

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



**UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI CONSTANTINE  
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES**

**THESE PRESENTEE EN VUE  
DE L'OBTENTION DU DOCTORAT EN SCIENCES**

**Option : Parasitologie**

**Contribution au diagnostic de la  
theilériose chez les bovins dans l'Est  
algérien**

Présentée par

**Ayadi Ouarda**

Soutenue le : 08/12/2016

**Membres du jury :**

<b>MEKROUD Abdeslam</b>	<b>Président</b>	<b>Professeur</b>	<b>Univ. des frères Mentouri Const</b>
<b>BENAKHLA Ahmed</b>	<b>Examineur</b>	<b>Professeur</b>	<b>Univ. Al Tarf</b>
<b>GHALMI Farida</b>	<b>Examineur</b>	<b>M . C. A</b>	<b>Univ. Alger</b>
<b>TITI Amel</b>	<b>Examineur</b>	<b>M . C. A</b>	<b>Univ. des frères Mentouri Const</b>
<b>BENCHIKH ELFGOUN Mohamed Cherif</b>	<b>Dir. de thèse</b>	<b>Professeur</b>	<b>Univ. des frères Mentouri Const</b>
<b>GHARBI Mohamed</b>	<b>Co promoteur</b>	<b>Professeur</b>	<b>Univ. Manouba, E.N.M.V. Tunisie</b>

## Remerciement

*La réalisation de ce travail est aboutit grâce à la grande vaillance du dieu tout puissant qui ma donné la volonté et la patience, et à qui je dois les gracieux remerciements.*

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à mon directeur de thèse Pr Benchikh Elfagoun Mohamed Cherif pour m'avoir encadré et diriger ce travail, pour ses précieux conseils et pour ces contributions.

A mon copromoteur Pr Gharbi Mohamed, qui est une personne attentive et disponible malgré ses nombreuses charges. Sa compétence, sa rigueur scientifique et sa clairvoyance m'ont beaucoup appris. Ils ont été et resteront des moteurs pour mon travail pour l'avenir. Et pour m'avoir accueilli dans le laboratoire de recherche de parasitologie de Sidi Thabet, Tunis, et de m'avoir permis de travailler dans d'aussi bonnes conditions.

J'exprime tous mes remerciements à l'ensemble des membres de jury :

Pr Mekroud Abdesalam

Dr Titi Amel

Dr Ghalmi Farida

Pr Benakhla Ahmed

J'adresse toute ma gratitude à Mr Brarhi El Hassen le directeur de notre Institut, qui m'a beaucoup aidé, et encouragé.

Je remercie toutes les personnes formidables que j'ai rencontrées par le biais du laboratoire de parasitologie de Sidi Thabet, à toutes les personnes et à tous mes ami(e)s qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail, ou m'encourager pour le terminer, à Mohamed Rejeibi, Ami Sassi Limam, Anis

Boussaadoun, Maroua betaieb, Safa Amairia, Myriam Rouatbi, Sebai Assia, El Ati Khawla...

Je remercie tout mes collègues et ami(e) de l'ISVK. A Beroual Katiba, Imen Ramli, et Samira Benharoune....

Une pensée et sincères remerciements au Pr El Hadeef El Okki notre père, qui n'a pas vu l'aboutissement de mon travail, mais qui les mots de son encouragement resteront toujours gravés dans mon cœur, que dieu vous bénisse.

Merci pour votre support et vos encouragements.

## Dédicace

Je dédie ce travail à :

- Ma maman qui m'a donné l'amour, la volonté et les encouragements pour avancer dans mes études. Et qui m'a aidé et soutenu durant toutes les années de mon travail, leur confiance, leur tendresse, leur amour me guident tous les jours. Merci pour avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui
- Mon papa pour ses conseils précieux et encouragements.
- Mon beau père et ma belle mère, pour Hassina, Mounira, Samahe, Amine, et Zinebe.
- Mon maris Abd El Ali, qui m'a vraiment aidé durant mes études, et qui a été patient avec moi.

À mes enfants Seif Eddine, Nargesse, Nada, et Nermine.

- Mes frères et sœurs : Janet, son maris et ses enfants, Houda, son maris et ses enfants, Mohamed, Ayoub, leurs femmes et enfants, à Houssame.
- Touts mes amies et collègues.

À toute ma famille à qui j'adresse toute mon affection.

# SOMMAIRE

PAGE

## *Partie bibliographique*

### INTRODUCTION

#### *Chapitre I*

### GENERALITES SUR LA THEILERIOSE TROPICALE

<b>1. HISTORIQUE</b>	3
<b>2. DEFINITION ET SYNONYMIE DE LA THEILERIOSE TROPICALE</b>	4
<b>3. IMPORTANCE</b>	4
<b>4. ETUDE DU PARASITE <i>Theileria annulata</i></b>	5
4.1. Systématique et morphologie	5
4.1.1. Systématique	6
4.1.2. Morphologie de <i>Theileria annulata</i>	6
4.1.2.1. Formes schizogoniques	6
4.1.2.2. Formes intra-érythrocytaires ou mérozoïtes	7
4.2. Cycle biologique de <i>Theileria annulata</i>	7
4.2.1. Cycle évolutif de <i>Theileria annulata</i>	8
4.2.1.1. Chez la tique <i>Hyalomma scupense</i>	8
4.2.2.2. Chez le bovin	9
<b>5. ASPECTS CLINQUES</b>	10
5.1. Forme suraiguë	11
5.2. Forme aiguë	11
5.3. Forme atténuée	12

#### *Chapitre II*

### DIAGNOSTIC DE LA THEILERIOSE TROPICALE

<b>1. DIAGNOSTIC EPIDEMIOLOGIQUE</b>	13
<b>2. DIGNOSTIC CLINIQUE</b>	13
2.1. Forme suraiguë	13
2.2. Forme aiguë	14
2.3. Forme atténuée	14
<b>3. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL</b>	15
<b>4. DIAGNOSTIC NECROPSIQUE</b>	15
<b>5. DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE</b>	17
5.1. Etalements colorés au Giemsa	17
5.1.1. Etalements de sang	18
5.1.2. Etalements du suc des nœuds lymphatiques	18
5.2. Immunofluorescence indirecte (IFI)	18
5.3. Réaction de polymérisation en chaîne	19

5.4. Reverse Line Blot (RBL)	20
5.5. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	21

### *Chapitre III*

## **EPIDEMIOLOGIE DE LA THEILERIOSE TROPICALE**

<b>1. REPERTITION GEOGRAPHIQUE</b>	23
1.1. Distribution mondiale	23
1.2. Distribution en Algérie	24
<b>2. EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE</b>	25
<b>3. EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE</b>	26
3.1. Sources du parasite	26
3.3. Réceptivité	26
3.3.1. Espèce	26
3.3.2. Race	27
3.3.3. Age	27
3.4. Facteurs favorisants	28
3.4.1. Mode d'élevage	28
3.4.2. Etat de l'étable	28
3.4.3. Conditions climatiques	29
3.4.4. L'état de l'animal	29
<b>4. EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE</b>	29
4.1. Enzootie stable	30
4.2. Enzootie instable	30
4.2.1. Enzootie instable modérée	30
4.2.2. Enzootie instable élevée	30
4.3. Etat indemne	31
<b>5. EPIDEMIOLOGIE PROSPECTIVE</b>	31

### *Chapitre IV*

## **PATHOGENIE ET IMMUNITE**

<b>1. PATHOGENIE</b>	32
<b>2. LA CELLULE HOTE MONONUCLÉÉE</b>	33
<b>3. LES REPONSES IMMUNITAIRES INNEES ET ADAPTATIVES</b>	34
3.1. Réponses immunitaire innées	35
3.2. Réponses immunitaire adaptatives	35
<b>4. IMMUNITE ET VACCIN</b>	36

### *Chapitre V*

## **MODIFICATION HEMATOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES DUES A L'INFECTION PAR *THEILERIA ANNULATA***

<b>1. MODIFICATIONS HEMATOLOGIQUES</b>	38
1.1. Leucocytes	38
1.2. Hématies	39
1.3. Hémoglobine	40
1.4. Hématocrite	40
1.5. Volume globulaire moyen, Concentration corpusculaire moyenne en hemoglobin, Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine	40
<b>2. MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES</b>	41
2.1. Glycémie	41
2.2. Albuminémie	42
2.3. Protéines totales	42
2.4. Bilirubine totale et directe	43

### *Chapitre VI*

## **LUTE CONTRE LA THEILERIOSE TROPICALE BOVINE**

<b>1. TRAITEMENT</b>	44
1.1. Traitement Spécifique (theiléricide)	44
1.2. Traitement symptomatique	45
1.2.1. Médication hépatique	45
1.2.2. Médication tonocardiaques	45
1.2.3. Médication rénale	45
1.2.4. Médication antianémique	46
<b>2. PROPHILAXIE</b>	46
2.1. Mise en norme des étables	46
2.2. Utilisation d'acaricides	47
2.3. Vaccination contre <i>Theileria annulata</i>	47
2.3.1. La vaccination avec des parasites atténués	47
2.3.2. La vaccination par infection-traitement	49

### *Partie expérimentale*

#### *Première partie expérimentale:*

#### **Evaluation de la prévalence de la theilériose tropicale pendant la saison estivale dans la région d'El Eulma (w. De Sétif)**

<b>1. INTRODUCTION</b>	50
<b>2. MATERIELS ET METHODES</b>	50
2.1. Région d'étude	50
2.2. Animaux	51
2.3. Identification des piroplasmes	51
<b>3. ANALYSE STATISTIQUE</b>	52
<b>RESULTATS</b>	53

<b>1. EVALUATION DE LA PREVALENCE DE L'INFECTION PAR LES PIROPLASMOSES SENSU LATO</b>	53
<b>2. RESULTATS PARASITOLOGIQUES</b>	53
<b>3. EVALUATION DU TAUX DE PARASITEMIE SELON L'ESPECE DE PIROPLASMES</b>	55
<b>DISCUSSION</b>	57

*Deuxième partie expérimentale:*

**Étude de la prévalence, séquençage et paramètres influençant la prévalence de la theilériose tropicale bovine chez les porteurs asymptomatiques dans la région de Sétif (Nord de l'Algérie)**

<b>1. INTRODUCTION</b>	59
<b>2. OBJECTIF DU TRAVAIL</b>	60
<b>3. PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE</b>	60
<b>4. MATERIELS ET METHODES</b>	61
4.1. Prélèvements et choix des animaux	61
4.2. Techniques du laboratoire	62
4.2.1. Examen microscopique	62
4.2.1.1. Protocole	62
4.2.2. Technique moléculaire	63
4.2.2.1. Extraction de l'ADN	63
4.2.2.2. Réaction de polymérisation en chaîne	64
Technique	66
4.2.2.3. Analyse par électrophorèse	66
Principe	66
Protocole	67
4.2.2. Séquençage de l'ADN et analyses phylogénétiques	68
4.2.2.1. Purification des produits de la PCR	68
Principe	68
Protocole	68
4.2.2.2. Séquençage automatique	70
Principe	70
Préparation des produits de la PCR	71
Réaction de séquençage	72
Précipitation de l'ADN	73
4.2.2.3. Analyse bioinformatique	74
<b>5. ANALYSE STATISTIQUE</b>	74
<b>RESULTATS</b>	75
<b>1. EVALUATION ET COMPARAISON DE LA PREVALENCE DE L'INFECTION PAR THEILERIA ANNULATA PAR PCR ET PAR MICROSCOPIE CHEZ LES PORTEURS ASYMPTOMATIQUES</b>	75
<b>2. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE DE L'INFECTION PAR THEILERIA ANNULATA PAR MICROSCOPIE ET PAR PCR</b>	76
2.1. Etude épidémiologique de l'infection en fonction de l'âge	76
2.2. Etude épidémiologique de l'infection en fonction du sexe	78

