectionnées orientées vers une grande productivité sont plus rustiques, moins sensibles à une *Babesia*, du fait de leur meilleure adaptation aux conditions climatiques et alimentaires locales, et de leur capital génétique varié, très riche en allèles de résistance (Troncy *et al.*, 1981).

En zone d'enzootie, les troupeaux acquièrent une certaine immunité, mais peuvent être réceptifs à certaines périodes de leur vie (Marchal, 2011). Aussi, certains facteurs peuvent entraîner une exagération de la sensibilité : la fatigue, les maladies intercurrentes, les troubles nutritionnels, la sous-alimentation surtout en saison sèche, l'état physiologique des vaches (phase de gestation et de lactation) peuvent entraîner des ruptures de l'immunité (Euzéby, 1988). Pour ce qui est de l'âge, les jeunes veaux de 3 à 9 mois provenant de régions d'endémie et nés de mères en état d'immunité ou de prémunition reçoivent par le colostrum maternel des anticorps antibabésiens, qui persistent pendant les 2 et 3 premiers mois. Par la suite, un relais de protection non spécifique est assuré par le thymus (Chartier *et al.*, 2000).

### I.3.4. Symptômes

Les symptômes des babésioses sont différents selon l'espèce de *Babesia* en cause. *B. bigemina* est inoculé par la nymphe de la tique *Boophilus* du 7<sup>ème</sup> au 10<sup>ème</sup> jour après fixation de la larve. L'incubation dure en moyenne 4 -5 jours. La maladie aiguë débute par un accès thermique en plateau, qui va durer 4 à 12 jours et atteindre 40-41°C. La parasitémie se manifeste avec un décalage de 2-3 jours après le début de l'hyperthermie, et va diminuer

avant ou en même temps qu'elle. Dans les formes aiguës graves, cette parasitémie atteint un taux de 50-100 pour 1000 (Troncy *et al.*, 1981).

L'hémolyse entraîne d'abord une anémie (le volume cellulaire sanguin peut baisser jusqu'à 10 pour 100 de la normale), entraînant ainsi un ictère ; l'intensité de celui-ci est corrélative de la parasitémie ; il se traduira par la coloration jaune-brun plus ou moins intense des muqueuses oculaires, gingivales et par de l'hémoglobinurie (urines couleur thé ou café très moussantes). A l'installation de l'ictère, l'hyperthermie peut régresser, faisant croire à une amélioration : ce fait indique seulement la baisse du métabolisme général, due à l'intoxication par les porphyrines. Les signes généraux, peu caractéristiques, sont la déshydratation, l'amaigrissement, accompagnés d'anorexie, de faiblesse, de tremblement, de dyspnée, de tachycardie. Le sang est fluide et s'étale mal sur une lame ; son temps de coagulation est augmenté. L'avortement chez les femelles gravides et l'agalaxie chez les laitières sont des phénomènes précoces (Troncy *et al.*, 1981).

Quant à *B. bovis*, elle est inoculée par la larve de *R. microplus* du 3<sup>ème</sup> au 5<sup>ème</sup> jour qui suit sa fixation ; l'incubation dure de 6 à 12 jours. La maladie aiguë se manifeste par une élévation de la température et des signes généraux peu caractéristiques : anorexie, dyspnée, atonie du rumen, constipation. Chez les vaches gravides, il peut y avoir de l'avortement, de l'agalaxie chez les vaches laitières. On note aussi une baisse persistante de fertilité des taureaux (Marchal, 2011). Les bovins en infection avancée sont particulièrement sensibles aux stress, et peuvent perdre connaissance ou mourir lors de simples manipulations en vue de leur traitement (Chartier *et al.*, 2000). La parasitémie dans le sang périphérique sera toujours considérablement plus basse que dans le cas de *B. bigemina*, de 5 à 25 pour 1000. Aussi l'hémolyse, l'ictère et l'hémoglobinurie sont toujours beaucoup moins marqués.

Dans le cas de la babésiose à *B. bovis* suraiguë, la mort intervient brutalement sans autres symptômes qu'une évolution fébrile très forte, suivie du syndrome du choc fatal. Dans la forme subaiguë ou bénigne, n'apparaissent que les signes généraux (Troncy *et al.*, 1981). Les cas graves surtout s'il y a syndrome encéphalique, se terminent par la mort. La guérison, naturelle ou médicamenteuse, se produit avec les mêmes caractéristiques que dans les autres babésioses.

### I.3.5. Lésion des babésioses

#### I.3.5.1. Lésions macroscopiques

Dans le cas des babésioses hémolytiques, c'est l'ictère qui est évident à l'ouverture du cadavre, par la coloration qu'il donne à tout le tissu conjonctif, à toutes les muqueuses internes et externes. La vessie contient de l'urine surchargée en hémoglobine. Les lésions de la rate sont plus évidentes : la splénomégalie est toujours de règle, avec une pulpe boueuse rouge foncée par la dégénérescence des centres hématopoïétiques, au milieu de laquelle se distinguent des corpuscules de Malpighi proéminents, par l'hyperplasie du tissu réticulaire. Le foie est hypertrophié, congestionné, marbré par une décoloration sur un fond de couleur brun feuille morte. Sur une coupe, le lobule apparaît avec un centre jaunâtre et un pourtour grisâtre ; la bile est granuleuse. Sur les reins hypertrophiés, il y a confusion des deux zones corticale et médullaire. Des pétéchies peuvent être présentes sur les séreuses péritonéales et cardiaques. Si l'ictère est peu prononcé, il laisse voir des muscles pâles et cuits, du fait de l'anémie et de la fièvre.

Dans le cas de la babésiose à *Babesia bovis* avec l'apparition de signes nerveux, il y a des pétéchies et des zones de congestion dans le cortex cérébral ; des ecchymoses et des pétéchies sur le péricarde et dans le myocarde, ainsi que sur les reins et dans le parenchyme rénal (Troncy *et al.*, 1981).

#### I.3.5.2. Lésions microscopiques dans les babésioses bovines

Dans le cas de la babésiose bovine à *B. bigemina*, le parenchyme hépatique présente des nécroses centrolobulaires et des dégénérescences lobulaires hydropiques. De nombreux macrophages contiennent des hématies parasitées ou non. Dans les reins, il y a dépôt d'hémosidérine dans l'épithélium tubulaire et les cellules réticulaires des glomérules ; l'épithélium tubulaire est dégénéré dans les néphrites (Troncy *et al.*, 1981).

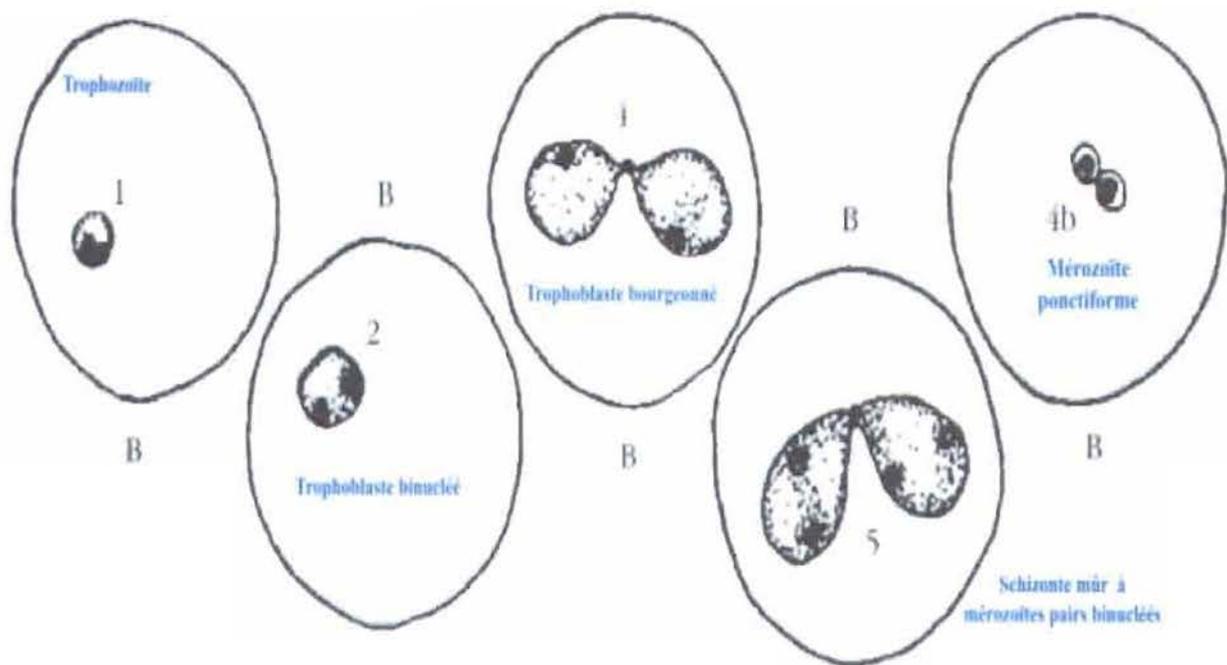
La modification microscopique la plus frappante lors d'infection aiguë à *B. bovis* est la séquestration d'amas d'érythrocytes parasités dans les capillaires périphériques des organes profonds (principalement l'encéphale et le rein) et la congestion et les hémorragies qui en résultent. En effet, ces microthrombis distendent les capillaires du cortex cérébral et sont à l'origine d'un œdème interstitiel périphérique. Des phénomènes de coagulation intra-vasculaire peuvent aggraver ces lésions (Marchal, 2011).

## I.3.6. Diagnostic des babésioses bovines

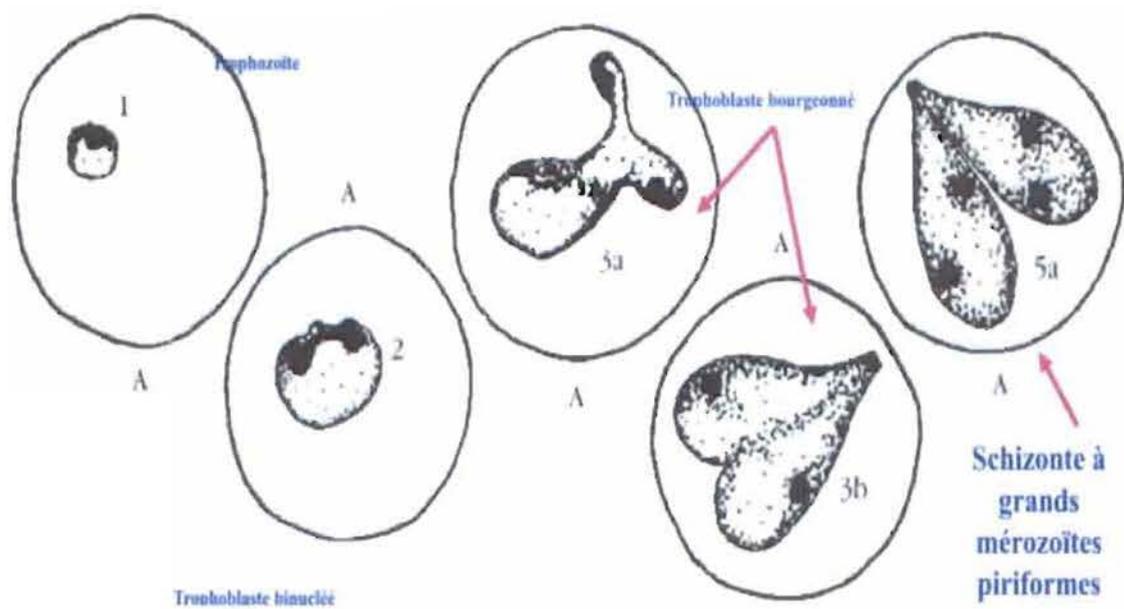
### I.3.6.1. Identification de l'agent pathogène : la méthode parasitologique

L'identification directe de l'agent pathogène chez les animaux infectés se fait par l'examen microscopique d'étalement de sang coloré au May-Grünwald/ Giemsa (OIE, 2005). Dans ce cas, il faut chercher dans les globules rouges, des inclusions doubles en forme de gouttes, plus ou moins grandes, contenant chacune deux noyaux (figures 4 et 5). Le taux d'infection est parfois très faible (moins de 1 pour 100 dans les cas chroniques), et l'examen des lames doit être très attentif. Mais dans le cas de la forme aiguë, le pourcentage d'hématies parasitées peut atteindre 5 ou 10 p.100.