2.3. Etude épidémiologique de l'infection en fonction de la race	79
2.4. Etude épidémiologique de l'infection en fonction du type d'élevage	81
2.5. Etude épidémiologique de l'infection en fonction de l'état des murs	82
<b>4. ETUDE GENETIQUE DES ISOLATS ALGERIENS DE <i>T. ANNULATA</i></b>	<b>85</b>
<b>DISCUSSION</b>	<b>87</b>

*Troisième partie expérimentale:*

**Etude des modifications hématologiques et biochimiques dues à la theilériose tropicale en Algérie**

<b>1. INTRODUCTION</b>	91
<b>2. OBJECTIF DU TRAVAIL</b>	91
<b>3. PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE</b>	91
<b>4. MATERIEL ET METHODES</b>	91
4.1. Choix des animaux	91
4.2. Technique de prélèvement	92
4.3. Analyses des échantillons	92
4.3.1. Dosage des paramètres biochimiques	92
4.3.1.1. Principe de la spectrophotométrie	92
4.3.1.2. Principe du dosage des protides totaux	92
4.3.1.4. Principe du dosage de l'albumine	93
4.3.1.4. Principe du dosage du Glucose	93
4.3.1.5. Principe du dosage de La bilirubine totale et directe	93
4.3.2. Dosage des paramètres hématologiques	94
4.3.3. Lecture des étalements de sang	94
<b>5. ANALYSE STATISTIQUE</b>	94
<b>RESULTATS</b>	
<b>1. PROFILES HEMATOLOGIQUE CHEZ LES BOVINS ATTEINTS DE THEILERIOSE TROPICALE</b>	95
1.1. L'influence de la theilériose sur les leucocytes	95
1.2. L'influence de la theilériose sur le taux d'hématies	97
1. 3. Influence de la theilériose sur le taux de l'hémoglobine	98
1. 4. Influence de la theilériose sur le taux l'hématocrite	100
1. 5. Influence de la theilériose sur la VGM, le CCMH, et le TCMH	101
<b>2. PROFILES BIOCHIMIQUES CHEZ LES BOVINS ATTEINTS DE LA THEILERIOSE TROPICALE</b>	104
2. 1. Influence de la theilériose sur la Glycémie	104
2. 2. Influence de la theilériose sur Albuminémie	106
2. 3. Influence de la theilériose sur le taux des Protides totaux	107
2. 4. Influence de la theilériose sur la Bilirubine totale et directe	109
<b>DISCUSSION</b>	<b>111</b>

*Quatrième partie expérimentale*

**Impact de la theilériose tropicale bovine sur la production laitière**

<b>1. INTRODUCTION</b>	114
<b>2. REGION D'ETUDE</b>	114
<b>3. MATERIEL ET METHODES</b>	116
3.1. Choix des animaux et prélèvements	116
<b>RESULTATS</b>	117
<b>DISCUSSION</b>	120
<b>CONCLUSION GENERALE</b>	122
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
<b>ANNEXES</b>	

<b>LISTE DES TABLEAUX</b>		<b>PAGE</b>
<b>Tableau I</b>	Classification des lésions de la theilériose tropicale en fonction de leur fréquence	16
<b>Tableau II</b>	Les intervalles des valeurs de références hématologiques et biochimiques chez les bovins	43
<b>Tableau III</b>	Prévalence d'infection par les piroplasmoses sensu lato au niveau de la région d'El Eulma	53
<b>Tableau IV</b>	Prévalence des piroplasmoses durant la saison estivale	54
<b>Tableau V</b>	Taux de parasitémie en fonction de l'espèce de piroplasmose	56
<b>Tableau VI</b>	Tableau représentatif de la couleur du fluorochrome de chaque di-désoxyribonucléotide	71
<b>Tableau VII</b>	Tableau représentatif de la quantité de matrice nécessaire pour le séquençage en fonction de la taille des échantillons analysés	72
<b>Tableau VIII</b>	Tableau récapitulatif de la réaction de séquençage	73
<b>Tableau IX</b>	Comparaison de la prévalence entre l'étalement de sang et la PCR avant et après la saison de theilériose	76
<b>Tableau X</b>	Prévalence de l'infection par <i>Theileria annulata</i> chez les bovins en fonction de l'âge avant et après la saison de theilériose	77
<b>Tableau XI</b>	Prévalence de l'infection par <i>Theileria annulata</i> chez les bovins en fonction du sexe avant et après la saison de theilériose	78
<b>Tableau XII</b>	Prévalence de l'infection par <i>Theileria annulata</i> chez les bovins en fonction de la race avant et après la saison de theilériose	80
<b>Tableau XIII</b>	Prévalence de l'infection par <i>Theileria annulata</i> chez les bovins en fonction du type d'élevage avant et après la saison de theilériose.	81
<b>Tableau XIV</b>	Prévalence de l'infection par <i>Theileria annulata</i> chez les bovins en fonction de l'état des murs avant et après la saison de theilériose	83
<b>Tableau XV</b>	Variation du nombre des leucocytes entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	96
<b>Tableau XVI</b>	Variation du nombre d'hématies entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	97
<b>Tableau XVII</b>	Variation du taux d'hémoglobine entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	99

<b>Tableau XVIII</b>	Variation du taux d'hématocrite entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	100
<b>Tableau XIX</b>	Variation de la VGM, CCMH, et TCMH entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	102
<b>Tableau XX</b>	Type d'anémie en fonction du VGM et du CCMH d'après Weiss et al., (2010)	104
<b>Tableau XXI</b>	Variation de la glycémie entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	105
<b>Tableau XXII</b>	Variation de l'albumine entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	106
<b>Tableau XXIII</b>	Variation des protéides totaux entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	108
<b>Tableau XXIV</b>	Variation de la bilirubine totale et directe entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins non malades	109
<b>Tableau XXV</b>	La production laitière durant les deux mois qui suivent l'apparition des symptômes de la theilériose tropicale	117

<b>LISTE DES FIGURES</b>		<b>PAG E</b>
<b>Figure 1</b>	Position taxonomique de <i>Theileria annulata</i>	6
<b>Figure 2</b>	Formes piroplasmes de <i>Theileria annulata</i>	7
<b>Figure 3</b>	Formes schizogoniques de <i>Theileria annulata</i>	7
<b>Figure 4</b>	Cycle évolutif d' <i>Hyalomma scupense</i>	9
<b>Figure 5</b>	Cycle évolutif de <i>Theileria annulata</i>	10
<b>Figure 6</b>	Hypertrophie du nœud lymphatique pré-crural chez un veau de race frisonne pie noire atteint de theilériose tropicale	15
<b>Figure 7</b>	Muqueuse vulvaire présentant des pétéchies chez une vache de race frisonne pie noire atteinte de theilériose tropicale	17
<b>Figure 8</b>	Ulcères de la caillette chez un bovin infecté expérimentalement par <i>Theileria. annulata</i>	17
<b>Figure 9</b>	Distribution mondiale de la theilériose tropicale à <i>Theileria annulata</i>	24
<b>Figure 10</b>	Répartition géographique des <i>Hyalomma scupense</i> en Afrique	25
<b>Figure 11</b>	Localisation géographique de la wilaya de Sétif, Algérie	51
<b>Figure 12</b>	Fréquence d'infections par les différentes espèces de piroplasmes	54
<b>Figure 13</b>	Distribution saisonnière des cas de theilériose tropicale	55
<b>Figure 14</b>	Localisation géographique de la région d'El Eulma, Algérie	61
<b>Figure 15</b>	Diagramme climatique de la région d'El Eulma	61
<b>Figure 16</b>	Technique d'étalement de sang.	63
<b>Figure 17</b>	Différents cycles de la Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR)	65
<b>Figure 18</b>	Photographie du gel d'agarose (1,5%) montrant les amplifiats des échantillons positifs à <i>Theileria annulata</i> .	67
<b>Figure 19</b>	Programme de la réaction de séquençage	73
<b>Figure 20</b>	Prévalence de l'infection par <i>Theileria annulata</i> chez les bovins en fonction de âge avant et après la saison de theilériose	77
<b>Figure 21</b>	Prévalence de l'infection par <i>Theileria annulata</i> chez les bovins en fonction du sexe avant et après la saison de theilériose	79

<b>Figure 22</b>	Prévalence de l'infection par <i>Theileria annulata</i> chez les bovins en fonction de la race avant et après la saison de theilériose	80
<b>Figure 23</b>	Prévalence de l'infection par <i>Theileria annulata</i> chez les bovins en fonction du type d'élevage avant et après la saison de theilériose	82
<b>Figure 24</b>	Prévalence de l'infection par <i>Theileria annulata</i> chez les bovins en fonction de la présence ou absence des fissures sur les mûrs avant et après la saison de theilériose	84
<b>Figure 25</b>	Prévalence de l'infection par <i>Theileria annulata</i> chez les bovins en fonction de du blanchissement ou non des mûrs avant et après la saison de theilériose	84
<b>Figure 26</b>	Prévalence de l'infection par <i>Theileria annulata</i> chez les bovins en fonction du crépis ou non des murs avant et après la saison de theilériose	85
<b>Figure 27</b>	Séquence partielle Tams 1 gène arbre phylogénétique de <i>Theileria annulata</i> identifié chez les bovins dans la présente enquête et ceux qui sont déposés dans GenBank	86
<b>Figure 28</b>	Variation du nombre des leucocytes (moyenne, valeur minimale, et valeur maximale) entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	96
<b>Figure 29</b>	Variation du nombre d'hématies entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	98
<b>Figure 30</b>	Variation du taux d'hémoglobine entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	99
<b>Figure 31</b>	Variation du taux d'hématocrite entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	101
<b>Figure 32</b>	Variation de la VGM entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	102
<b>Figure 33</b>	Variation de la CCMH entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	103
<b>Figure 34</b>	Variation de la TCMH entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	103
<b>Figure 35</b>	Variation de la glycémie entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	105
<b>Figure 36</b>	Variation de l'albumine entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	107
<b>Figure 37</b>	Variation des protides totaux entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins témoins	108

<b>Figure 38</b>	Variation de bilirubine totale entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins non malades	110
<b>Figure 39</b>	Variation de bilirubine directe entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins non malades	110
<b>Figure 40</b>	Localisation géographique de la région de Skikda, Algérie	115
<b>Figure 41</b>	Température et précipitations annuelles dans la région de Skikda	115
<b>Figure 42</b>	Production laitière moyenne chez les vaches atteintes de <i>Theileria annulata</i>	118
<b>Figure 43</b>	Variation relative de la production laitière chez les vaches atteintes de theilériose tropicale bovine	118