Si l'infection est due à *B. bovis*, le taux d'infection du sang périphérique est nettement inférieur à celui des organes profonds : la présence des inclusions typiques suffit alors à poser le diagnostic, quand bien même que la parasitémie soit très faible. Cette technique permet de détecter des parasitémies d'environ 1 parasite pour  $10^5$ - $10^6$  hématies parasitées. Les frottis sont donc utilisables lors d'infection aiguës, par contre ils ne permettent pas la détection de porteurs sains, aux parasitémies trop faibles pour être détectées. Dans ce cas, il faut avoir recours à des techniques de biologie moléculaire (Marchal, 2011). Du reste, en cas de mort brutale avec symptômes nerveux pouvant faire penser à la babésiose à *B.bovis*, il est recommandé de chercher le parasite dans le cerveau en effectuant un calque d'une coupe du cortex.



**Figure 4** : Morphologie de *B. bovis* (Troncy *et al.*, 1981)



**Figure 5** : Morphologie de *B. bigemina* (Troncy *et al.*, 1981)

### I.3.6.2. Diagnostic sérologique

Il est indirect et consiste à rechercher des anticorps témoins d'une infection plus ou moins ancienne chez l'animal. Diverses méthodes de mise en évidence des anticorps sont disponibles : immunofluorescence indirecte (IFI), fixation du complément (FC) ou enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

L'immunofluorescence indirecte (IFI) est une réaction qui met en jeu des pré-albumines de la surface des hématies, sur lesquelles viennent se fixer les immunoglobulines du sérum à tester (principalement des IgG). Elle est largement utilisée pour détecter les anticorps de *Babesia* spp mais l'épreuve pour *B. bigemina* est très peu spécifique. Des réactions croisées avec les anticorps anti-*B. bovis* dans l'épreuve contre *B. bigemina* sont un problème particulier dans les régions où les 2 espèces coexistent. L'épreuve d'IFI a par ailleurs le désavantage de ne pouvoir être réalisée que sur un faible nombre d'échantillons et de la subjectivité de sa lecture. Elle cède progressivement le pas à la méthode immuno-enzymatique (ELISA), notamment pour le diagnostic spécifique de l'infection par *B. bovis* et *B. bigemina* (OIE, 2008a).

L'ELISA (Enzyme-Linked Immuno-sorbent Assay) est une technique immuno-enzymatique, fréquemment utilisée en immuno-sérologie pour détecter la présence d'un anticorps (ou d'un antigène) dans un échantillon à l'aide de l'antigène correspondant, fixé sur un support insoluble. La liaison de l'anticorps et de l'antigène est révélée par la mise en œuvre d'une réaction enzymatique qui, en agissant sur un substrat chromogène, ou fluorogène, permet l'émission d'un signal coloré et donc de visualiser la réaction de fixation anticorps antigène. Il est cependant limité par la disponibilité en anticorps spécifiques. Une méthode immuno-enzymatique (ELISA) internationalement validée pour le diagnostic de *B. bovis* a été développée (Molloy *et al.*, 1998). Mais, malgré les efforts de plusieurs investigateurs dans différents laboratoires, il n'y a pas encore d'ELISA validé de manière similaire pour *B. bigemina*. Les tests ELISAs pour la détection des anticorps de *Babesia bigemina* sont typiquement peu spécifiques. Un test ELISA développé récemment (ELISA compétitive) et validé en Australie apporte des espoirs considérables (OIE, 2005). L'ELISA n'apporte pas de renseignements sur le stade clinique de l'animal. Toutefois un résultat positif à un test sérologique pour *B. bovis* est un indicateur fiable d'une infection antérieure en raison de la persistance des anticorps et de la longue durée du portage en particulier chez *Bos taurus*. Cependant la technique ELISA reste performante en recherche, lors d'étude épidémiologique

et pour la détection des porteurs lors de contrôle de mouvement d'animaux (Bock *et al.*, 2004).

### **I.3.6.3. Diagnostic moléculaire : réaction de polymérase en chaîne (PCR)**

Le diagnostic par la PCR est basé sur l'identification de séquences spécifiques d'ADN du génome de *B.bovis* et *B.bigemina* aussi bien par hybridation que par amplification. Des essais d'amplification en PCR se sont révélés très sensibles particulièrement pour *B. bovis* et *B. bigemina* chez les bovins (Buling *et al.*, 2007a). Des niveaux de détection aussi faibles que 3 érythrocytes parasités dans 20 µl ont été annoncés. Aussi, un certain nombre de techniques PCR permettant la détection et la différenciation des espèces de *Babesia* dans des infections ont été décrites (Jorgensen *et al.*, 2000). Les techniques de PCR sont sans doute plus sensibles et plus rapides, cependant elles nécessitent le recours à des laboratoires spécialisés et à une main d'œuvre qualifiée.

### **I.3.7. Lutte et prophylaxie**

Il est possible de traiter un animal lorsque le diagnostic est posé suffisamment tôt et avec certitude. Le traitement fait ainsi appel au diminazène à la dose de 2- 6 mg/kg ou à l'imidocarbe à la dose de 1- 2 mg/kg. Lors de fortes infestations, il est recommandé de fractionner la dose afin de ne pas risquer de choc consécutif à la destruction massive des *Babesia* (Troncy *et al.*, 1981).

La prophylaxie sanitaire de la babésiose repose sur la prévention des piqûres de tiques et donc sur un recours aux molécules acaricides et aux différentes mesures de lutte intégrées, avec les limites que ces techniques connaissent. La prophylaxie médicale repose sur l'utilisation de vaccins vivants atténués à partir de souches sélectionnées de *B. bovis*, *B. bigemina*, et *B. divergens* produits à partir de sang d'animaux donneurs infectés.

## **II. ANAPLASMOSE BOVINE**

### **II.1. Définition et importance**

Les anaplasmoses sont des maladies infectieuses affectant les ongulés, dont l'agent causal est un sporozoaire (du genre *Anaplasma*) transmis habituellement par les tiques, mais également

de façon mécanique par les diptères piqueurs (taons, stomoxes) ou par les aiguilles du vaccinateur lors de vaccinations en série (Troncy *et al.*, 1981).

L'importance de la maladie réside surtout au niveau médical et économique. Sur le plan médical, les bovins paient un lourd tribut car elle est responsable d'anémie et d'amaigrissement rapide et a tendance à se confondre avec une convalescence de babésiose. Au plan économique, elle se caractérise par une diminution de la production et de la productivité des animaux, et parfois on note une morbidité et une mortalité dans les cheptels bovins.

## II.2. Epidémiologie

Les tiques vectrices des anaplasmoses bovines ayant plusieurs générations chaque année, on peut s'attendre à trouver des cas d'anaplasmoses à n'importe quelle période de l'année. Bien que les tiques constituent les vecteurs habituels des anaplasmoses, la question du risque d'infection du bétail par ces parasites est infiniment plus complexe, car des vecteurs mécaniques (taons, stomoxes) peuvent intervenir très efficacement lorsqu'ils sont abondants. Si bien que le rôle proprement dit des tiques est débordé par celui des diptères. On peut également noter, comme dans le cas des babésioses, une stabilité enzootique dans les zones où les tiques vectrices sont présentes en nombre suffisant.

### II.2.1. Principales espèces parasites des bovins et distribution géographique

Comme espèces parasites des bovins, nous notons : *Anaplasma marginale* agent de l'anaplasmosse maligne et *A. centrale* (Theiler, 1910), agent de l'anaplasmosse bénigne. Les critères permettant d'identifier les deux *Anaplasma* sont des critères de positionnement. En effet, les inclusions d'*A. marginale* se trouvent majoritairement en périphérie des érythrocytes (80 à 90%) contrairement à celles d'*A. centrale* qui comme leur nom l'indique, sont situées au centre des érythrocytes (85 à 90%) (Chartier *et al.*, 2000).

La distribution d'*A. marginale* est pantropicale, ce qui correspond à celle des espèces de *Boophilus* considérées ordinairement comme ses vecteurs principaux (Chartier *et al.*, 2000). *A. marginale* existe dans certains pays tropicaux et subtropicaux et dans certaines régions aux climats tempérés. *A. centrale* a été décrit à l'origine, en Afrique du Sud. L'organisme a depuis été importé dans d'autres pays (incluant l'Australie, et certains pays d'Amérique du Sud, d'Asie du Sud Est et du Moyen-Orient) pour l'utilisation comme vaccin contre *A. marginale* (OIE, 2008a).

La diffusion de la maladie se réalise par la présence d'individu porteur sain, des tiques et des diptères hématophages. Les tiques ne transmettent que des quantités réduites de sang virulent, ce qui fait que dans des conditions locales de prolifération ou pullulation de diptères hématophages, leur rôle prend considérablement plus d'importance que celui des tiques. Il semblerait que, si les tiques entretiennent un certain pourcentage d'infection dans les troupeaux en zone d'endémie, ce sont les diptères piqueurs qui, en grand nombre, certaines années ou dans certaines régions favorables, sont en cause dans l'éclatement de foyers d'anaplasmose d'allure épidémique (Chartier *et al.*, 2000).

### II.2.2. Modes de transmission et facteurs de réceptivité

Les *Anaplasma* sont exclusivement parasites des érythrocytes ; ils ont une situation intracellulaire, complètement entourée d'une invagination vacuolaire parasitophore de la cellule hôte (Troncy *et al.*, 1981).

La transmission se fait à travers les piqures des tiques vecteurs : (*R. (Boophilus) microplus*, *R. (Boophilus) annulatus*, *R. (Boophilus) decoloratus* et *R. (Boophilus) geigy*) et des diptères hématophages (tabanidés et stomoxes), ou de façon iatrogène par les instruments de soins et enfin par la voie transplacentaire de la vache au fœtus (Chartier *et al.*, 2000, Francois, 2008).

*A. marginale* infecte les taurins, les zébus, le buffle d'Asie, le bison et expérimentalement diverses antilopes d'Afrique. *A. centrale* peut infecter tous les ruminants réceptifs pour *A. marginale*. La sensibilité clinique à *A. marginale* est le fait des bovins domestiques, taurins ou zébus ; entre ces deux groupes, les niveaux de sensibilité ou de résistance sont comparables. Chez les zébus, le degré de résistance dépend de la fréquence de contact, actuelle ou passé des troupeaux avec les anaplasmes. Les populations de zébus vivant en dehors des aires d'endémie d'anaplasmose sont sensibles. Paradoxalement, ce sont les bovins bien ou normalement alimentés qui sont sensibles ; ceux qui reçoivent une alimentation quantitativement déficiente font des symptômes moins graves (Chartier *et al.*, 2000). Les jeunes bovins (jusqu'à l'âge de 12 mois) sont naturellement résistants à la maladie alors que les bovins adultes, après l'âge de trois ans, développent une forme grave de la maladie pouvant entraîner la mort. Les animaux atteints restent porteurs à vie après l'infection, même s'ils développent une immunité efficace (Francois, 2008).

L'état physiologique (lactation, gestation), le stress alimentaire et les maladies intercurrentes sont des causes favorisant une rupture de résistance ou une augmentation de sensibilité aux anaplasmes chez les sujets.

### II.2.3. Signes cliniques

L'anaplasmosse se traduit cliniquement, après une incubation longue (3-4 semaines voire 10), par une anémie fébrile (40-41°C) lente et intermittente, évoluant sur plusieurs semaines. Elle peut provoquer un amaigrissement important, une constipation chronique. Cet état fébrile n'est accompagné ni d'ictère, ni d'hémoglobinurie.

En élevage laitier, la maladie se manifeste le plus souvent initialement par une forte baisse de la production laitière, voire une agalaxie complète. Une fièvre généralement supérieure à 40°C est observable sur plusieurs individus du troupeau donnant une allure "pseudo-contagieuse" à la maladie (Troncy *et al.*, 1981). Les animaux perdent progressivement l'appétit, leur état général se dégrade, ils deviennent cachectiques. Une toux sèche puis grasse accompagnée de difficultés respiratoires se manifeste (syndrome grippal estival). Des avortements d'allure "pseudo-contagieuse" peuvent être observables dans les élevages atteints. Un signe caractéristique de la maladie, l'œdème des paturons, peut se manifester dans certains cas. Néanmoins, son expression reste rare puisqu'on le rapporte dans 1 élevage sur 10 et sur 1 vache sur 10.

L'anaplasmosse bovine entraîne une baisse des défenses immunitaires (infection des globules blancs) et peut donc également favoriser la survenue d'autres maladies (fièvre Q, piroplasmose etc.). Enfin, la maladie peut également évoluer de façon plus insidieuse, moins visible (Chartier *et al.*, 2000).

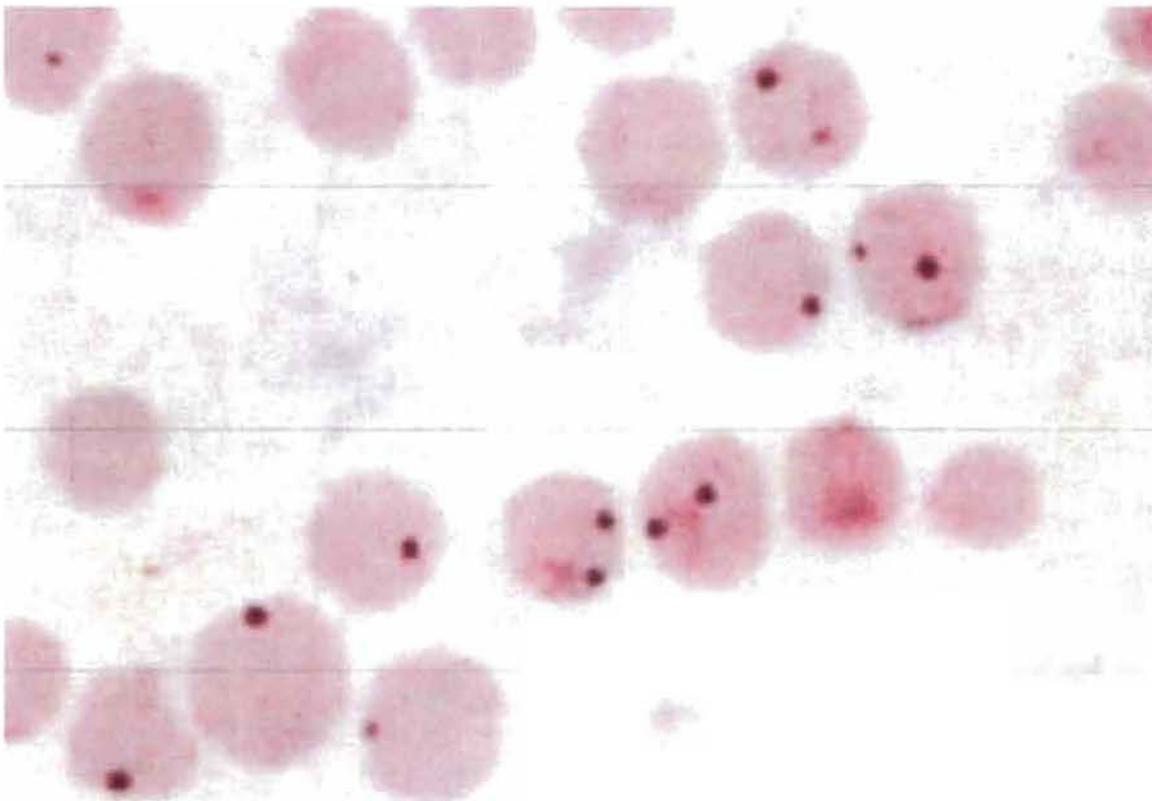
### II.2.4. Lésions des anaplasmoses

Dans son ensemble, la carcasse est maigre ou cachectique, plus ou moins humide. Les muscles sont pâles et les muqueuses blanches. La rate est ordinairement normale (légèrement hypertrophiée s'il persiste un subictère). Les ganglions lymphatiques surtout les mésentériques médiastinaux sont légèrement hypertrophiés et humides (Troncy *et al.*, 1981). L'épicarde et le péricarde présentent des pétéchies. Le foie est jaune par dégénérescence graisseuse. La vésicule biliaire est congestionnée ; le contenu du feuillet est sec en galette compacte, faisant penser à des pathologies en amont.

## II.2.5. Diagnostic

### II.2.5.1. Diagnostic parasitologique

L'examen microscopique d'étalements de sang ou d'organes, coloré avec le colorant de Giemsa est la méthode la plus utilisée pour identifier *Anaplasma* chez des animaux cliniquement affectés (OIE, 2008a). Ce diagnostic est aisé sur étalement de sang dans la forme aigue, où 10 à 50% des hématies sont parasitées (Chartier *et al.*, 2000). Dans ces étalements, *A. marginale* ressemble à des corps denses, ronds et intra-érythrocytaires, d'un diamètre d'environ 0,3 à 1µm, majoritairement localisés à la périphérie des érythrocytes (figure 6). *A. centrale* est similaire en apparence, mais la majorité des organismes ne sont pas localisés en bordure des érythrocytes. Il peut être difficile de différencier *A. marginale* d'*A. centrale* sur des frottis colorés notamment lors de rickettsiémies faibles (OIE, 2008a).



**Figure 6** : *A. marginale* vu au microscope ([www.insecta.ufv.br](http://www.insecta.ufv.br))

### **II.2.5.2. Diagnostic sérologique**

Les épreuves sérologiques sont déterminantes pour l'établissement d'un diagnostic d'anaplasmose subaiguë ou chronique ; les anticorps sont alors détectables respectivement trois à dix semaines après la contamination des animaux. Ces épreuves sont d'usage courant dans les suivis épidémiologiques car ils ont essentiellement un intérêt rétrospectif et sont surtout indiqués pour la recherche des animaux porteurs (Chartier *et al.*, 2000). Une épreuve immuno-enzymatique de compétition (c-ELISA) a révélé une bonne sensibilité dans la détection des animaux porteurs (Troncy *et al.*, 1981). Les épreuves d'agglutination sur carte, d'ELISA indirect, de dot-ELISA et d'immunofluorescence indirecte peuvent aussi être utilisées.

La réaction de fixation du complément (FC) n'est plus considérée comme un test fiable pour la certification de la maladie dans des animaux individuels en raison d'une sensibilité variable. Des réactions croisées entre les *Anaplasma spp* peuvent compliquer l'interprétation des résultats sérologiques.

### **II.2.5.3. Diagnostic moléculaire (Réaction de Polymérase en Chaîne)**

Les épreuves basées sur la PCR ont été utilisées expérimentalement et permettent de détecter la présence d'infection à bas niveau chez des bovins porteurs et dans les tiques vectrices. Des précautions doivent être prises avec les épreuves basées sur la PCR à des fins de diagnostic puisque une réaction nichée est nécessaire pour l'identification des porteurs à bas niveau et des amplifications non spécifiques peuvent exister (OIE, 2008).

## **II.2.3. Traitement et prophylaxie**

Le traitement se fait soit à l'aide de l'imidocarbe (Carbésia ND), soit avec des tétracyclines.

La prophylaxie générale de même que celle sanitaire sont plus difficiles du fait que le mode de transmission ne relève pas uniquement de l'activité des tiques mais aussi d'autres insectes tels que les taons et les stomoxes.

En zone d'endémie, en situation stable il faut réduire la population de tiques. En situation instable, reconsidérer les principes de lutte contre les tiques et vacciner le bétail résistant.

**DEUXIEME PARTIE : ETUDE  
EXPERIMENTALE**

# CHAPITRE I : MILIEU D'ETUDE, MATERIEL ET METHODES

## I. Milieu d'étude

L'étude a été menée au Burkina Faso, un pays intertropical avec une superficie de 274.300 km<sup>2</sup>. Ce pays est situé entre le 10<sup>ème</sup> et 15<sup>ème</sup> parallèle Nord. Son climat est de type soudano-sahélien. On y trouve trois zones éco-climatiques :

- la zone sahélienne délimitée au sud par l'isohyète 600 mm

- la zone soudano sahélienne comprise entre les isohyètes 600 et 900 mm.