## LISTE DES ABREVIATIONS

**ADN** : Acide désoxyribonucléique  
**APC** : antigen presenter cells  
**APP** : amyloid precursor protein  
**ARNr** : acide ribonucléique ribosomique  
**ARNm** : acide ribonucléique messenger  
**B.** : *Babesia*  
**BET** : Bromure d'éthidium  
**Bo rIFN- $\gamma$**  : Interféron gamma recombinant de bovin  
**CCMH** : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine  
**CD** : Cluster de différenciation  
**CMH** : Complexe majeur d'histocompatibilité  
**Con- A** : Concanavaline A  
**DA** : Dinar Algérien  
**DC** : Dendritic cells  
**ddNTP** : Di-Désoxyribonucléotides Triphosphate  
**dNTP** : Désoxyribonucléotides Triphosphate  
**DT** : Dinar Tunisien  
**EDTA** : Ethylène-diamine- tétraacétique  
**ELISA** : Enzyme Linked Immunosorbent Assay  
**ELISAc** : Enzyme Linked Immunosorbent Assay compétitive  
**GPX** : Glutathion peroxydase  
**HbA** : Hémoglobine A  
**HbB** : Hémoglobine B  
**HbE** : Hémoglobine embryonnaire  
**HbFs** : Hémoglobine Fœtale  
**H.** : *Hyalomma*  
**Ht** : Hématocrite  
**IFI** : Immunofluorescence indirecte  
**IFN-  $\gamma$**  : Interféron  $\gamma$   
**IL** : Interleukine  
**LCRT-PCR** : Light Cycler real-time polymerase chain reaction  
**MgCl<sub>2</sub>** : Chlorure de magnésium  
**NK** : Natural killer  
**NO** : Nitrogen monoxyde  
**NG** : Numérotation globulaire  
**OIE** : Organisation mondiale de la santé animale (Office International des Épizooties)  
**PCR** : Polymerase chain reaction  
**PCR Cytob1** : polymerase chain reaction cytochrome b  
**RBC** : Red blood cell  
**RBL** : Reverse Blot Line  
**RWL** : Saponine vaccine adjuvant  
**SAP** : Shrimp Alkaline Phosphatase  
**SOD** : Superoxyde dismutase  
**SPM** : Système des phagocytes mononucléés  
**T.** : *Theileria*  
**Tams** : *Theileria annulata* merozoite  
**Taps** : *Theileria annulata* protein surface  
**Taps-ELISA** : *Theileria annulata* protein surface Enzyme Linked Immunosorbent Assay

**Taq** : *Thermus aquaticus*

**TASP** : *Theileria annulata* surface protein

**TBE** : Tris, Borate, EDTA

**TCMH** : Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

**Th1** : T-helper

**TNF-  $\alpha$**  : Tumoral necrosis factor  $\alpha$

**UV** : Ultraviolet

**VGM** : volume globulaire moyen

**VLA** : very late antigen-4

## INTRODUCTION

La theilériose tropicale est une maladie lymphoproliférative qui s'accompagne d'une anémie progressive. Elle est due à *Theileria annulata*, un protozoaire parasite des bovinés. Le parasite est transmis aux bovins par plusieurs espèces de tiques du genre *Hyalomma* (Robinson, 1982 ; Viseras *et al.*, 1999 ; Sayin *et al.*, 2003 ; Salih *et al.*, 2005 ; El Hussein *et al.*, 2012).

Cette maladie est rapportée au sud de l'Europe, en Afrique du Nord, au Moyen Orient, en Inde et s'étale jusqu'en Chine (Uilenberg, 1981 ; d'Oliveira *et al.*, 1995).

Elle constitue une contrainte au développement de l'élevage bovin et menace plus de 250 millions de bovins dans les régions enzootiques (Robinson, 1982).

Les bovins autochtones sont plus résistants à la theilériose et développent des formes subcliniques, cependant les animaux de races exotiques sont très sensibles. Les taux de mortalité chez ces animaux sont élevés, allant de 40 à 90% (Robinson, 1982 ; Hashemifesharaki, 1991 ; Katzer *et al.*, 1998 ; Gamal et El- Hussein, 2003).

Malgré les énormes efforts fournis par l'état pour l'amélioration de l'élevage bovins en Algérie soit pour augmenter la production laitière ou celle de la viande (les différentes aides aux éleveurs, les importations des bovins, et l'importation d'équipements), toutes ces tentatives d'amélioration sont restées dans une phrase stationnaire, coupées d'initiatives. Devant de nombreux essais d'importation de vaches à haut rendement laitier, coûteuses, ces animaux prennent la direction vers les abattoirs, ces vaches qui n'ont pas l'immunité nécessaire pour faire face à certaines maladies tel que la theilériose tropicale, augmente leurs risque d'infection, et ainsi leurs mortalités, ce qui ajoute un frais supplémentaire.

La connaissance de cette parasitose est importante en Algérie car la theilériose tropicale est enzootique dans ce pays, et vus l'importance économique de cette maladie (taux de morbidité et de mortalité élevé, entraînant des pertes économiques considérables dans les élevages bovins soit en lait ou en viande, le cout du traitement...), il est nécessaire de mettre un programme complet de lutte incluant la lutte contre les vecteurs de cette parasitose.

En Algérie de nombreuses études épidémiologiques et parasitologiques ont été consacrées aux piroplasmoses bovines dont la theilériose tropicale par Sergent *et al.*, (1945),

ils étaient la première équipe à développer un vaccin vivant atténué contre la theilériose en utilisant la souche "Kouba" (du nom de la localité de Kouba où la souche a été isolée) de *Theileria annulata*. Ce vaccin a été utilisé pour immuniser des milliers d'animaux au Maroc, en Algérie et en Tunisie.

Depuis cette période, peu d'études ont été réalisées en Algérie et ce, malgré l'impact économique élevé de ces infections et l'incidence élevée des cas cliniques.

En Algérie, le manque de données récentes relatives à l'épidémiologie de ces infections nous a incité à réaliser des travaux relatifs à l'épidémiologie locale de la theilériose tropicale, ainsi de faire une estimation du cout due aux pertes de lait. En effet, la mise en œuvre d'un programme de contrôle efficace requiert une connaissance approfondie de l'épidémiologie locale de cette infection.

Le présent travail est divisé en deux parties : une partie bibliographique, dans laquelle il a été question de rappeler les caractéristiques parasitologiques, cliniques, biochimiques et épidémiologiques de cette parasitose et une partie expérimentale.

Les objectifs de la partie expérimentale sont :

1. D'estimer la prévalence des piroplasmoses bovines notamment la theilériose tropicale pendant la saison estivale correspondant à la période d'apparition de la maladie.

2. Évaluer la prévalence de l'infection par *T. annulata* chez les animaux porteurs asymptomatiques avant et après la saison des tiques en comparant deux méthodes de diagnostic : la PCR et l'étalement de sang coloré au Giemsa. Notre travail s'intéresse notamment aux facteurs de risque de cette infection (âge, sexe, race des bovins, type d'élevage et état des murs).

3. Etudier l'impact des infections sur les paramètres biochimiques (glycémie, albuminémie, protéines totales, bilirubine totale et directe) et hématologiques (leucocytes, hématies, hémoglobines, hématocrite, VGM, CCMH, et TCMH).

4. Estimer l'impact de la theilériose bovine sur la production laitière.

---

## Chapitre I

### GENERALITE SUR LA THEILERIOSE TROPICALE

#### 1. HISTORIQUE

Au début de leur découverte, l'agent étiologique de la theilériose tropicale était appelé *Piroplasma* ou *Gonderia*. La révision taxonomique leur attribua rapidement le nom de *Theileria* en l'honneur de Sir Arnold Theiler un vétérinaire suisse établi en Afrique du Sud (Mortelmans et Kageruka, 1986).

Robert Koch a observé les parasites agents de la Fièvre de la Côte Orientale pour la première fois en 1897 à Dar es Salaam (Tansanie). En 1898, il a décrit pour la première fois le parasite appartenant au genre *Theileria* en Afrique du Sud. Koch identifia définitivement les parasites en 1902 (Mortelmans et Kageruka, 1986).

En 1904, Lounsbury, était le premier à confirmer la transmission de *T. parva* par des tiques vectrices.

Une année plus tard, en 1905, Ducloux isole et décrit un piroplasma bacilliforme pour la première fois en Tunisie.

Bettencourt en 1907 érige le genre *Theileria* caractérisé par le passage par des schizogonies leucocytaires et y intègre *T. annulata* et *T. parva*.

De 1915 à 1945, l'équipe de l'Institut Pasteur d'Alger dirigée par Edmond Sergent a étudié de nombreux aspects épidémiologiques, pathologiques et immunologiques de la theilériose à *T. annulata*, démontrant en particulier sa transmission par *Hyalomma scupense* (Schulze, 1919) (syn. *H. detritum*), et démontrés la présence d'un stade sexué dans le cycle de *T. annulata*. Ils remarquèrent également que si les animaux ne mouraient pas après l'accès aigu, ces infections leurs confèrent une prémunition qui résulte d'un parasitisme toléré. Se basant sur ces faits, ces chercheurs mirent au point un premier vaccin atténué par passage sur des veaux contre cette parasitose (Sergent *et al.*, 1945). Entre 1933 et 1939, 20000 bovins en Afrique du Nord furent "prémunis" avec une réduction spectaculaire des cas de mortalité (Sergent *et al.*, 1927).

## 2. DEFINITION ET SYNONYMIE DE LA THEILERIOSE TROPICALE

La theilériose tropicale est une maladie infectieuse, inoculable, non contagieuse due à la présence et à la multiplication dans les leucocytes mononuclées puis dans les érythrocytes des bovinés (bœuf, buffle, zébu et bison) d'un protozoaire spécifique : *Theileria annulata*, transmis par les tiques du genre *Hyalomma* (Brown, 1997 ; Preston, 2001).

Elle se manifeste cliniquement par un syndrome fébrile accompagné par un syndrome hémolytique (anémie, ictère,...), des symptômes liés aux troubles des organes du système réticulo-endothélial (adénomégalie,...), auxquels s'ajoutent parfois des symptômes atypiques (troubles digestifs, pulmonaires et nerveux), et anatomiquement par des lésions de dégénérescence, d'inflammation, et d'hémorragies sur différents organes et notamment ceux du système des phagocytes mononuclées (SPM).

Plusieurs appellations ont été utilisées pour désigner la theilériose tropicale : la fièvre méditerranéenne, la theilériose méditerranéenne, la theilériose bovine d'Afrique du Nord, la theilériose bovine maligne, gonderiose tropicale et la piroplasmose tropicale. Cependant, en Anglais, elle est appelée tropical theileriosis (Neitz, 1957). Le nom officiel de cette maladie est : theilériose tropicale bovine.

En Algérie arabe vernaculaire, cette maladie est connue sous le nom de Souffair ou Boussoufair, appellations en rapport avec la présence de l'ictère et de l'hyperthermie.

## 3. IMPORTANCE

La theilériose tropicale est à l'origine de pertes économiques considérables (mortalités, chutes de la production laitière, perte de poids et retards de croissance). Elle constitue une entrave au développement et à l'amélioration des races bovines dans les pays enzootiques.

Cette parasitose menace environ 250 millions de bovins dans les pays méditerranéens et subtropicaux en Europe, en Afrique et en Asie (Uilenberg, 1981). Pendant la saison chaude, lorsque souffle le sirocco, le taux de mortalité chez les bovins sélectionnés notamment de races laitières (Frisonne pie noire, Holstein, Montbéliarde...) peut être très élevé. En effet, les bovins exotiques (*Bos taurus*) sont particulièrement sensibles avec des taux de mortalité de 40 à 80 % dans certaines régions, où les bovins indigènes (*Bos indicus*) souffrent généralement

moins (environ 10 % de mortalité) (Hashemi-Fesharaki, 1991 ; Katzer *et al.*, 1998 ; Gamal et El- Hussein, 2003). L'absence d'immunité protectrice chez les bovins importés les expose à des cas cliniques graves (Hashemi-Fesharki, 1988). Par ailleurs, le taux de morbidité (amaigrissement très marqué, baisse voire tarissement lacté) est très élevé.

Pendant la phase aiguë, la theilériose tropicale est également à l'origine d'avortements (Gharbi, 2006). En Tunisie l'impact sur la production laitière a été étudié par M'barek, (1994) sur des vaches laitières atteintes de theilériose tropicale durant les 30 jours qui suivent. La perte moyenne en lait a été évaluée à 300 L/vache. L'impact économique est du également aux pertes occasionnées par la saisie des carcasses ictériques.

De plus, l'impact économique est également lié aux dépenses effectuées dans le cadre du traitement et de la prophylaxie. A titre d'exemple, le traitement de la theilériose tropicale bovine fait appel à une molécule spécifique, la buparvacone dont le coût est élevé. Ainsi, le traitement d'un cas de theilériose chez un bovin adulte en Tunisie a été estimé à environ 100 DT/animal (soit 5423 DA ; 62 €) (Darghouth, 2004). Dans une étude réalisée par Gharbi *et al.*, (2006) visant à estimer les coûts de la theilériose tropicale dans une région enzootique du nord de la Tunisie, les coûts totaux étaient de 15,115.058 DT (soit 1,011,667.09 DA ; 9,388.20 \$). La moitié de ces coûts (50,81%) est représentée par les infections asymptomatiques, qui ont causé les pertes les plus élevées en poids vif, tandis que les cas cliniques (prévalence 42,86%) étaient responsables de 23,64% des pertes.

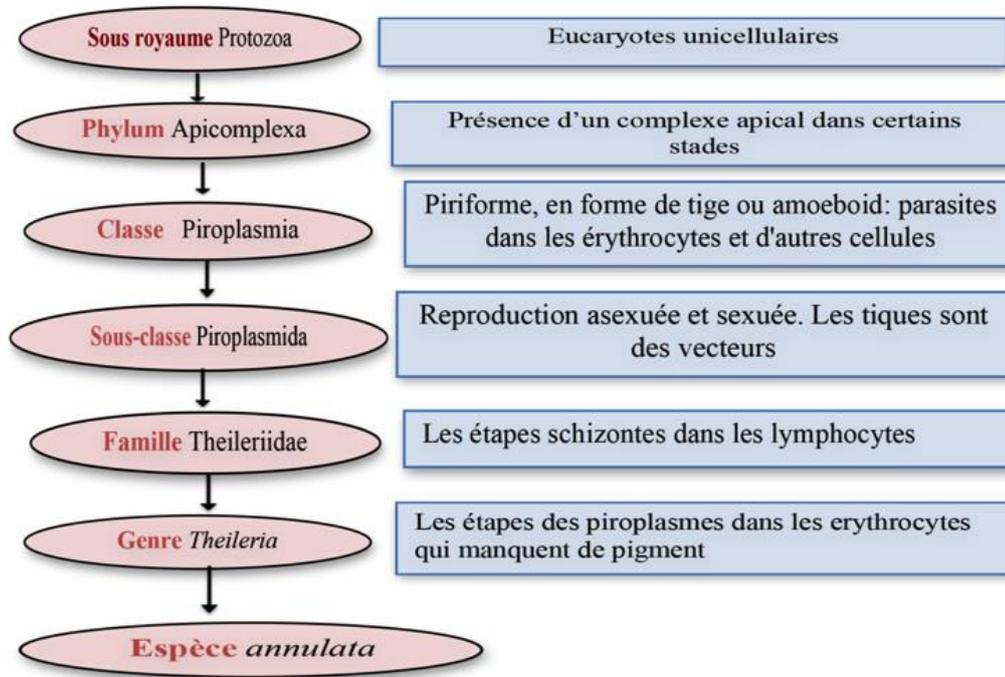
Au Maroc, les pertes dues à la theilériose ont été estimées entre 3400 et 7390 DA par animal correspondant à 26,57 à 57,57 euros, sans tenir compte du coût résultant de l'utilisation des acaricides (Bouslikhane, 1998). En Algérie, le coût d'un traitement complet associant un médicament spécifique et un traitement symptomatique, a été estimé à 5000 DA soit 46.40\$. En Ouzbékistan, l'impact économique de la theilériose tropicale, est élevé atteignant des taux de létalité de 50-80% (Rasulov *et al.*, 2008).

## **4. ETUDE DU PARASITE *THEILERIA ANNULATA***

### **4.1. Systématique et morphologie**

### 4.1.1. Systématique

L'agent étiologique de la theilériose tropicale admet la position taxonomique suivante (Norval *et al.*, 1992) :



**Figure 1** : Position taxonomique de *Theileria annulata* proposé par (Levine *et al.*, 1980)

Au sein du genre *Theileria* il existe plusieurs espèces, dont les plus importantes et plus pathogènes sont *T. annulata* et *T. parva*, agents responsables respectivement de la theilériose tropicale bovine et theilériose de la Côte orientale alors que d'autres espèces, telles que *T. mutans*, *T. taurotragi* et *T. orientalis*, provoquent souvent des infections asymptomatiques chez les bovidés (Uilenberg *et al.*, 1977 ; Uilenberg, 1981 ; Jongejan *et al.*, 1986).

### 4.1.2. Morphologie de *Theileria annulata*

Selon sa localisation chez le bovin infecté, le parasite se présente sous deux formes:

#### 4.1.2.1. Formes schizogoniques

Corps bleus ou corps en grenade se présentant sous forme de 2 aspects (Figure 2) : Des frottis de la pulpe du nœud lymphatique ou de la pulpe splénique obtenus par ponction,

fixés et colorés au Giemsa, font apparaître les corps en grenade ou schizontes en microscopie optique, ils ont l'aspect de corps composés de plusieurs ponctuations.

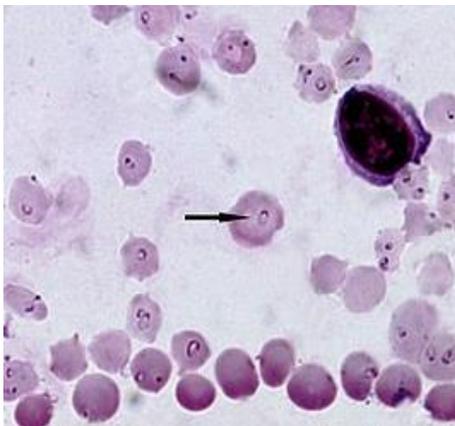
Il existe deux types de schizontes ont été décrits en fonction des caractères de ces ponctuations :

. *Macroschizonte* : (15 à 30 x 8 à 10  $\mu\text{m}$ ) renfermant 10 à 20 grains chromatiques anguleux mesurant chacun 0,4 à 1,5  $\mu\text{m}$ .

. *Microschizonte* (identique aux macroschizonte) : il renferme plusieurs centaines de noyaux de chromatine rouge très intense, arrondis de petites tailles mesurant 0,3 à 0,8  $\mu\text{m}$ , qui sont associés à une petite partie du cytoplasme. Ces éléments arrondis correspondent aux mérozoïtes.

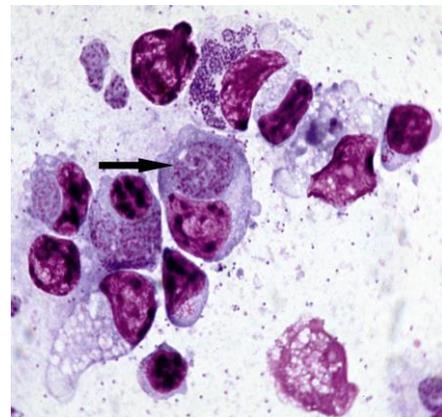
#### 4.1.2.2. Formes intra-érythrocytaires ou mérozoïtes

Elles se trouvent dans les hématies ou elles prennent plusieurs formes (ovoïde, annulaire, bâtonnet et virgule) (Sergent *et al.*, 1945).



**Figure 2:** Formes piroplasmiques de *Theileria. annulata*

(<https://fr.wikipedia.org/wiki/Theileria>)



**Figure 3:** Formes schizogoniques de *Theileria. annulata*

(<https://fr.wikipedia.org/wiki/Theileria>)

## 4.2. Cycle biologique de *Theileria annulata*

Le cycle biologique de *T. annulata* est identique à toutes les espèces de *Theileria* (Boulter et Hall, 2000), il est de type dihéteroxyzène s'accomplissant en deux phases, la

première chez l'hôte invertébré, la tique vectrice, et la deuxième phase chez l'hôte vertébré, le bovin (Sergent *et al.*, 1945 ; Boulter et Hall, 2000).

#### 4.2.1. Cycle évolutif de *Theileria annulata*

##### 4.2.1.1. Cycle biologique chez la tique *Hyalomma scupense* (Figure 4)

Plusieurs espèces de tiques du genre *Hyalomma* infestent les bovins en Afrique du Nord (Bouattour *et al.*, 1996 ; Benchikh El Fegoun *et al.*, 2013) dont *H. scupense* est particulièrement importante en raison de son rôle dans la transmission de *T. annulata* (Gharbi et Darghouth, 2014 ; Ben Said, 2012).

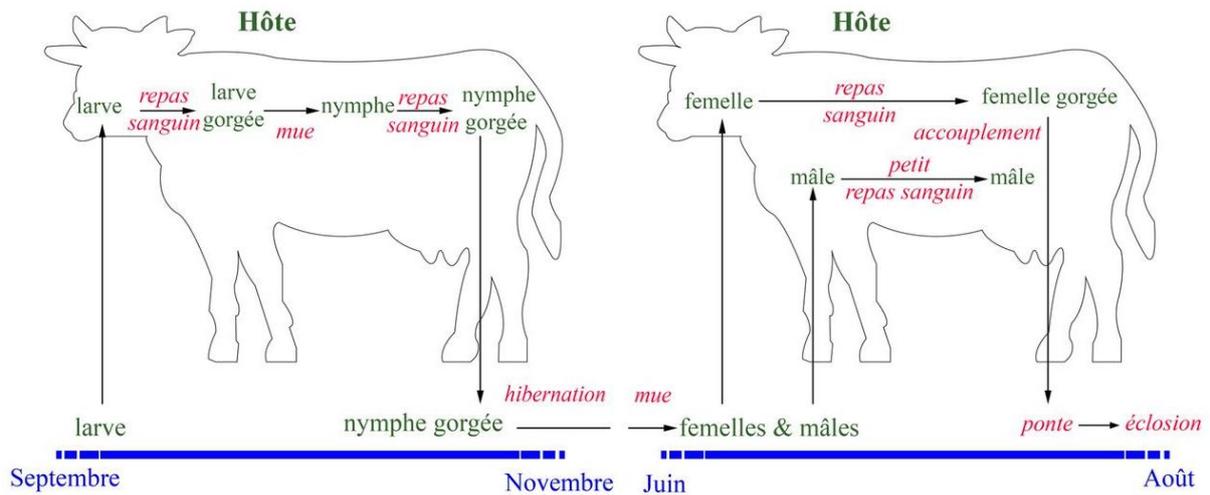
*H. scupense* est largement distribuée en Afrique du Nord, au Soudan, en Turquie, au Moyen Orient, en Asie centrale ; elle a également été rapportée en Europe du Sud (Apanaskevich *et al.*, 2010).

Cette espèce de tique est monotrope, et est devenue endophile dans de nombreuses régions. Les bovins sont les hôtes les plus communs pour les adultes et les stades immatures, ces derniers utilisent également les ongulés de taille moyenne et grande comme hôtes. Ils ont été recueillies principalement à partir d'espèces domestiques, à savoir les bovins, chameaux, chevaux, ânes, buffles, ovins, caprins et porcs (Morel, 1969 ; Dmitry, 2010 ; Grech-Angelini *et al.*, 2016). Le cycle biologique d' *H. scupense* nécessite deux phases d'engorgement sur deux bovins pendant la saison sèche en raison de son caractère xérophile (Morel, 1995 ; Walker *et al.*, 2003).

Les nymphes s'infectent par les piroplasmés de *T. annulata* à l'occasion d'un repas sanguin sur un bovin porteur de formes érythrocytaires du parasite, elles hibernent durant la période froide dans les fentes des murs dans les locaux d'élevage les plus chauds et les plus exposés au soleil où elles muent en adultes et apparaissent l'été suivant (Gharbi, 2006).