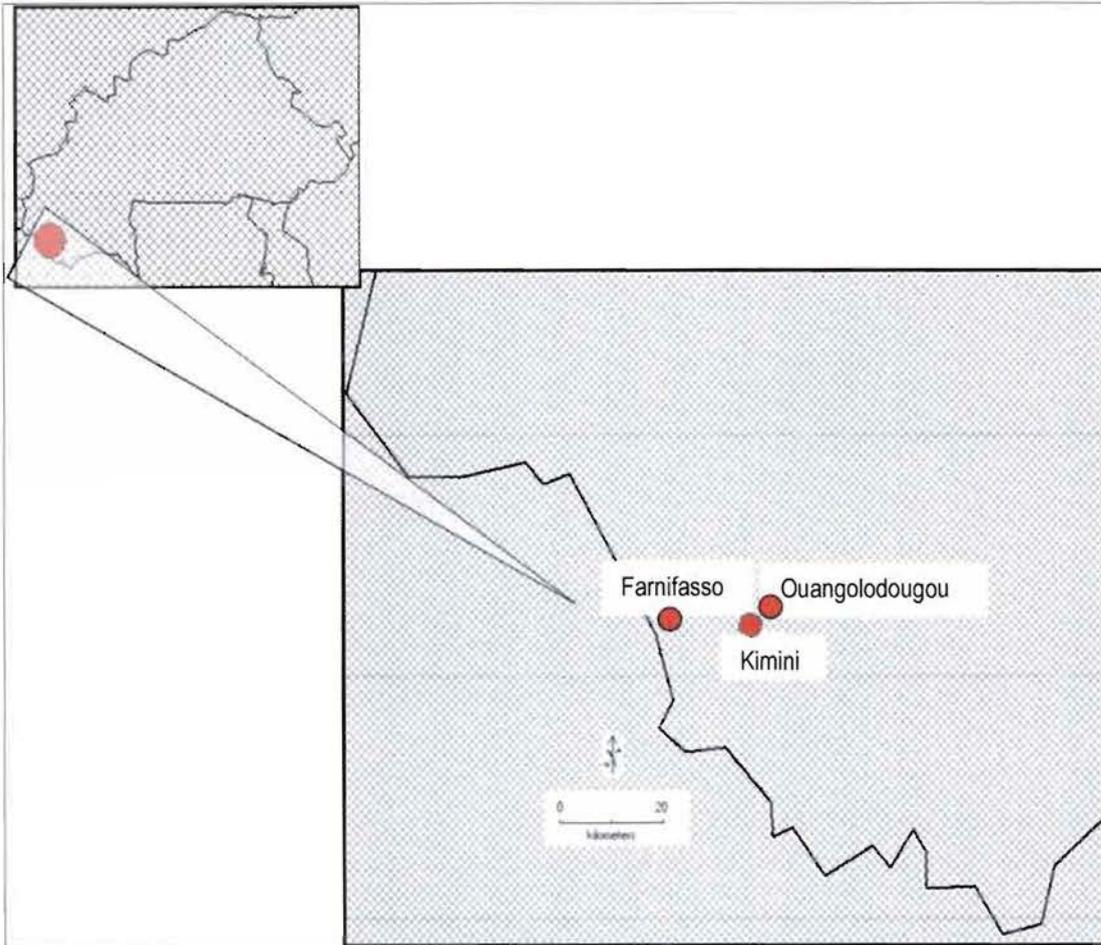
- la zone soudanienne délimitée au nord par l'isohyète 900mm qui occupe tout le sud du pays. Cette zone est la plus arrosée avec une pluviométrie comprise entre 1000 et 1100 mm. Les pluies s'étalent sur environ 5 à 6 mois (de mi-mai à mi-octobre).

Notre étude s'inscrit dans le cadre des activités du projet WECATIC qui prend en compte trois pays que sont le Burkina Faso, le Benin, et le Cameroun. Le projet vise à évaluer l'impact potentiel et les risques liés à l'introduction de *R. microplus* en Afrique de l'Ouest et du Centre en relation avec une possible augmentation de la virulence des babésioses et des anaplasmoses dans les élevages bovins. Trois zones d'études ont ainsi été choisies dans chacun des trois pays partenaires du projet WECATIC. Le choix des zones d'études a pris en compte les différentes zones agro-écologiques du sahel et les zones humides en passant par les zones subhumides et se base également sur la présence de la tique *R. microplus* ou sur sa suspicion dans les zones où il y a eu récemment l'introduction de bétail sur pied. En ce qui concerne notre étude proprement dite, elle a couvert la zone du Sud-Ouest du Burkina Faso, qui en plus d'être humide est celle où la tique a été découverte la première fois (Adakal *et al.*, 2013b). L'échantillonnage s'est appliqué aux villages suivants:

- Farnifasso le quartier N°6 de Niangoloko situé entre la latitude 10 17' 00'' Nord et la longitude 4 55' 00'' ouest. *R. microplus* est présente dans ce village.

- Kimini, une commune rurale située dans le département de Niangoloko dans la province de la Comoé, région des cascades au Burkina Faso. Il est situé entre la latitude 10 04' 24'' nord et la longitude 4 46' 50'' ouest. C'est le premier site où la tique *R. microplus* a été découverte pour la première fois au Burkina Faso.

- Ouangolodougou, également une commune rurale de Niangoloko situé entre le 10 04' 13'' nord et le 4 48' 18'' Ouest, la présence de la tique a été également confirmée dans ce village. La carte 2 ci- dessous présente les trois sites d'études :



**Carte 2 : Sites d'études du Sud-Ouest du Burkina Faso**

## **II. Matériel**

### **II.1. Matériel biologique**

Le matériel biologique provenait d'une étude antérieure menée dans le cadre des activités du projet WECATiC.IL a été collecté lors d'une étude prospective longitudinale mensuelle de 12 mois (Avril 2012 à Mars 2013) à Farnifasso, Kimini et Ouangolodougou. Il s'agissait précisément de la réalisation d'un suivi parasitologique, sérologique et biomoléculaire. Les prélèvements de sang sur les animaux (race zébu et ou métisse zébu X taurin) suivis ont été effectués dans des tubes à EDTA pour le diagnostic biomoléculaire, et dans des tubes secs pour le diagnostic sérologique. Les mentions de dates de prélèvement, de localité, de sexe et d'âge des animaux ont été portées sur chaque tube. Les frottis sanguins destinés aux examens

parasitologiques ont été directement réalisés sur le terrain à partir de sang collecté sur les oreilles des bovins. Durant le suivi longitudinal, autant que possible 12 bovins étaient suivis mensuellement au niveau des trois villages. Dans le village de Farnifasso, le suivi a commencé par 10 animaux les deux premiers mois avant d'ajouter 2 animaux pour compléter à 12, et un animal sur les 12 animaux a été absents au 9<sup>ème</sup> et 10<sup>ème</sup> mois du suivi. A Kimini, pendant les deux premiers mois du suivi, on disposait respectivement de 10 et 11 animaux, et 12 animaux pour les 10 mois restants du suivi. Quant à Ouangolodougou, 10 animaux ont été suivis au 1<sup>er</sup> mois, 11 au 8<sup>ème</sup> mois et 12 pour le reste du temps de la durée du suivi. Un total de 421 échantillons ont été récoltés dont 138 à Farnifasso, 142 à Kimini et 141 à Ouangolodougou. Les retraits d'animaux ont été dus au fait qu'ils ont été vendus par l'éleveur.

## II.2. Matériel de laboratoire

Pour la réalisation des diagnostics moléculaires (PCR), un certain nombre de réactifs, consommables et appareils ont été utilisés. La liste des appareils essentiels qui a été utilisé est donnée ci-dessous :

- une hotte (photo 1)
- des pipettes à volume variable (5-1000 µl)
- des congélateurs et réfrigérateurs de -20°C, et 4°C ;
- un thermocycleur de marque biometra pour la PCR semi-nichée (photo2), un équipement RT-PCR, une cuve à électrophorèse et un équipement de révélation d'électrophorèse (photo 3).



**Photo 1** : une hotte



**Photo 2** : un thermocycleur



**Photo 3** : un équipement de révélation d'électrophorèse

### **III. Méthodes**

#### **III.1. Etudes antérieures**

Les diagnostics parasitologique (observation microscopique des lames) et sérologique (ELISA indirect) avaient déjà été réalisés avant le début de notre stage. Tous les échantillons ont été observés au microscope pour le diagnostic des deux types de *Babesia* (*B. bovis* et à *B. bigemina*) ainsi que d'*A. marginale*. Concernant le diagnostic sérologique, seulement *Babesia bovis* a été recherché dans certains échantillons de sérum.

#### **III.2. Extraction d'ADN**

Le protocole que nous avons utilisé pour l'extraction d'ADN est celui décrit par Plowe *et al.*(2008) à partir du sang sur papier filtre Whatman N°1:

Ainsi à l'aide d'un ciseau perforateur, 5 confettis sont réalisés avec chaque papier filtre Whatman et recueilli directement dans des tubes stériles Eppendorf de 1,5ml. Les tubes sont numérotés en concordance avec le numéro inscrit sur le papier filtre afin de distinguer l'ADN de chaque animal. Avant de passer à la perforation d'un autre échantillon, le perforateur est stérilisé au feu pendant environ 15 secondes pour éviter toutes contaminations. Après l'obtention des confettis dans les tubes, 1ml de PBS saponine (0,5 %) est ajouté dans chaque tube puis incubé toute une nuit à 4°C après mélange du contenu de chaque tube.

Le lendemain matin, le contenu de chaque tube est centrifugé pendant une minute à 16000 rpm. Après avoir vidé du surnageant, 1ml de PBS est ajouté au culot contenu de chaque tube. L'ensemble est homogénéisé, puis incubé à 4° C pendant deux heures. Le contenu de chaque tube est par la suite centrifugé pendant une minute à 14000 rpm. Le surnageant de chaque

tube est vidé et remplacé par 100µl de chelex (100) 10 %, puis incubé 10minutes à 95°C tout en mélangeant constamment le contenu.

Après l'incubation, le contenu de chaque tube est centrifugé pendant 5minutes à 14000rpm et le maximum de surnageant de chaque tube est récupéré dans un nouveau tube stérile. Le surnageant récupéré de chaque tube est centrifugé à 14000 rpm, pendant 5minutes puis transféré soigneusement dans de nouveaux tubes stériles de 1,5ml. Ces derniers qui contiennent l'ADN extrait sont ensuite conservés à -20°C pour une utilisation ultérieure (PCR et électrophorèse). Ainsi l'ADN des 421 échantillons ont été individuellement extraits et conservés.

### III.3. Réalisation des PCR

Nous avons utilisé différentes méthodes de PCR en fonction des parasites recherchés.

La détection d'*A. marginale* dans les échantillons de bovins s'est faite en deux temps: une PCR semi-nichée et une PCR-RFLP (PCR suivie d'une digestion enzymatique). La détection de *B. bovis* et *B. bigemina* s'est faite grâce à la PCR en Temps réel (RT-PCR).

#### III.3.1. PCR semi-nichée

Elle a été réalisée par ciblage du gène Msp5 de *A. marginale* en suivant la méthode décrite par De Echaide et al. (1998). Cependant avec des modifications au niveau du programme d'amplification de la 2<sup>ème</sup> PCR (températures d'hybridations précisément). Le couple d'amorces externes utilisé en PCR1 est :

Msp5ExFOR : 5'GCATAGCCTCCGCGTCTTTC3'

Msp5ExREV : 5'TCCTCGCCTTGGCCCTCAGA3'

Ce couple amplifie un fragment d'environ 456Pb.

Le couple d'amorces utilisé en PCR2 est :

Msp5ExREV : 5'TCCTCGCCTTGGCCCTCAGA3'

Msp5IntFOR : 5'TACACGTGCCCTAC CGAGTTA3'

Ce couple amplifie un fragment d'intérêt de 343Pb.

La réaction PCR se réalise dans les deux cas (PCR1 et PCR2) dans un volume de milieu réactionnel de 25 µl par tube, contenant 200 µM de dNTP, 3 mM de MgCl<sub>2</sub>. Les amorces Msp5extFOR et Msp5extREV sont utilisées à une concentration finale de 2 ng/µL en R1. La R2 a été réalisée avec Msp5extREV à la même concentration finale (qu'en R1) et Msp5intFOR à 168 nM.

Pour la PCR1, 1 µl d'échantillon d'ADN à tester complète le volume final à 25 µl. Pour chaque test, il est ajouté à la série d'échantillons à analyser un témoin positif (fourni par les partenaires du projet WECATIC) et un témoin négatif (eau distillée stérile).

Les cycles thermiques qui se font dans le thermocycleur (Biometra), débutent par une dénaturation préalable de 3 min à 94°C et se poursuivent comme détaillé dans le tableau 3.