La tique vectrice, *H. scupense*, s'infecte au stade larvaire ou nymphal en ingérant les gamètes au cours du repas sanguin sur un bovin infecté. Après différenciation des gamètes, la fécondation a lieu dans le tube digestif, aboutissant à la formation du zygote. Les zygotes envahissent les cellules intestinales où ils s'enkystent durant toute la période d'hibernation de la nymphe d'*H. scupense*. Le parasite devient par la suite un kinète mobile qui envahit les cellules germinales de plusieurs tissus en particulier des acini salivaires. Après la mue, chez la

tique adulte fixée sur un nouveau bovin, les sporoblastes se développent et libèrent des milliers de sporozoïtes dans le flux salivaire à 3 jours de la fixation de la tique sur le nouveau bovin (Robinson, 1982 ; Ben Miled, 1994 ; Samish et Pipano, 1981).

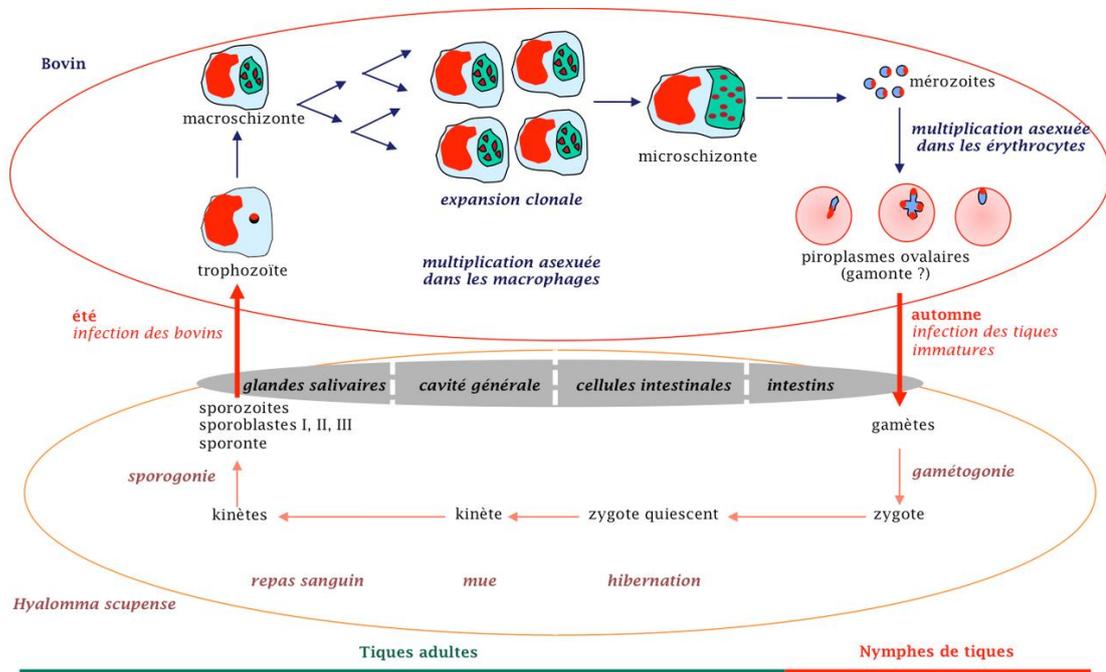


**Figure 4:** Cycle évolutif d'*Hyalomma Scupense* (Gharbi *et al.*, 2014)

#### 4.2.1.2. Chez le bovin (Figure 5)

L'évolution de *T. annulata* s'effectue en deux étapes qui sont invasives pour les cellules de l'hôte, les sporozoïtes sont injectés avec la salive de la tique adulte à l'occasion du repas sanguin, envahissent activement les leucocytes mononucléaires (macrophages, monocytes et secondairement des lymphocytes B) (Jura *et al.*, 1983 ; Spoonner *et al.*, 1989 ; Glascodine, 1990) où ils évoluent en trophozoïtes. En effet, les trophozoïtes se développent en macroschizontes multinucléés en entraînant une division synchrone des leucocytes grâce à un effet leucomitogène. Les cellules infectées deviennent immortalisées comme les cellules lymphoblastoïdes, peuvent être cultivées *in vitro* indéfiniment, et présentent des analogies avec les cellules tumorales (Hulliger, 1965 ; Glascodine, 1990 ; Preston *et al.*, 1999). Après un certain nombre de multiplications, une proportion des macroschizontes se transforme en microschizontes. La différenciation des macroschizontes en mérozoïtes se produit au sein des cellules transformées, par mérogonie (Mehlhorn et Schein, 1984 ; Glascodine, 1990), et constitue des sources de mérozoïtes avec la destruction de la cellule hôte. Les mérozoïtes

extracellulaires libres envahissent alors les érythrocytes, où ils se différencient pour donner les piroplasmes intra-érythrocytaires (Conrad *et al.*, 1985 ; Glascodine, 1990).



**Figure 5:** Cycle évolutif de *Theileria annulata* (Gharbi et Darghouth, 2015)

## 5. ASPECTS CLINIQUES

L'infection ou l'inoculation des sporozoïtes de *T. annulata* a lieu à partir du troisième jour qui suit la fixation de la tique *H. scupense*, cette durée est importante à considérer lors de l'application des mesures prophylactiques pour lutter contre le vecteur.

Dans les conditions expérimentales, la durée d'incubation varie entre 1 et 3 semaines, avec une moyenne de 14 jours, après la piqûre de tiques, et de 2 à 4 semaines, avec une moyenne de 17 jours, après inoculation de sang infecté (Sergent *et al.*, 1945). La durée et la gravité de la maladie sont influencées par trois facteurs importants : la dose infectante inoculée (nombre de sporozoïtes inoculés), la virulence de la souche, et l'état immunitaire de l'animal.

La theilériose tropicale évolue selon trois formes cliniques :

## 5.1. Formes suraiguës

L'animal présente les signes cliniques suivants :

- L'hyperthermie qui peut atteindre 42°C.
- L'hypertrophie des nœuds lymphatiques surtout ceux drainant le lieu de fixation de la tique, parfois elle est généralisée.
- L'ictère franc d'apparition d'emblée.
- Des troubles nerveux.

Quatre à cinq jours après le début de l'hyperthermie la maladie évolue vers la mort de l'animal (Gharbi, 2006 ; Chartier *et al.*, 2000).

## 5.2. Forme aiguë

La maladie se manifeste généralement sous une forme aiguë, avec une altération importante de l'état général, une hyperthermie supérieure à 40°C (atteignant parfois 42°C), qui se maintient en plateau pendant 15 jours en moyenne jusqu'à la guérison ou la mort de l'animal (Chartier *et al.*, 2000). L'animal est abattu, il est triste, la tête basse, les paupières tuméfiées et mi-closes, les yeux larmoyants, sont souvent dans un état de stupeur. La muqueuse conjonctivale, congestionnée au début, devient pâle ; des pétéchies rondes, de 1 à 5 mm de diamètre, apparaissent ; plus rarement, on peut observer un ictère sur les muqueuses conjonctivale et vulvaire.

L'examen des animaux malades révèle un amaigrissement rapide, de l'anorexie, de l'atonie du rumen, de la polypnée (40 à 80 mouvements/mn), de la tachycardie (80 à 140 battements/mn).

Un syndrome hémolytique : l'anémie d'origine hémolytique est constante, elle est la conséquence des mécanismes auto-immuns, de l'action mécanique des parasites, et des dommages oxydatifs dans les érythrocytes (Asri Rezaei et Dalir-Naghadeh, 2006). L'ictère peut-être franc ou sub-ictère, d'apparition tardive corrélatif d'une parasitémie importante, d'une hémolyse, et d'une hémoglobinurie, son apparition est un signe de mauvais pronostic.

Les vaches en lactation présentent une forte chute de la sécrétion lactée voire un tarissement. Certaines femelles avortent ou mettent-bas prématurément.

Les animaux présentent également une hypertrophie des nœuds lymphatiques superficiels externes (préscapulaires et précuraux en particulier) atteignant jusqu'à 3 - 4 fois leur taille normale. Les nœuds lymphatiques chauds et douloureux présentent un œdème périphérique caractéristique (Sergent *et al.*, 1945 ; Osman et Al-Gaabary, 2007 ; Mahmmoud *et al.*, 2011).

Des troubles nerveux peuvent aussi apparaître et compliquer le tableau clinique (accès de fureur, raideur de la nuque et tournis, contractures latérales de l'encolure) traduisant l'atteinte du système cérébrospinal. D'autres signes cliniques tels que l'œdème de l'auge, une gangrène cutanée sèche, des ulcérations ont été également observés. Ces lésions sont sans doute dues à des embolies parasitaires (Sergent *et al.*, 1945 ; Osman et Al-Gaabary, 2007).

Les signes digestifs : constipation ou une diarrhée avec melæna, indigestion du feuillet.

Les troubles respiratoires sont ceux d'une broncho-pneumonie, une détresse respiratoire sous la forme d'une dyspnée, une toux et des preuves d'un œdème pulmonaire (Osman et Al-Gaabary, 2007).

Des pétéchies sur les muqueuses, des suffusions ou des ecchymoses sont observées, il s'agit de signes indicateurs d'un mauvais pronostic.

La gangrène sèche de la peau sur la ligne du dos d'apparition rare, représente un signe de très mauvais pronostic.

### **5.3. Forme atténuée**

Les signes sont moins graves, la guérison survient après une période plus ou moins longue. Cette forme atténuée peut se transformer en forme chronique souvent mortelle avec une anémie intense et de la cachexie. Elle est observée surtout chez la population autochtone (Gharbi *et al.*, 2012).

La theilériose peut survenir sans signes cliniques spécifiques, tels une légère altération de l'état général, de la fièvre et de l'hypertrophie modérée des nœuds lymphatiques, parfois une anémie discrète. Habituellement, l'infection passe inaperçue, mais elle a des répercussions sur la productivité des animaux surtout les vaches laitières (Gharbi, 2006).

---

## Chapitre II

### DIAGNOSTIC DE LA THEILERIOSE TROPICALE

Le diagnostic de la theilériose tropicale bovine est basé sur les données épidémiologiques, cliniques, et différentielles car cette maladie présente plusieurs similitudes avec d'autres maladies dont la babésiose et les anaplasmoses. Le recours au laboratoire confirme l'infection surtout chez les porteurs asymptomatiques.

#### 1. DIAGNOSTIC EPIDEMIOLOGIQUE

Le diagnostic épidémiologique est basé sur les facteurs de risques de l'infection par *T. annulata*, il est facile dans les régions d'enzootie avec des antécédents de cas cliniques, dans des élevages mal entretenus présentant des murs crevassés, fissurés où la présence de tiques oriente le diagnostic vers la theilériose tropicale. La maladie évolue durant la saison d'activité des tiques mais des cas sporadiques peuvent survenir à n'importe quelle période de l'année suite à une immunodépression (El Fourgi et Sornicle, 1967).

#### 2. DIGNOSTIC CLINIQUE

Les sporozoïtes sont inoculés à partir du 3<sup>ème</sup> jour de fixation de *Hyalomma* sur son hôte. L'incubation de la maladie varie entre 1 et 3 semaines, cette durée varie en fonction de plusieurs facteurs : taille de l'inoculation, virulence de la souche et l'immunité de l'hôte en fonction (Chartier *et al.*, 2000 ; Rouina, 1984).

Le tableau clinique de la theilériose évolue sous 3 formes :

##### 2.1. Formes suraiguës

Elle est d'emblée dramatique, l'animal présente une hyperthermie qui peut atteindre 42°C, l'hypertrophie des nœuds lymphatiques surtout ceux drainant le lieu de fixation de la tique, parfois elle est généralisée, l'ictère franc d'apparition d'emblée, et des troubles nerveux

(Rouina, 1984). Quatre à cinq jours après le début de l'hyperthermie la maladie évolue vers la mort de l'animal (Chartier *et al.*, 2000).

## 2.2. Formes aiguës

C'est la forme la plus typique, l'animal présente une adénite qui touche les nœuds lymphatiques drainant le lieu de fixation de la tique (notamment les retro-mammaires), elle est le plus souvent généralisée (Osman et Al-Gaabary, 2007 ; Mahmmoud *et al.*, 2011), l'hyperthermie peut atteindre 40 à 42°C, l'animal présente un abattement, une hyporexie voire de l'anorexie (Rouina, 1984), l'anémie d'origine hémolytique est constante (Gharbi, 2006). L'animal présente de l'ictère qui peut être franc ou un sub-ictère d'apparition tardive (Chartier *et al.*, 2000). Les avortements apparaissent précocement, la chute plus ou moins brutale de la lactation voire l'agalaxie, représente en pratique le principal signe d'appel (M'Barek, 1994 ; Chartier *et al.*, 2000). Non traitée, cette forme évolue vers l'aggravation et la mort survient en 1 à 2 semaines (Chartier *et al.*, 2000).

## 2.3. Formes atténuées

Les signes sont moins graves, la guérison survient après une période plus ou moins longue. Ces formes atténuées peuvent se transformer en formes chroniques souvent mortelles avec une anémie intense et de la cachexie. Elles sont observées surtout chez la population autochtone (Gharbi *et al.*, 2012).

La theilériose peut survenir sans signes cliniques spécifiques, avec une légère altération de l'état général, de la fièvre et de l'hypertrophie des nœuds lymphatiques modérées, et parfois une anémie discrète. Habituellement, l'infection passe inaperçue, mais elle a des répercussions sur la productivité des animaux surtout les femelles laitières (Gharbi *et al.*, 2012).



**Figure 6** : Hypertrophie du nœud lymphatique pré-crural chez un veau de race frisonne pie noire atteint de theilériose tropicale (Gharbi *et al.*, 2012)

### 3. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

La theilériose tropicale présente une homologie avec plusieurs entités pathologiques estivales tels que les babésioses et l'anaplasmose surtout si le tableau clinique n'est pas pathognomonique. La Babésiose bovine s'exprime cliniquement par une prédominance de l'hémoglobinurie traduite par des urines rouges foncées, d'où la dénomination de « maladie du pisement de sang » et des signes digestifs de type diarrhées profuses. L'ictère est inconstant, s'il apparaît, il est tardif et reste peu intense (Maslin *et al.*, 2004).

L'anaplasmose est caractérisée par une anémie, la jaunisse, de la fièvre, la déshydratation, la perte de poids, et l'avortement (Silvestre *et al.*, 2016).

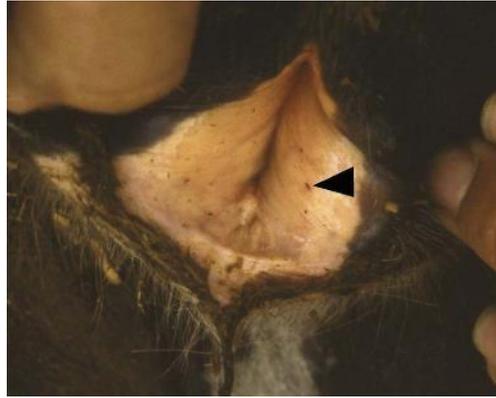
En phase de début, toutes les maladies donnant un cortège fébrile tels que les péritonites par corps étrangers, ainsi qu'une hypogalactie (ou une agalactie) sont à différencier de la theilériose. L'hypertrophie des nœuds lymphatiques médiastinaux pouvant entraîner en cas de theilériose la turgescence de la veine jugulaire à différencier avec les péricardites par corps étrangers (Keles *et al.*, 2003).

### 4. DIAGNOSTIC NECROPSIQUE

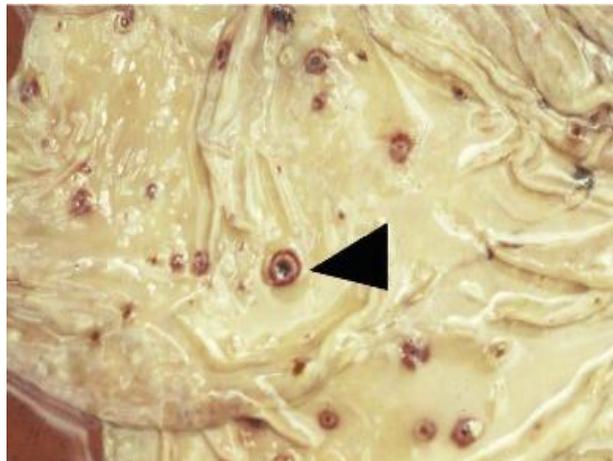
Le tableau nécropsique de la theilériose tropicale a permis à Rejeb *et al.*, (2004) de distinguer quatre groupes de lésions dont l'intensité varie en fonction du stade évolutif : Des lésions constantes, des lésions très fréquentes, des lésions fréquentes et des lésions peu fréquentes à occasionnelles (Tableau I).

**Tableau I** : Classification des lésions de la theilériose tropicale en fonction de leur fréquence (d'après Rejeb *et al.*, 2004)

<b>Lésions constantes</b>	Adénite hypertrophique exsudative Splénomégalie avec hyperplasie de la pulpe rouge et blanche Abomasite congestivo-hémorragique ulcéreuse aiguë Entérite congestivo-hémorragique Hépatomégalie Purpura hémorragique sur la muqueuse de la vessie Purpura hémorragique sur le coeur
<b>Lésions très fréquentes</b>	Anémie Subictère Purpura hémorragique sur les muqueuses oculaires Œdème aigu des poumons Hépatite interstitielle aiguë Néphrite interstitielle aiguë Purpura hémorragique sur les reins Ruminite congestivo-hémorragique Péritonite congestive
<b>Lésions fréquentes</b>	Purpura hémorragique sur la muqueuse trachéale Purpura hémorragique sur les testicules Purpura hémorragique sur les muscles
<b>Lésions occasionnelles</b>	Ulcère aigu au niveau de l'intestin Hépatite nécrosante hémorragique Ictère franc Bronchopneumonie au stade de l'engouement Bronchopneumonie au stade de l'hépatisation rouge Bronchopneumonie au stade de l'hépatisation grise Péricardite congestive



**Figure 7:** Muqueuse vulvaire présentant des pétéchies chez une vache de race frisonne pie noire atteinte de theilériose tropicale (Gharbi *et al.*, 2012)



**Figure 8:** Ulcères de la caillette chez un bovin infecté expérimentalement par *Theileria. annulata* (Gharbi *et al.*, 2012)

## 5. DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE

### 5.1. Etalements colorés au Giemsa

Le diagnostic de laboratoire de la theilériose tropicale chez les bovins est généralement basé sur la détection de schizontes dans les leucocytes infectées sur des frottis de biopsie à partir des nœuds lymphatiques colorés au Giemsa ou des piroplasmes sur des étalements de sang périphérique.

### 5.1.1. Etalements de sang

Il est couramment utilisé, et facile à réaliser pour confirmer une suspicion de theilériose, par la mise en évidence des formes érythrocytaires de *T. annulata* dans le sang, en moyenne, dès le 9<sup>ième</sup> jour de l'infection, généralement suffisante pour la détection d'infections aiguës, mais pas pour la détection des animaux porteurs, où la parasitémie est faible (Altay *et al.*, 2008), en effectuant l'étalement d'une petite goutte de sang veineux prélevé sur un tube contenant un anticoagulant, l'EDTA, qui est meilleur que l'héparine car il permet une conservation des éléments sanguins (Miladi, 2005).

*Theileria annulata* se présente sous différentes formes (annulaire, en virgule, en tétrade...), comme des inclusions intra-érythrocytaires, les tétrades sont rarement observées chez *T. annulata* mais plus fréquentes chez *T. equi*, ils résultent de deux mitoses successives qui donnent quatre cellules filles (Gharbi *et al.*, 2012).

Les étalements sont examinés au microscope optique à l'objectif 100 en utilisant l'huile à immersion, dont le cytoplasme du parasite apparaît coloré en rouge violacé clair et le noyau qui occupe une position marginale est coloré en rouge violacé foncé. Il faut différencier *T. annulata* de plusieurs autres éléments intra-érythrocytaires pouvant être observés sur l'étalement.

### 5.1.2. Etalements du suc des nœuds lymphatiques

Il permet un dépistage précoce et spécifique et confère une très grande valeur informative par la mise en évidence des schizontes qui est un signe pathognomonique d'une theilériose évolutive, il est réalisé sur un frottis à partir d'une biopsie de nœud lymphatique ou du foie durant le pic d'hyperthermie, mais sa réalisation est difficile sur terrain car les étalements doivent être réalisés et fixés immédiatement après la ponction, et les nœuds lymphatiques les plus hypertrophiés et les plus riches en schizontes sont peu ou prou accessibles (nœud lymphatique retro-mammaire) (Gharbi *et al.*, 2012).

## 5.2. Immunofluorescence indirecte (IFI)

L'IFI est une technique de diagnostic indirect qui permet la mise en évidence des anticorps anti-*Theileria annulata*, elle est effectuée avec des antigènes de mérozoïtes ou de

schizontes (Daghouth *et al.*, 1996) obtenus à partir de lignées cellulaires de macrophage (OIE, 2008). En utilisant les antigènes schizontes et les formes érythrocytaires piroplasmes Darghouth *et al.*, (2004), ont comparé l'IFI à l'examen microscopique des frottis sanguins colorés au Giemsa, les taux de dilution du sérum de 1/160 et 1/40 ont été retenus comme les dilutions seuil par les antigènes schizontes et piroplasmes de cette étude. Globalement les résultats ont révélé plus de bovins exposés à l'infection par *T. annulata* que l'examen de frottis sanguin. L'IFI piroplasma et les frottis sanguins étaient moins fiables que l'IFI schizonte.

L'IFI est une technique facile à réaliser, la mise en évidence des schizontes fluorescents à l'objectif 40 ou 100 est aisée, nécessitant un microscope à fluorescence et des antigènes fixés sur des lames.

### 5.3. Réaction de polymérisation en chaîne

La PCR a été utilisé pour diagnostiquer *T. parva* (Bishop *et al.*, 1992) et *T. annulata* chez les bovins, l'agent causal de la theilériose tropicale dans des échantillons de sang obtenus à partir de bovins porteurs ou de biopsie (d'Oliveira *et al.*, 1995). L'essai utilise des amorces spécifiques pour le gène codant pour l'antigène majeur de surface de mérozoïte de 30 kDa de *T. annulata* le Tams-1 (d'Oliveira *et al.*, 1995).

Les méthodes moléculaire sont sensibles et spécifiques (Ziam *et al.*, 2015), ainsi la PCR permet la mise en évidence d'un seul piroplasma dans un échantillon de 4 µL de sang (Ilhan *et al.*, 1998).

La LCRT-PCR (Light Cycler real-time polymerase chain reaction) a été décrite par Nicolas *et al.*, (2002), qui l'ont développé pour détecter et différencier des espèces de *Leishmania*. La PCR en temps réel est utilisée pour quantifier l'ADN suivie d'une différenciation des amplicons de séquence(s) variant par analyse de la courbe de fusion (Ziam *et al.*, 2015) et qui offre une alternative rapide pour l'identification des espèces pour le diagnostic ou dans les études épidémiologiques des parasitismes chez les porteurs asymptomatiques (Nicolas *et al.*, 2002). Cette méthode a été appliquée pour le diagnostic de la theilériose à *T. parva* par Sibeko *et al.*, (2008) et évaluée en se basant sur le gène *cox III* pour la détection et la discrimination des espèces de *Theileria* chez le buffle et des échantillons de sang de bovins (Chaisi *et al.*, 2013).