**Tableau III** : Programme d'amplification du gène Msp5 en premier tour (PCR1)

Cycles	Etapes	Température	Temps
40	Dénaturation	94°C	50 secondes
	Hybridation	60°C	50 secondes
	Elongation	72°C	50 secondes
1	Elongation	72°C	10 minutes
1	Conservation	4°C	-

A la PCR 2, 1 µl des produits PCR1 est ajouté comme substrat à la place de l'ADN comme échantillon pour compléter le volume final à 25 µl. La réaction se déroule comme décrit précédemment à la seule différence que l'hybridation se fait à 58°C. Les produits PCR 2 sont conservés à 4°C ou migrés sur un gel d'agarose 1.5 %.

### III.3.2. Détection d'*A. marginale* : la PCR-RFLP

Elle a été réalisée en suivant la méthode décrite par Hornok (2008) ciblage du gène Msp4 en réalisant une PCR simple, suivie d'une (RFLP) à l'aide de l'enzyme TaqI pour s'assurer de la

présence de *A. marginale* et non celle de *A. ovis* dont le gène Msp4 peut aussi être amplifié par le même couple d'amorces (utilisé ici pour rechercher *A. marginale*). Les séquences des amorces utilisées sont :

Msp45 :5'GGGAGCTCCTATGAATTACAGAGAATTGTTTAC3'

Msp43 :3'CCCCGGATCCTTAGCTGAACAGGAATCTTG5'

La taille attendue du fragment d'intérêt après migration sur gel d'agarose 1,5 % est de 866 pb chez *A. marginale* et *A. ovis*. Après avoir téléchargé les séquences du gène Msp4 des deux espèces (EF190509 (*A. ovis*) et EF190508 (*A. marginale*)) sur GenBank, nous avons utilisé le logiciel *Serial Cloner (Version 2.6.1)* pour réaliser les PCR *in silico* puis rechercher des sites de restriction des enzymes permettant de distinguer ces deux espèces. La TaqI fait partie de celles qui nous permettaient d'avoir des profils bien discriminants. Cette enzyme a deux sites de restriction chez *A. marginale* alors qu'elle n'en a aucun chez *A. ovis*.

Ainsi après la PCR, tout échantillon digéré par l'enzyme est considéré comme positif à *A. marginale* alors que dans le cas contraire il s'agirait d'*A. ovis*. Bien que nos échantillons proviennent de bovins, nous avons préféré effectuer ces vérifications discriminantes pour éviter les faux positifs. Le profil RFLP attendu chez *A. marginale* donne donc trois bandes de 141pb, 198 pb et 527 pb.

La composition du milieu réactionnel et le programme de PCR sont identiques à la R1 de la semi-nested PCR ciblant le gène Msp5.

La réaction PCR pour la RFLP se déroule dans un volume de 20µl par tube, contenant 8,853 µl d'H<sub>2</sub>O ; 1,5 µl de Buffer 10x ; 0,15 µl d'acétyle BSA à 10 µg/µl ; et 0,5 µl d'enzyme de restriction (TaqI) à 10 µg/µl.

5µl des produits PCR1 est ajouté comme échantillon dans chaque tube pour la RFLP. La digestion enzymatique se déroule suivant le programme ci-dessous :

Activation de la Taq1 : 65°C toute une nuit

Inactivation de la Taq1 : 80°C pendant 20minutes

Les produits RFLP sont conservés à 4°C ou migrés immédiatement sur un gel d'agarose 1.5 %.

### III.3.3. Détection de *B. bovis* et *B. bigemina*

Pour la détection de ces parasites, la technique de la RT-PCR (PCR en temps réel) a été utilisée. Cette méthode est basée sur la publication de Buling *et al.* (2007b) et a été adaptée en multiplexe (plusieurs fragments d'intérêts ciblés (espèces) dans un même tube 2 dans notre cas, *B. bovis* et *B. bigemina*) au laboratoire de biologie moléculaire du CIRDES avec la collaboration de l'équipe du CIRAD-EMVT Guadeloupe. Lors de la réaction d'amplification, il est incorporé un intercalant présent dans le mix, le Sybrgreen, qui se fixe au fur et à mesure de la réaction dans les doubles brins du fragment amplifié et émet une fluorescence. Cette fluorescence est mesurée par le thermocycleur à chaque cycle. Une fois l'amplification terminée, une étape de dissociation permet de déterminer la température de dissociation propre à chaque amplicon et ainsi de les différencier par leur différence de séquences. Les couples d'amorces utilisées pour chaque parasite sont :

pour *B. bovis* :

cbosg-1 : 5' TGTTCCCTGGAAGCGTTGATTC -3'

cbosg-2 : 5' AGCGTGAAAATAACGCATTGC -3'

pour *B. bigemina* :

cbisg-1 : 5' TGTTCCAGGAGATGTTGATTC 3'

cbisg-2 : 5' AGCATGGAAATAACGAAGTGC 3'

Le mélange de réactifs est composé de 1X de SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems), 0,15 µM de chaque amorce de *B. bovis* et 0,8 µM de chaque amorce *B. bigemina* et 2 µL d'ADN. Le programme d'amplification est composé d'une phase de dénaturation initiale à 95°C pendant 10min au cours de laquelle la Taq polymérase contenue dans le master mix est activée, et de 40 cycles de 95°C pendant 15s et 60°C pendant 60 s. L'étape d'amplification est suivie de celle de dissociation qui permet de déterminer les températures de dissociation (T<sub>m</sub>) spécifiques pour chacun des deux agents pathogènes étudiés.

### III.3.5. Analyse des données

➤ Calcul des prévalences et des incidences

La prévalence et l'incidence sont les deux grands types d'indicateurs épidémiologiques permettant de caractériser respectivement la situation d'une maladie à un instant donné ou à une date donnée et l'apparition d'un événement dans le temps. Elles ont été calculées par site en fonction des méthodes de diagnostic.

Les prévalences apparentes (exprimée en %) ont été calculées suivant la formule suivante :

$$\text{Prévalence} = \frac{\text{Nombre d'échantillons positifs}}{\text{Nombre total d'échantillons testés}} \times 100$$

La densité d'incidence est une variante de l'incidence qui se définit comme le potentiel de changement (nouveau malade par exemple) par unité de temps T, relativement à l'effectif de la population à risque (non malade) par temps T (Ancelle, 2011). La densité d'incidence peut excéder 1 contrairement à l'incidence cumulative (appelée aussi risque d'incidence variant entre 0 et 1, en plus sans unité). La densité d'incidence est particulièrement appropriée lorsqu'il y a eu des retraits ou des ajouts d'individus (pour une raison quelconque) à la population de l'étude. Dans ces conditions, l'incidence cumulative ne devrait pas être utilisée. (Pfeiffer, 2002; Toma et al., 1999). La densité d'incidence étant donc rationnellement retenue, sa valeur (exprimée en nombre de nouvelles infections par mois pour 100 bovins présents) a été déterminée selon la formule suivante :

$$\text{Densité d'incidence} = \frac{\text{Nombre de nouveaux cas}}{\text{Nombre total d'individus temps à risque}}$$

Le " nouveau cas" désigne une nouvelle positivité d'un animal à test diagnostic. Cet animal étant négatif aux tests antérieurs. Un individu temps à risque est un bovin négatif et donc

différents tests de laboratoire. Le logiciel Excel (Microsoft Office, 2007) nous a aussi servi. Les différences de résultats entre les tests de diagnostic sont déclarés significatives pour  $P < 0,05$ , hautement significatifs pour  $P < 0,01$  et très hautement significatif pour  $P < 0,001$ .

➤ Calcul de concordance des tests diagnostics

Pour chaque hémoparasite, nous avons fait usage de deux méthodes de diagnostic au moins. La concordance des résultats fournis par ces méthodes a été évaluée à travers le coefficient kappa ( $\kappa$ ). Pour avoir ce coefficient, il faut d'abord calculer le coefficient de concordance observé ( $C_c$ ) et ensuite la concordance attendue ( $C_a$ ) (Ancelle, 2011):

$$C_c = \frac{\text{Nombre d'examens concordants}}{\text{Nombre d'examens comparés}}$$

$$C_a = \frac{t_1 n_1 + t_2 n_2 + \dots + t_i n_i}{N^2}$$

$n$ = nombre d'échantillons testés pour chaque sites  $N$ = nombre totale d'échantillons testés pour l'ensemble des 3 sites.

$$\kappa = \frac{C_c - C_a}{1 - C_a}$$

A chaque valeur de  $\kappa$  correspond une interprétation bien donnée selon Land et Koch, (1977).

## CHAPITRE 2 : RESULTATS ET DISCUSSION

### I. RESULTATS

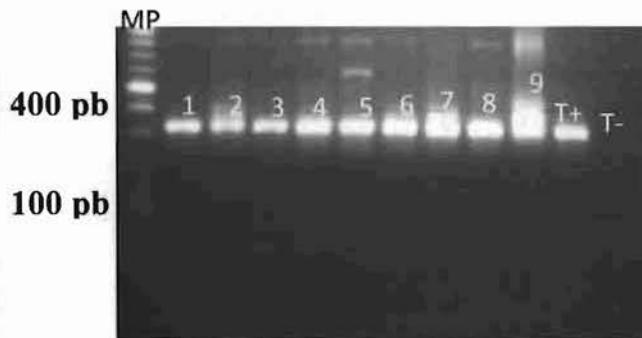
#### I.1. Amplification du gène Msp5 et détection d'*A. marginale*

L'application de la PCR semi-nichée a permis de détecter l'infection par *A. marginale* chez les bovins. Les échantillons positifs à la PCR1 (Round 1) sont ceux donnant des bandes à 456 pb à la même hauteur que le témoin positif (photo 4). Pour les échantillons positifs à la PCR2 (Round 2), les bandes apparaissent à 343 pb avec toujours un témoin positif comme indicateur d'une bonne amplification (photo 5).



**Légende :** MP = marqueur de poids ; pb = Paire de base ; les Echantillons 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9 et 10 sont Positifs ; 6 est négatif ; T+ = témoin positif ; T- = témoin négatif

**Photo 4 :** Electrophorèse sur gel d'agarose (1.5%) des produits d'amplifications du gène Msp5 (PCR 1)



**Légende :** Les échantillons 1 à 9 sont positifs ;

**Photo 5 :** Electrophorèse sur gel d'agarose (1.5%) des produits d'amplification du gène Msp5 (PCR 2).

#### I.2. Amplification du gène Msp4 par RFLP

Après la PCR simple les échantillons ont subi une RFLP qui a permis de détecter l'infection par *A. marginale* chez les bovins. Les échantillons positifs sont ceux donnant des bandes à 141 pb, 198 pb et 527 pb (photo 6).



**Photo 6** : Profil RFLP de produit PCR du gène Msp4.  
Echantillons 1 à 10 : positif ; 11 : témoin de digestion

### I.3. Prévalence

Douze (12) animaux ont été testés mensuellement sur chaque site pendant 12 mois donc 36 animaux au total pour les 3 sites. Les prévalences globales pour chaque parasite et par méthode de diagnostic ainsi que par site ont été calculées. On note une différence significative ( $P < 0,01$ ) des prévalences entre les différents tests (52,7 % pour les frottis et 100 % pour la PCR) au niveau du diagnostic d'*A. marginale*, une différence très hautement significative entre les tests (5,5% pour les frottis, 2,7 pour le test ELISA et 83,3% pour la PCR) pour les diagnostics de *B. bovis* et *B. bigemina* (0% pour les frottis et 100% pour la PCR) ( $P < 0,0001$ ). Les prévalences moléculaires restent supérieures aux prévalences parasitologiques et sérologiques pour chacun des trois hémoparasites (tableaux V, VI et VII).