Une PCR Cytob1 basée sur l'amplification d'un segment 312 bp du gène cytochrome b (Cytob1) du *T. annulata*, offre le plus grand niveau de sensibilité en utilisant des dilutions en série du sang de veaux infectés expérimentalement, un degré élevé de spécificité par l'ADN d'essai représentant douze stocks de *T. annulata* différentes et d'autres espèces de *Theileria* et *Babesia*, et de la capacité de détecter les différents génotypes de *T. annulata*. Associée une Reverse Line Blot (RBL), la PCR Cytob1 offre le procédé une plus grande sensibilité, conçu pour détecter le parasite chez les animaux porteurs asymptomatiques, ce qui augmentera la précision des études épidémiologiques visant à améliorer le contrôle des maladies dans les élevages en situation d'enzootie instable (Bilgic *et al.*, 2010).

La réalisation d'une PCR amplifiant des gènes spécifiques de l'animal hôte dans l'échantillon peut rectifier l'inhibition due à la Taq polymérase pouvant survenir dans la réaction de polymérisation en chaîne (Gharbi *et al.*, 2012).

Les résultats obtenus pour le diagnostic de la theilériose tropicale doivent être interprétés avec précautions, un échantillon positif vis à vis d'une maladie parasitaire ne signifie pas que l'animal est malade ou même porteur du parasite, mais montre que l'animal a été seulement en contact avec le parasite même si une PCR quantitative est réalisée (Gharbi *et al.*, 2012).

Malgré la sensibilité et la spécificité élevées de la PCR, elle n'est pas suffisamment rapide (Uilenberg, 2004). Ajouté à son prix encore élevé dans plusieurs pays où la theilériose est enzootique, elle reste réservée à la recherche (recherche épidémiologique, vaccinologie, et génétique des populations) ou à l'occasion d'introduction d'animaux dans des élevages ou des régions indemnes.

#### 5.4. Reverse Line Blot (RBL)

La RLB est basée sur l'amplification des séquences 16S ribosomales conservées et communes aux deux genres *Theileria* et *Babesia* (catch all *Theileria Babesia*), ainsi qu'aux rickettsies appartenant aux genres *Ehrlichia* et *Anaplasma* (catch all *Ehrlichia Anaplasma*) (Gharbi *et al.*, 2012). Elle a été mis au point par Sparagano et Jongejan, (1999) pour identifier plusieurs agents pathogènes des bovins porteurs, de différentes espèces de *Theileria* et *Babesia* simultanément (Gubbels *et al.*, 1999) permettant ainsi la recherche d'acides nucléiques de plusieurs espèces de *Theileria* (*T. annulata*, *T. parva*, *T. taurotragi*, *T. buffeli*,

*T. sergenti*, *T. equi*...) et de *Babesia* (*B. bovis*, *B. bigemina*, *B. microti*, *B. caballi*, *B. divergens* ...). sur la même membrane il est possible de rechercher plusieurs génomes de pathogènes sur 40 échantillons différents. Cette approche, réduit les coûts d'analyse, donne des résultats plus rapides. et permet des comparaisons inter-laboratoires standardisées (Sparagano et Jongejan, 1999).

Ce test utilise des amorces pour l'amplification spécifique de l'ADN codant par l'ARNr (gène V4), cette région amplifiée est variable chez toutes les espèces de *Theileria* and *Babesia*. L'hybridation des produits de PCR se fait sur une membrane sur laquelle les oligonucléotides de neuf espèces spécifiques ont été liés de manière covalente, son utilisation est recommandé pour la surveillance épidémiologique des maladies transmises par les tiques, puisque la RLB peut également être utilisée pour le criblage de tiques et peut facilement être étendue pour inclure des hémoparasites supplémentaires (Gubbels *et al.*, 1999).

### 5.5. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

L'ELISA est une technique sérologique quantitative permettant la mise en évidence des anticorps anti-*Theileria annulata*, qu'après 3 mois de l'infection. Plusieurs techniques ELISA ont été développées (Karagenç, 2002) mais donnent des réactions croisées chez des animaux infectés par d'autres pathogènes notamment *T. parva* et les trypanosomes (Renneker *et al.*, 2009).

La normalisation et la validation de l'ELISA par la protéine de surface recombinante de *T. annulata* (Taps) une protéine hautement antigénique, sont appropriées pour la détection des anticorps circulants contre la theilériose tropicale, elles ont permis le développement des outils diagnostics pour cette maladie (Bakheit *et al.*, 2004 ; Seitzer *et al.*, 2007), Bakheit *et al.*, (2004) ont montré que le Taps-ELISA a une sensibilité de 99,1% et une spécificité de 90,47% lorsque l'IFI est prise comme test de référence, ces deux tests ont montré un haut degré de concordance. L'absence de réactions croisées avec des anticorps dirigés contre *Babesia* spp fait du TASP ELISA un test utile pour le diagnostic d'une infection par *T. annulata* chez les bovins dans des conditions de terrain (Salih *et al.*, 2005).

Une ELISA compétitive (ELISAc) a été développée pour augmenter la spécificité du TAPS ELISA, en utilisant l'antigène recombinant TAPS et un anticorps monoclonal (1C7) se liant spécifiquement à TAPS. L'ELISAc a prouvé son aptitude à l'utilisation sur le terrain dans

les enquêtes sérologiques (Renneker *et al.*, 2009).

Récemment Al-Hosary *et al.*, (2015) ont montré une spécificité du test ELISA en utilisant le SVANOVIR *T. annulata*-Ab, qui est le premier Kit commercialisé basé sur une protéine recombinante de surface (TASP) pour les études épidémiologiques de la theilériose tropicale chez les bovins, et en particulier pour détecter les porteurs asymptomatiques.

### Chapitre III

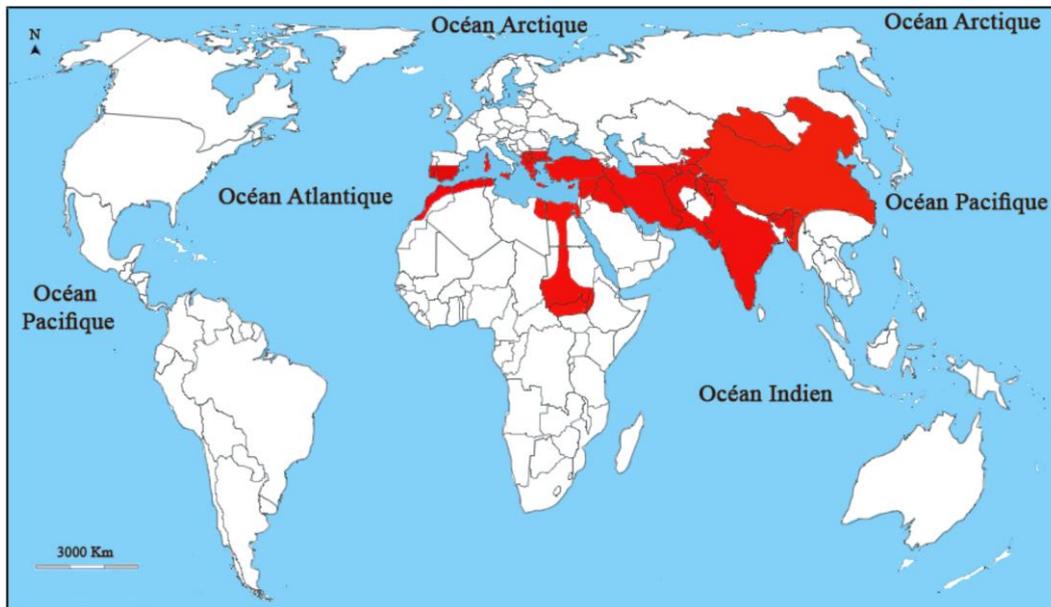
## EPIDEMIOLOGIE DE LA THEILERIOSE TROPICALE

### 1. REPARTITION GEOGRAPHIQUE

La theilériose tropicale bovine est enzootique, la distribution géographique est vaste et étroitement liée à celle des tiques vectrices. Habituellement, la distribution géographique des espèces de *Theileria* est limitée aux régions tropicales et subtropicales où les tiques appropriés sont présentes (Perera *et al.*, 2013). Les theilérioses présentent un caractère saisonnier, pendant la saison chaude. Selon les vecteurs, elles sont dites domestiques car se sont des maladies de locaux.

#### 1.1. Distribution mondiale

*T. annulata* est vastement distribué dans le monde (Europe du Sud, en Asie et en Afrique du Nord). Elle est présente dans la plupart des régions dans lesquels les espèces vectrices de tiques sont présentes. Ainsi, la maladie se manifeste par une large distribution dans les zones tropicales et subtropicales (Weir *et al.*, 2011), du Portugal, de l'Espagne et le Maroc à l'ouest, à travers la côte méditerranéenne de l'Europe et l'Afrique du Nord, le sud dans le Soudan et l'Erythrée et vers l'est en Europe du Sud-Est, le Proche-Orient et Moyen-Orient, le sud de la Russie et de la Sibérie et à travers le sous-continent indien à travers la Chine et l'Extrême-Orient (Robinson, 1982 ; Dolan, 1989).



**Figure 9 :** Distribution mondiale de la theilériose tropicale à *Theileria annulata* (d'Oliveira, 1997)

## 1.2. Distribution en Algérie

En Algérie, la theilériose tropicale est enzootique, et se rencontre dans les étages bioclimatiques humides, subhumides et semi-arides correspondant aux régions favorables à l'évolution biologique de la tique vectrice *H. scupense* (Sergent *et al.*, 1945 ; Bouattour *et al.*, 1999 ; Ziam et Benaouf, 2004), la prévalence moléculaire de la theilériose tropicale à *T. annulata* est de 53,7% dans les régions d'Annaba et d'El Tarf (Ziam et Benaouf, 2004). Ziam *et al.*, (2015) ont estimé la prévalence de la theilériose tropicale dans neuf provinces d'Algérie centrale à 33% (108 positifs/358 échantillons de bovin), la prévalence la plus élevée 85% est retrouvée à Blida, 50% à Boumerdès, suivie d'Alger avec une prévalence de 41%, Tipaza 25%, ce grand nombre de *T. annulata* positifs par rapport aux autres provinces est due à leurs climat plus humide, ce qui est bénéfique pour le développement des tiques. En outre, le mode d'élevage intensif représente un facteur influençant l'augmentation de *T. annulata*. La baisse du taux d'infection dans les provinces Béjaïa 20%, Tizi Ouzou 17%, Ain Defla 15%, et la faible prévalence retrouvée à Bouira 8%, et enfin 5% à Médéa, est expliquée par le mode d'élevage à viande et laitier pratiqué dans ces régions dont l'utilisation des traitements acaricides est régulière en raison de la valeur économique de ces bovins (Ziam *et al.*, 2015).

## 2. EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE

En Algérie, la theilériose tropicale évolue durant la période chaude, le plus grand nombre de cas cliniques est enregistré entre juin et septembre avec un pic en juillet (Sergent *et al.*, 1945). Ce caractère saisonnier qui est en relation avec la dynamique d'activité de la tique vectrice (Bouattour *et al.*, 1996) n'est pas absolu, on peut ainsi observer des cas sporadiques de theilériose en toute saison de l'année. Les changements climatiques (température, hygrométrie et pluviométrie) enregistrés ces dernières années auraient une grande influence. D'autres cas de rechutes sont consécutifs à un déséquilibre de la relation hôte – parasite. Quinze jours après l'infestation par les tiques vectrices *H. scupense*, le pic d'apparition des cas cliniques de la theilériose tropicale survient (Bouattour *et al.*, 1996).