#### I.3.1. Prévalence des anaplasmoses

Sur chacun des trois sites, les prévalences sont de 100 % avec la PCR et variables d'un site à l'autre avec les frottis (tableau V). La plus forte prévalence parasitologique (83,3 %) a été enregistrée à Kimini alors que la plus faible (16,6 %) a été constatée à Farnifasso. Ces prévalences parasitologiques restent inférieures aux prévalences moléculaires sur les trois sites (respectivement 16,6 % à Farnifasso, 83,3% à Kimini, et 58,3 % à Ouangolodougou contre 100 % sur l'ensemble des trois sites).

Globalement pour les trois (3) sites, 36 bovins sur 36 se sont révélés positifs avec la PCR, soit une prévalence de 100 % contre 19 bovins sur 36 avec les frottis soit une prévalence de 52,7 %. On note une différence significative entre les frottis et la PCR ( $P < 0,01$ ). Pour ce qui est des individus positifs à la fois aux frottis et à la PCR, 19 bovins sur 36 se sont révélés positifs soit une prévalence de 52,7 %.

**Tableau V** : Prévalence de l'anaplasmosse bovine à *A. marginale* par site et par test

Site	Nombre de bovins testés	Frottis		PCR		Frottis + PCR	
		N bovins infectés	Prévalence (%)	N bovins infectés	Prévalence (%)	N bovins infectés	Prévalence (%)
Farnifasso	12	2	16,6	12	100	2	16,1
Kimini	12	10	83,3	12	100	10	83,3
Ouangolodougou	12	7	58,3	12	100	7	58,3
<b>Moyenne</b>	12	6,3	52,7	12	100	6,3	52,7

Légende : Frottis+ PCR= Individus aussi bien positifs au test du frottis qu'en PCR ; N= Nombre

### I.3.2. Prévalence de la babésiose à *B. bigemina*

Sur les 36 bovins testés en PCR, nous avons obtenu une prévalence globale de 100 % contre 0 % avec les frottis sur l'ensemble des trois sites (Tableau VI). Une prévalence de 0 % a été également obtenue pour les individus positifs à la fois aux deux tests (frottis et PCR). La différence de prévalence entre les deux tests (frottis et PCR) est très hautement significative ( $P < 0,0001$ ).

**Tableau VI** : Prévalence de la babésiose bovine à *B. bigemina* par site et par test

Site	N. bovins testés	Frottis		PCR		Frottis + PCR	
		N. bovins infectés	Prévalence (%)	N. bovins infectés	Prévalence (%)	N. bovins infectés	Prévalence (%)
Farnifasso	12	0	0	12	100	0	0
Kimini	12	0	0	12	100	0	0
Ouangolodougou	12	0	0	12	100	0	0
<b>moyenne</b>	12	0	0	12	100	0	0

Légende : Frottis+ PCR= Individus aussi bien positifs au test du frottis qu'en PCR.

### I.3.3. Prévalence de la babésiose à *B. bovis*

Les prévalences moléculaires, parasitologiques et sérologiques diffèrent d'un site à l'autre (tableau VII). En considérant chacun des trois sites, c'est à Farnifasso que nous avons obtenu le seul positif soit une prévalence de 8,3 % en ELISA. A Kimini, la prévalence moléculaire était la plus élevée (100%). Il en est de même dans ce site pour la prévalence parasitologique qui

était la plus élevée (16,6 %) par rapport aux autres sites. A Ouangolodougou, la plus faible prévalence moléculaire (66,6 %) a été enregistrée par rapport aux autres sites.

Globalement sur les 36 bovins testés sur les trois sites (Farnifasso, Kimini, Ouangolodougou), nous avons obtenu une prévalence de 83,3 % en PCR, 5,5 avec les frottis et 2,7 avec le test ELISA. En ce qui concerne les individus à la fois positif aux trois tests nous avons obtenu une prévalence de 0 %. Il en est de même pour les individus à la fois positifs aux frottis et en PCR, ceux positifs à la fois en ELISA et aux frottis ainsi que les positifs en ELISA en PCR. Nous notons une différence très hautement significative ( $P < 0,0001$ ) entre les prévalences selon les trois tests (ELISA, Frottis, et PCR).

**Tableau VII : Prévalence de *B. bovis* par site et par test**

Sites	N. bovins testés	Frottis		ELISA		PCR		Frottis+ PCR+ ELISA	
		N. bovins positifs	Prévalence (%)	N. bovins positifs	Prévalence (%)	N. bovins positifs	Prévalence (%)	N. bovins positifs	Prévalence (%)
Farnifasso	12	0	0	1	8,3	10	83,3	0	0
Kimini	12	2	16,6	0	0	12	100	0	0
Ouangolodougou	12	0	0	0	0	8	66,6	0	0
moyenne	12	0,6	5,5	0,3	2,7	10	83,3	0	0

Légende : Frottis+ PCR + ELISA= Individus aussi bien positifs au test du frottis, en PCR qu'en ELISA.

#### I.4. Densité d'incidence

C'est le nombre de nouveau cas ou nouvelles infections (par un des trois parasites étudiés) par mois pour 100 bovins présents. Elle a été calculée pour chaque site (Tableaux VIII, IX et X) puis globalement pour chaque parasite et par méthode de diagnostic.

Les densités d'incidences moléculaires globales restent élevées par rapport aux densités d'incidence sérologique et parasitologique pour les trois hémoparasites.

### I.4.1. Densité d'incidence d'anaplasmosse bovine causée par *A. marginale*

Les densités d'incidences varient d'un site à l'autre, et aussi d'un test à l'autre (Tableau VIII). Ainsi, la densité d'incidence la plus élevée a été enregistrée en PCR (80 nouvelles infections à *A. marginale* chaque mois sur 100 bovins présents) à Ouangolodougou et la plus faible fut obtenue avec le test du frottis (2 nouvelles infections à *A. marginale* chaque mois sur 100 bovins présents) à Farnifasso.

**Tableau VIII :** Densité d'incidence d'anaplasmosse bovine causée par *A. marginale* (en nombre de nouvelles infections par mois sur 100 bovins présents).

	Tests	Frottis	PCR
Village			
Farnifasso		2	80
Kimini		23	66
Ouangolodougou		7	17

### I.4.2. Densité d'incidence de la babésiose bovine à *B. bigemina*

Les densités d'incidences varient également d'un site à l'autre et aussi d'un test à l'autre (Tableau IX). Nous avons obtenu avec la PCR la densité d'incidence la plus élevée (100 nouveaux animaux infectés chaque mois) à Ouangolodougou contre 58 nouveaux animaux infectés chaque mois à Kimini et 31 nouveaux animaux infectés chaque mois à Farnifasso. Aucune nouvelle infection n'a été décelée avec le test du frottis, et ce quel que soit le site.

**Tableau IX :** Densité d'incidence de *B. bigemina* (en nombre de nouvelles infections par mois sur 100 bovins présents).

	Tests	Frottis	PCR
Village			
Farnifasso		0	31
Kimini		0	58
Ouangolodougou		0	100

### I.4.3. Densité d'incidence de la babésiose bovine à *B. bovis*

La densité d'incidence la plus élevée a été enregistré avec la PCR (tableau X). Il y a eu 31 nouvelles infections à *B. bovis* sur 100 animaux présents à Kimini, alors que la plus faible incidence (9 nouveaux animaux infectés par *B. bovis* chaque mois) a été enregistrée à Ouangolodougou. Avec le test du frottis, c'est seulement à Kimini que nous avons trouvé une densité d'incidence de 2 nouvelles infections à *B. bovis* sur 100 animaux présents. Avec le test ELISA, seulement 1 nouvelle infection à *B. bovis* sur 100 animaux présents a été identifiée à Farnifasso.

**Tableau X:** Densité d'incidence de *B. bovis* par village et par test(en nombre de nouvelle infections par mois sur 100 bovins présents).

Tests	Frottis	ELISA	PCR
Village			
Farnifasso	0	1	13
Kimini	2	0	31
Ouangolodougou	0	0	9

### I.5. Concordance entre les différentes méthodes de diagnostic

En ce qui concerne les concordances entre les différents tests diagnostic par parasite mis en évidence (Tableau XI), nous avons eu l'accord le plus fort entre le frottis et la PCR ( $K=0,8$ ) pour dépister les infections à *B.bovis* et le plus faible accord ( $K= 0,17$ ) pour détecter l'infection due *A. marginale*.

**Tableau XI:** Concordance entre les différents tests par parasite

	<i>A. Marginale</i> Frottis-PCR	<i>B. bigemina</i> Frottis-PCR	<i>B. bovis</i> Frottis-PCR	<i>B. bovis</i> ELISA-Frottis	<i>B. bovis</i> PCR-ELISA
Coefficient de Concordance (K)	0,17	0,29	0,8	0,98	0.79
Interprétation	Accord très faible	Accord faible	Accord fort	Accord presque parfait	Accord fort

## II. DISCUSSION

Les prévalences moléculaires globales observées au cours de notre étude pour *A. marginale* (100 %), *B. bovis* (83,3 %) et *B. bigemina* (100 %) sont restées supérieures aux prévalences parasitologiques globales (52,7 % pour *A. marginale*, 0 % pour *B. bigemina* et 5,5 % pour *B. bovis*) ainsi qu'aux prévalences sérologiques (2,7 % pour seulement *B. bovis*). Les prévalences moléculaires plus élevées que celles parasitologiques, pourraient s'expliquer par le fait que les méthodes de diagnostics parasitologiques sont très peu sensibles surtout lors des phases subcliniques des maladies (Terkawi *et al.*, 2011a). En effet, le test du frottis recherche directement les parasites dans le sang alors que la PCR recherche juste le matériel génétique (ADN) du parasite en l'amplifiant. Ainsi, même lors de très faible parasitémie, la PCR peut détecter la présence du parasite. La PCR est de 1000 fois plus sensible que le test du frottis. Cependant, La prévalence parasitologique globale élevée pour *A. marginale* (52,7 %) s'expliquerait par le fait que les animaux manifestaient l'anaplasmose bovine à une phase clinique au moment du suivi ou à une mauvaise observation des lames qui a pu entraîner des faux positifs. Quant aux prévalences parasitologiques très faibles de *B. bigemina* (0 %) et *B. bovis* (0 % à Farnifasso et Ouangolodougou et 16,6 % à Kimini), cela pourrait s'expliquer par le fait que les deux maladies étaient à une phase subcliniques. Par ailleurs les traitements acaricides dans ces trois villages étaient fréquents ; pourtant certains trypanocides comme l'acéturate de diminazène sont également babésicides. Si les animaux avaient été soumis à ce genre de traitement, quelque temps avant le prélèvement pour le diagnostic moléculaire ou parasitologique, il est possible d'avoir des prévalences parasitologiques très faibles au niveau de ces troupeaux.

Plusieurs études antérieures (Jenevaldo *et al.*, 2013, SOMDA, 2007, Terkawi *et al.*, 2011b) sur la détection de ces même hémoparasites ont montré que le diagnostic sérologique est beaucoup plus sensible que le diagnostic parasitologique et même souvent plus que le test moléculaire. Cependant dans notre étude les prévalences sérologiques pour la détection de *B. bovis* sont les plus basses parmi les méthodes utilisées : à Kimini, une séroprévalence de 0 % a été enregistré contre 16,6 % avec les frottis et 100 % avec la PCR ; à Farnifasso, une séroprévalence de 8,3 % contre 0 % avec les frottis, et 83,3 % avec la PCR ; à Ouangolodougou, une séroprévalence de 0 % de même que pour les frottis contre 66,6 % avec la PCR a été enregistré. Le test ELISA est plus apte à révéler aussi bien des infections passées que celles en cours (Buling *et al.*, 2007a). Par conséquent, sa sensibilité est très élevée. Dans notre cas, les très faibles prévalences sérologiques pourraient aussi être dues soit à des

problèmes liés au système immunitaire des animaux en termes de synthèse des anticorps dans un contexte par exemple de stress alimentaire induisant une immuno suppression. Le test ELISA indirect, se basant sur la détection des anticorps dirigés contre les parasites, ne traduit pas forcément l'existence d'une infection actuelle (Bengaly *et al.*, 2001) et nécessairement les infectés chroniques ou même guéris auraient dû être détectés. En outre, en raison des séroprévalences anormalement plus faibles, et même plus faibles que le test du frottis, il est certain que suite aux contacts avec le parasite le test du frottis a vraisemblablement produits beaucoup de faux positifs. De manière globale lors du suivi longitudinal, c'est au mois d'Octobre (8<sup>ème</sup> mois de l'étude) que le pic d'infestation par les tiques *Rhipicephalus (Boophilus)* a été atteint. Cela pourrait aussi expliquer la faible prévalence sérologique de la babésiose à *B. bovis* dans la région car il faut un minimum de temps avant que le système immunitaire de l'animal commence à réagir en produisant des anticorps suite au contact avec le parasite. Autrement dit, la séroconversion n'avait pas encore eu lieu. Nous retiendrons les prévalences et incidences moléculaires comme étant les vrais positifs : ils reflèteraient la réalité. Des trois sites d'études, c'est à Kimini que la plus forte prévalence moléculaire (100 %) pour *B. bovis* a été enregistrée. Ceci s'expliquerait par le fait que Kimini soit le premier site d'accueil du principal vecteur (*R. microplus*) de la babésiose à *B. bovis*. En plus, l'infestation par *R. microplus* était assez forte à Kimini par rapport aux autres sites. Les prévalences moléculaires pour *B. bigemina* et pour *A. marginale* sont de 100% sur chacun des trois sites. Ces résultats s'expliqueraient par le fait qu'il y ait d'autres espèces de tiques également vectrices de la babésiose à *B. bigemina* et de l'anaplasmose bovine à *A. marginale*. En d'autres termes ces deux maladies (babésiose à *B. bigemina* et l'anaplasmose bovine à *A. marginale*) séviraient même avant l'introduction de *R. microplus*. Emily *et al.* (2012) ont obtenu des prévalences sérologiques de 87,5 % pour *A. marginale* et 59,1% pour *B. bigemina* contre 56,9 % (*A. marginale*) et 1,34 % (*B. bigemina*) avec la PCR. De même, les travaux de Jenevaldo *et al.* (2013) ont révélé comme prévalences sérologiques 41,2 % (*B. bovis*) et 19 % (*B. bigemina*) contre respectivement 15 et 16 % avec la PCR. Des études antérieures menées par Adakal *et al.* (2012) dans la région du Sud-Ouest sur les babésioses précisément sur ces trois sites (Farnifasso, Kimini et Ouangolodougou) ont données les séroprévalences suivantes : 0 % à Kimini, 5 % à Ouangolodougou et 2 % à Farnifasso. Notre étude révèle une prévalence à *B. bovis* de 100 % à Kimini, 66,7 % à Ouangolodougou, et 83,3 % à Farnifasso avec la PCR. Concernant *B. bigemina*, des prévalences de 100 % ont été obtenues sur les trois sites. Une comparaison de nos prévalences obtenues avec ces résultats antérieurs montre clairement une augmentation des prévalences. Ceci pourrait s'expliquer par la présence de *R.*

*microplus* très bonne vectrice des babésioses. En outre, nos résultats assez élevés par rapport à ces résultats antérieurs pourraient aussi s'expliquer par le fait que nous avons utilisé la méthode de diagnostic moléculaire qui est beaucoup plus sensible pour révéler des infections même très récentes ou même des infections à parasitémies très faibles.

Nos résultats au niveau des densités d'incidences montrent une progression très rapide des infections à *B. bigemina* à Ouangolodougou (100 nouvelles infections sur 100 bovins par mois) avec la PCR par rapport aux deux autres sites : à Kimini, nous avons obtenu une densité d'incidence de 58 nouvelles infections par mois sur 100 animaux pour *B. bovis* et 31 nouvelles infections sur 100 bovins par mois à Farnifasso. Cela pourrait être due au fait que le parasite sévissait déjà à Ouangolodougou avant même l'introduction de *R. microplus*. Par ailleurs, toutes les autres espèces de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) (*annulatus*, *decoloratus* et *geigy*) sont vectrices de ce parasite et le taux d'infestation des bovins par les tiques à Ouangolodougou était assez élevé. En ce qui concerne la babésiose à *B. bovis*, la plus forte densité d'incidence a été enregistrée à Kimini avec la PCR (31 nouveaux bovins infectés sur 100 animaux chaque mois) contre 13 nouveaux bovins infectés sur 100 animaux chaque mois à Farnifasso et 9 nouveaux bovins infectés sur 100 animaux chaque mois à Ouangolodougou. De tels résultats s'expliqueraient par le fait que Kimini soit le premier site d'accueil du vecteur *R. microplus* dans la région alors que la tique a un cycle de vie très court (3 à 4 semaines), donc elle se multiplie très rapidement et toutes les tiques *R. microplus* atteintes de la babésiose à *B. bovis* peuvent la transmettre à un bovin ou sinon à plusieurs. Pour *A. marginale*, la densité d'incidence la plus élevée avec la PCR a été enregistrée à Farnifasso avec la PCR (80 nouveaux bovins infectés sur 100 animaux chaque mois) contre 66 nouveaux bovins infectés sur 100 animaux chaque mois à Kimini et 17 nouveaux bovins infectés sur 100 animaux chaque mois à Ouangolodougou. Cette densité d'incidence élevée pour *A. marginale* à Farnifasso s'expliquerait par le fait que la pression d'infestation par les tiques sur ce site soit forte et aussi pourrait être due à une forte présence d'arthropodes piqueurs (taons, stomoxes) pouvant transmettre l'anaplasmose bovine par pique d'un animal infecté à un animal sain.

Au niveau des concordances entre les tests, nous avons obtenu un accord très faible ( $K=0,17$ ) entre le test du frottis et la PCR pour la détection d'*A. marginale*. Ce qui semble normal car le test du frottis est très peu sensible par rapport à la PCR. Dans notre cas, *A. marginale* a globalement une très forte prévalence moléculaire (100 %) dans la région. Il en est de même entre le test du frottis et la PCR pour la détection de *B. bigemina* ( $K= 0,29$  un accord faible)

car la PCR a donné une prévalence de 100 % contre 0 % avec le test du frottis. Pour de la détection de *B. bovis*, nous avons obtenu un accord fort ( $K=0,79$ ) entre la PCR et le test ELISA. Ce qui est normal car ces deux tests ont tous les deux des sensibilités très élevées (OIE, 2008b). D'ailleurs, Jenevaldo *et al.*,(2013) ont aussi trouvé un accord fort ( $K=0,9$ ) entre le test ELISA et la PCR. Ensuite, il y a eu un accord très fort (0,98) entre le test du frottis et le test ELISA : ce qui n'est pas normal en vertu de la sensibilité très élevée de l'ELISA et une sensibilité très faible du frottis.

## CONCLUSION GENERALE ET SUGGESTIONS

Notre étude avait pour objectif d'évaluer l'impact de l'installation de *R. microplus* sur la santé des animaux dans la région du Sud-Ouest du Burkina Faso. Au terme de cette étude, il ressort que le test de diagnostic moléculaire a produit des résultats plus proches de la réalité concernant les babésioses et l'anaplasmose dans la région du Sud-Ouest contrairement au test du frottis et de l'ELISA. Cette étude nous a permis de faire un point sur l'état actuel des babésioses (globalement 100 % pour *B. bigemina* et 83.3 % pour *B. bovis*) et des anaplasmoses (100 %) dans la région à travers les résultats obtenus par les calculs de prévalences. Les résultats de densité d'incidence obtenus nous ont permis de savoir avec quelle vitesse progressent ces hémoparasitoses que sont les babésioses et les anaplasmoses dans la région : pour *A. marginale* 80 nouveaux animaux malades sur 100 animaux chaque mois à Farnifasso, 66 à Kimini et 17 à Ouangolodougou; pour *B. bigemina* 31 nouveaux animaux malades sur 100 animaux chaque mois à Farnifasso, 58 à Kimini et 100 à Ouangolodougou ; Pour *B. bovis* 13 nouveaux bovins infectés sur 100 chaque mois à Farnifasso, 31 à Kimini et 9 à Ouangolodougou. Ces résultats obtenus permettent d'avoir une idée récente mais surtout une situation de référence en raison de la combinaison de trois méthodes diagnostic optimisées dans un protocole de dépistage en série au contraire d'un protocole de dépistage en parallèle. Ainsi, notre protocole du dépistage en série accroît très significativement la confiance ou la crédibilité des individus testés positifs. Autrement dit en termes épidémiologiques, la valeur prédictive positive d'un individu déclaré positif est très élevée.

Etant donné l'impact de ces hémoparasitoses sur le plan économique, il est donc important d'accentuer encore plus la lutte contre les tiques, surtout *R. microplus* et les maladies qu'elles transmettent. Pour cela nous suggérons :

- ✓ Une sensibilisation des éleveurs par rapport aux dangers que court le bétail en contact de *R. microplus*.
- ✓ Un suivi rigoureux des animaux par les vétérinaires.
- ✓ Un contrôle des transhumances transfrontalières et des importations de bétail.
- ✓ D'autres études et à plus large échelle pour surveiller la dynamique de l'infection et de la maladie clinique de chacune des trois espèces : *B. bovis*, *B. bigemina* et *A. marginale*.

## BIBLIOGRAPHIE

- Adakal, H., Biguezoton, A., Zoungrana, S., Courtin, F., De Clercq, E.M. et Madder, M., 2013a. Alarming spread of the Asian cattle tick *Rhipicephalus microplus* in West Africa—another three countries are affected: Burkina Faso, Mali and Togo. *Exp Appl Acarol*, 1-4.
- Ancelle, T., 2011. Statistique épidémiologie. Collection Sciences fondamentales Edition Maloine (3) Paris France 308p.
- Barre, N. et Uilenberg, G., 2010. Propagation de parasites transportés avec leurs hôtes : cas exemplaires de deux espèces de tiques du bétail *Revue scientifique et technique de l'office internationale* 29, 135-147.
- Bengaly, Z., Ganaba, R., Sidibé, I. et Desquesnes, M., 2001. Trypanosomose animale chez les bovins dans la zone Sud-soudanienne du Burkina Faso: Résultats d'une enquête sérologique. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop* 54 221-224.
- Bock, R., Jackson, L., de Vos, A. et Jorgensen, W., 2004. Babesiosis of cattle. *Parasitology* 129, 247–269.
- Buling, A., Criado-Fornelio, A., Asenzo, G., Benitez, D., Barba-Carretero, J.C. et Florin-Christensen, M., 2007a. A quantitative PCR assay for the detection and quantification of *Babesia bovis* and *B. bigemina*. *Vet. Parasitol* 147, 16-25.
- Buling, A., Criado-Fornelio, A., Asenzo, G., Benitez, D. , Barba-Carretero, J.C. et Florin-Christensen, M., 2007b. A quantitative PCR assay for the detection and quantification of *Babesia bovis* and *B. bigemina*. *Vet. Parasitol* 147, 16-25.
- Chartier, C., Itard, J., Morel, P.-C. et Troney, P.-M., 2000. Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. *Paris :TEC & DOC / EMINTER*.
- De Clercq, E.M., Vanwambeke, S.O., Sungirai, M., Adehan, S., Lokossou, R. et Madder, M., 2012. Geographic distribution of the invasive cattle tick *Rhipicephalus microplus*, a country-wide survey in Benin. *Exp Appl Acarol* 58, 441–452.
- Emily, S., Ramesh, V. et Christian, O., 2012. Prevalence and molecular detection of *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle from Puntarenas Province, Costa Rica. *Veterinary Parasitology* 188, 164– 167.
- Estrada-Peña, A., Bouattour, A., Camicas, J.-L., Guglielmone, A., Horak, I., Jongejan, F., Latif, A.A., Pegram, R.G. et Walker, A.R., 2006. The known distribution and ecological preferences of the tick subgenus *Boophilus* (Acari: Ixodidae) in Africa and Latin America. *Exp. Appl. Acarol* 38, 219-235.

- Euzeby, J., 1988. Protozoologie médicale comparée. *Apicomplexa, hémosporidioses, fascicules 1 et 2, Collection Fondation Marcel Mérieux* volume III
- FAO, 1990. Report of the FAO expert consultation on revision of strategies for the control of ticks and tick-borne disease. *Roma Parasitologia* 32, 3-12.
- Farougou, S., KPODEKON, K., ADAKAL, H., SAGBO, P. et BOKO, C., 2007. Abondance saisonnière des tiques (Acari : Ixodidae) parasites des ovins dans la région méridionale du Bénin. *Revue Méd. Vét.* 158, 627-632.
- Francois, J.B., 2008. Les tiques chez les bovins en France. Université Henri Poincaré-Nancy1, 128p.
- Horak, I.G., FOURIE, L.J., HEYNE, H., JANE, B., WALKER et NEEDHAM, G.R., 2002a. Ixodid ticks feeding on humans in South Africa: with notes on preferred hosts, geographic distribution, seasonal occurrence and transmission of pathogens. *Experimental and Applied Acarology* 27, 113–136.
- Horak, I.G., J-L., C. et E., K.J., 2002b. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari:Ixodida): a world list of valid tick names. *Experimental and Applied Acarology* 28, 27-54
- Hornok, S., Foldvari, G., Elek, V., Naranjo, V., Farkas, R. et De la Fuente, J., 2008. Molecular identification of *Anaplasma marginale* and rickettsial endosymbionts in blood-sucking flies (Diptera: Tabanidae, Muscidae) and hard ticks (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology* 154, 354–359.
- Jenevaldo, B.d.S., André, M.R., Henrique da Fonseca, A., Távora de Albuquerque Lopes, C., Henrique da Silva Lima, D., Tavares de Andrade, S.J., Oliveira, C.M.C. et Barbosa, J.D., 2013. Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in water buffaloes in the north region of Brazil. *Veterinary Parasitology* 197, 678–681.
- Jonsson, N., Bock, R. et Jorgensen, W., 2008. Productivity and health effects of anaplasmosis and babesiosis on *Bos indicus* cattle and their crosses, and the effects of differing intensity of tick control in Australia. *Vet Parasitol* 155(1-2), 1-9.
- Lempereur, L., Geysen, D. et Madder, M., 2010. Development and validation of a PCR-RFLP test to identify African *Rhipicephalus* (Boophilus) ticks. *Acta Trop* 114, 55–58.
- Madder, M., 2010. prospects for the management of the invasive tick *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus in West Africa. *International Consortium for Ticks and Tick-borne Diseases (ICTTD)* 20.

- Madder, M., Thys, E., Achi, L., Toure, A. et De Deken, R., 2011. Rhipicephalus ( Boophilus) microplus : a most successful invasive tick species in West-Africa. . *Exp Appl Acarol* 53, 139–145.
- Madder, M., Thys, E., Geysen, D., Baudoux, C. et Horak, I., 2007. Boophilus microplus ticks found in West Africa. *Exp Appl Acarol* 43, 233–234.
- Marchal, C., 2011. Campagne d'éradication de la babésiose bovine en nouvelle Calédonie. Thèse Veterinaire. ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT, France, 119.
- Maslin, J., Beugnet, F., Davoust, B. et Klotz, F., 2004. Babésioses. *EMC - Maladies Infectieuses* 1, 281-292.
- Molloy, J.B., Bowles, P.M. et Bock R.E, e.a., 1998. Evaluation of an ELISA for detection of antibodies to Babesia bovis in cattle in Australia and Zimbabwe. *Preventive Veterinary Medicine* 33, 59-67.
- Morel, P.C., 1981. Maladies à tiques du bétail en Afrique. *Précis de Parasitologie vétérinaire tropicale, Paris, Ministère de la coopération* 471 – 717.
- MRA, 2001. Les statistiques de l'élevage au Burkina Faso, Ministère des ressources animales. *Service statistique animal et de l'économie de l'élevage (SSA-EE)*, 113.
- OIE, 2008a. Anaplasmose bovine Manuel terrestre. 655-666.
- OIE, 2008b. Babésiose bovine Manuel terrestre. 667-680.
- Pamela, J.S., 2012. Perceptions et stratégie paysannes de lutte contre la tique Rhipicephalus (Boophilus) microplus dans la région de l'ouest du Burkina Faso. 70p.
- RCPA, 2010. Rôle et place de l'élevage dans l'espace ouest africain. 2, 1-2.
- SOMDA, M.B., 2007. Réponses anticorps à la trypanosomose bovine dans une population de métis (zébu Peul X taurin Baoulé) au Burkina Faso 46p.
- Squarizoni, C., 2001. Lutte Biologique contre les stomoxes des bovins à la réunion : l'exemple du poseidon vétérinaire. *Thèse doctorale vétérinaire, Université Paul Sabatier de Toulouse*, 143p.
- Stachurski, F., BARRE, N. et CAMUS, E., 1988. Incidence d'une infestation naturelle par la tique Amblyomma variegatum sur la croissance des bovins et des caprins créoles. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop* 41, 395-405.
- Terkawi, M.A., Huyen, N.X., Shinuo, C., Inpankaew, T., Maklon, K., Aboulaila, M., Ueno, A., Goo, Y.K., Yokoyama, N., Jittapalapong, S., Xuan, X. et Igarashi, I., 2011a. Molecular and serological prevalence of Babesia bovis and Babesia bigemina in water buffaloes in the northeast region of Thailand. *Vet. Parasitol* 178, 201–220.

- Madder, M., Thys, E., Achi, L., Toure, A. et De Deken, R., 2011. Rhipicephalus ( Boophilus) microplus : a most successful invasive tick species in West-Africa. . *Exp Appl Acarol* 53, 139–145.
- Madder, M., Thys, E., Geysen, D., Baudoux, C. et Horak, I., 2007. Boophilus microplus ticks found in West Africa. *Exp Appl Acarol* 43, 233–234.
- Marchal, C., 2011. Campagne d'éradication de la babésiose bovine en nouvelle Calédonie. Thèse Veterinaire. ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT, France, 119.
- Maslin, J., Beugnet, F., Davoust, B. et Klotz, F., 2004. Babésioses. *EMC - Maladies Infectieuses* 1, 281-292.
- Molloy, J.B., Bowles, P.M. et Bock R.E, e.a., 1998. Evaluation of an ELISA for detection of antibodies to Babesia bovis in cattle in Australia and Zimbabwe. *Preventive Veterinary Medicine* 33, 59-67.
- Morel, P.C., 1981. Maladies à tiques du bétail en Afrique. *Précis de Parasitologie vétérinaire tropicale, Paris, Ministère de la coopération* 471 – 717.
- MRA, 2001. Les statistiques de l'élevage au Burkina Faso, Ministère des ressources animales. *Service statistique animal et de l'économie de l'élevage (SSA-EE)*, 113.
- OIE, 2008a. Anaplasmose bovine Manuel terrestre. 655-666.
- OIE, 2008b. Babésiose bovine Manuel terrestre. 667-680.
- Pamela, J.S., 2012. Perceptions et stratégie paysannes de lutte contre la tique Rhipicephalus (Boophilus) microplus dans la région de l'ouest du Burkina Faso. 70p.
- Pfeiffer, D. U 2002. An introduction book. Veterinary epidemiology. University of London. 61p
- RCPA, 2010. Rôle et place de l'élevage dans l'espace ouest africain. 2, 1-2.
- SOMDA, M.B., 2007. Réponses anticorps à la trypanosomose bovine dans une population de métis (zébu Peul X taurin Baoulé) au Burkina Faso 46p.
- Squarzoni, C., 2001. Lutte Biologique contre les stomoxes des bovins à la réunion : l'exemple du poseidon vétérinaire. *Thèse doctorale vétérinaire, Université Paul Sabatier de Toulouse*, 143p.
- Stachurski, F., BARRE, N. et CAMUS, E., 1988. Incidence d'une infestation naturelle par la tique Amblyomma variegatum sur la croissance des bovins et des caprins créoles. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop* 41, 395-405.
- Terkawi, M.A., Huyen, N.X., Shinuo, C., Inpankaew, T., Maklon, K., Aboulaila, M., Ueno, A., Goo, Y.K., Yokoyama, N., Jittapalpong, S., Xuan, X. et Igarashi, I., 2011a. Molecular and serological prevalence of Babesia bovis and Babesia bigemina

# ANNEXE PHOTOGRAPHIQUE

Source des photos : Clichés BADOLO Honorine/ 2014



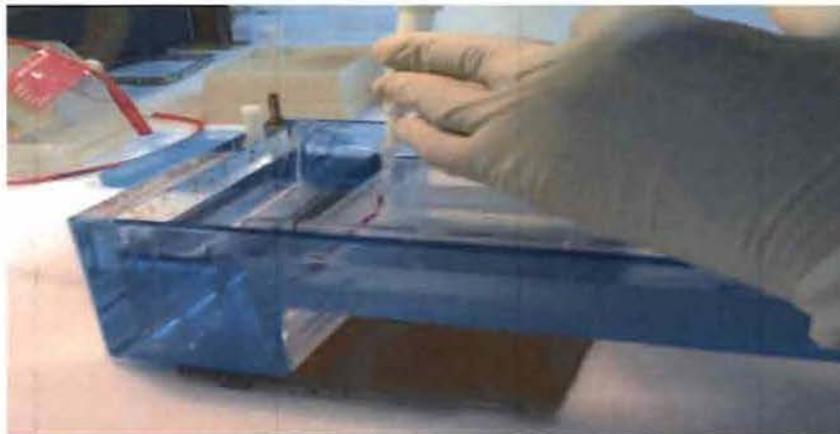
**Photo 1** : extraction d'ADN



**Photo 2** : préparation du mix PCR



**Photo 3** : Equipement RT-PCR



**Photo 4** : dépôt des produits PCR pour migration sur gel d'agarose dans une cuve à électrophorèse