En Algérie le commerce des animaux influence sur la distribution géographique des tiques qui est en perpétuel changement parce que les bovins présentés en vente sont majoritairement infesté par les tiques, ils sont originaires de différentes wilayas pour être vendus à des éleveurs qui habitent dans d'autres wilayas.



**Figure 10:** Répartition géographique des *Hyalomma scupense* en Afrique (Walker *et al.*, 2003)

### 3. EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE

#### 3.1. Sources du parasite

Ils existent deux sources principales de *T. annulata*, d'une part les tiques adultes d'*Hyalomma* qui le transmettent directement au cours de leurs repas sanguin, et d'autre part indirectement par les animaux infectés, notamment les porteurs asymptomatiques du parasite qui vont infecter occasionnellement, les larves et les nymphes *Hyalomma* lors du repas sanguin (Gharbi *et al.*, 2014), et sont impliqués dans la propagation de l'infection et ont un rôle important dans l'entretien du cycle biologique du parasite entre les bovins et les tiques vectrices (Ilhan *et al.*, 1998 ; Aktas *et al.*, 2006). Il a été démontré qu'environ 15 espèces d'*Hyalomma* sont des vecteurs naturels ou expérimentaux de *T. annulata* (Robinson, 1982).

#### 3.2. Mode de transmission

Lors du repas sanguin l'adulte *Hyalomma*, les sporozoïte de *T. annulata* sont transmis avec la salive dès le troisième jour de fixation sur l'hôte bovin. Cette durée est aussi valable pour les espèces de *Babesia* et quelles que soit les tiques vectrices (Euzeby, 1979). La transmission des parasites par l'utilisation des seringues contaminées peut se produire mais son rôle reste accessoire dans l'épidémiologie de la maladie (Gharbi *et al.*, 2014). La transmission transplacentaire a été rarement observée chez *T. annulata* (Chartier *et al.*, 2000).

#### 3.3. Réceptivité

Les facteurs intervenant dans la réceptivité des animaux à l'infection par *T. annulata* sont l'espèce, la race et l'âge.

##### 3.3.1. Espèce

La theilériose tropicale à *T. annulata* est une maladie qui touche les bovidés, mais certaines espèces sont plus réceptives que d'autres. Il s'agit notamment des taurins (*Bos taurus*) et du buffle asiatique (*Bubalus bubalis*), dont le degré de sensibilité diffère, des symptômes observés chez le buffle comme la pneumonie sont rarement observés chez le taurins, alors que l'œdème de la cornée qui conduit fréquemment à la cécité est totalement

absent chez le bovin (Mahmmod *et al.*, 2011). Il existe à l'intérieur d'une même espèce, une différence de sensibilité, d'une manière générale les races locales sont plus rustiques (Chartier *et al.*, 2000).

### 3.3.2. Race

Les différences raciales sont importantes dans la sensibilité des bovins aux maladies transmises par les tiques (Zwart, 1985). Ainsi, les bovins exotiques, d'origine européenne sont habituellement très sensibles aux piroplasmoses sensu lato (Ait Hammou *et al.*, 2012). Les races améliorées comme la Frisonne Pie noire, la Holstein ou les produits de leurs croisements sont plus sensibles que les races autochtones, d'après Glass, (2001), la sensibilité des races bovines à la theilériose tropicale est déterminée par la régulation des conséquences immuno-pathogéniques de la réponse immune à l'infection. Celle-ci serait bien régulée chez les animaux autochtones issus d'une coexistence millénaire avec le parasite, contrairement aux races exotiques non adaptées à ce dernier. Les veaux de la race Sahiwal (*Bos indicus*) sont plus résistants que les Holstein. Après l'infection expérimentale avec des sporozoïtes de *T. annulata*, un groupe de veaux Sahiwal ont tous survécu sans traitement, avec des températures maximales significativement plus faibles et la baisse des taux de la multiplication du parasite par contre les veaux Holstein avaient tous eu des réponses sévères (Glass *et al.*, 2005). La différence de sensibilité des bovins de races Sahiwal et Holstein Frisonne à la theilériose tropicale est due à une différence raciale lors de l'interaction entre les cellules infectées et les autres cellules immunitaires qui influence la réponse immunitaire à produire des cytokines pro-inflammatoires chez les Holsteins contrairement les Sahiwals semblent capables de surmonter l'infection par *T. annulata* en empêchant la sur-stimulation des voies immunitaires produisant les cytokines (Glass *et al.*, 2005 ; Jensen *et al.*, 2008).

Dans des étables en situation d'enzootie stable de theilériose en Tunisie, il y avait une corrélation positive entre l'incidence de la maladie chez les veaux et le pourcentage du génotype Frisonne Pie noire (Soudani, 1995 ; Karoui, 2002).

### 3.3.3. Age

la séroprévalences de *T. annulata* augmente avec l'âge (Jacquiet *et al.*, 1994), les jeunes sont réputés peu sensibles, cela peut être du au colostrum qui offre une protection passive par

les anticorps maternels pendant les 2-3 premiers mois (Chartier *et al.*, 2000) à la faible infestation des veaux par les tiques, dans des élevages en situation d'enzootie stable à la theilériose tropicale en Tunisie, les vaches avaient une infestation moyenne de 75,8 tiques/vache/saison alors qu'elle n'était respectivement que de 50,6 et 12,4 tiques/veau/saison chez les veaux mâles et femelles (Gharbi *et al.*, 2013). Des observations similaires ont été rapportées en Algérie où le nombre de tiques a été significativement plus élevé chez les bovins âgés de plus d'un an que chez les bovins de moins d'un an. Les veaux ont été en particulier moins infestés par les tiques (toutes espèces confondues) que les bovins adultes (Benchikh El Fegoun *et al.*, 2013). Ces états d'enzootie ont montré la présence d'un état de panmixie parmi les isolats aussi bien turcs que tunisiens par l'accumulation d'infections successives, et enfin la tolérance des veaux vis-à-vis des hémoparasites, où le thymus assure une protection non spécifique (Weil *et al.*, 2011).

### 3.4. Facteurs favorisants

Les facteurs qui favorisent le développement de la maladie sont : le mode d'élevage, l'état de l'étable, les conditions climatiques, et l'état de l'animal.

#### 3.4.1. Mode d'élevage

Le mode d'élevage est étroitement lié à la tique vectrice, si la tique est exophile comme *H. lusitanicum*, le mode d'élevage intensif est le plus recommandé pour diminuer l'incidence de la maladie, au contraire si la tique est endophile comme *H. scupense* ce mode d'élevage est un facteur de risque.

#### 3.4.2. Etat de l'étable

Généralement, les tiques praticoles telles *Rhipicephalus bursa*, *Rhipicephalus* et *H. (Boophilus) annulatus* vectrices de babésioses bovines, habitent les lieux boisés, les broussailles, les terrains couverts de hautes herbes : les bestiaux les rapportent du pâturage. Or, *H. scupense* se distingue pendant sa vie libre, de goûts opposés : elle fuit les plantes et n'habite que les pierres (tique rupicole). Dans les cours de ferme ou à l'intérieur des étables, on voit sortir des murs non crépis, au mois de juin, de nombreux *H. scupense* adultes.

L'exploration de ces murs au cours de la saison froide montre que leurs fentes sont des gîtes d'hibernation des nymphes d' *H. scupense* (Sergent *et al.*, 1945).

### 3.4.3. Conditions climatiques

Les facteurs climatiques conditionnant l'activité des tiques vectrices, et le pouvoir infectieux du parasite *T. annulata*, Gharbi *et al.*, (2014) ont montré que les épisodes de sirocco en Tunisie (vent violent, sec et chaud, venant du Sahara) en début d'été entraînent une sortie massive de tiques de leurs gîtes d'hibernation entraînant une augmentation différée dans le temps de l'incidence de la theilériose tropicale.

Le parasite présente une sensibilité du à des températures extrêmes auxquelles les tiques vectrices peuvent être soumises, Robinson, (1982) a suggéré que l'exposition des tiques à des températures élevées pendant de longues périodes de temps entraîne une diminution de la durée de vie des sporozoïtes dans les glandes salivaires. En outre, il a été démontré que des basses températures (8 à 10°C) peuvent entraîner la perte du pouvoir infectieux des tiques infectées, ceci explique bien la présence des limites géographiques de la theilériose tropicale bovine et l'absence de la maladie dans certaines régions malgré la présence de la tique vectrice.

### 3.4.4. L'état de l'animal

L'état de l'animal (diminution de l'immunité, état de fatigue, troubles nutritionnels, lactation, et gestation) conditionne les défenses de l'organisme de l'hôte bovin vis à vis l'infection par le parasite, en augmentant la sensibilité du bovins, favorisant ainsi la primo-infection ou les états de rechute. De plus, il est possible de voir des bovins porteurs sains faire des rechutes de theilériose clinique suite à une forte lactation, une fin de gestation ou une maladie intercurrente (Flach *et al.*, 1995).

## 4. EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE

Trois situations enzootiques ont été identifiées par Darghouth *et al.*, (1996), l'enzootie stable, l'enzootie instable modéré et élevée ont utilisant trois indicateurs épidémiologiques:

- La séroprévalence en automne.
- La répartition par âge des cas cliniques de la theilériose déclarés chez les bovins.
- L'importance de l'infestation par *H. scupense*.

#### **4.1. Enzootie stable**

Durant leurs première saison estivale, tout les veaux ont été infectés par *T. annulata* (infection précoce) d'où une séroprévalence automnale de 100%. Les faibles taux d'infestation par les tiques vectrices entraînent une immunité progressive contre la theilériose tropicale avec de faibles doses infectantes. Les cas cliniques sont limités à ces animaux. Cette situation enzootique correspond aux élevages de type traditionnel avec un taux élevé d'infestation par *H. scupense* en été (elle est supérieure à 50 tiques/ bovin adultes) (Darghouth *et al.*, 1996).

#### **4.2. Enzootie instable**

La population de tiques vectrices est insuffisante pour assurer l'infection de tous les veaux en première saison estivale. Il existe deux situations d'enzootie instable : l'enzootie instable modérée et l'enzootie instable élevée.

##### **4.2.1. Enzootie instable modérée**

La séroprévalence en automne est de 100% chez les bovins à leur quatrième saison de theilériose, alors que les animaux de plus de trois étés sont en totalité naturellement immunisés, les veaux en première saison de theilériose sont peu affectés à cause de leur faible attractivité pour les *Hyalomma*, avec un taux d'infestation modérée en juillet (<50 tiques/ adultes), l'installation de l'immunité survient donc pendant les deuxième et troisième étés (Darghouth *et al.*, 1996).

##### **4.2.2. Enzootie instable élevée**

Toutes les classes d'âge ont une séroprévalence automnale inférieur à 100% avec une apparition de cas cliniques chez les bovins de quatre saisons de theilériose et plus; ceci est du

à une faible infestation par les *Hyalomma* en été (<5-10 tiques/ adultes) (Darghouth *et al.*, 1996)

### 4.3. Etat indemne

Les états indemne sont caractérisés par l'absence de cas clinique de theilériose, ceci s'observe dans les étables modernes constituées d'espaces couverts sans murs ou bien entretenues pour éradiquer les tiques et par conséquent les maladies transmises par ces dernières, c'est le cas des fermes pilotes en Algérie.

## 5. EPIDEMIOLOGIE PROSPECTIVE

La typologie épidémiologique de la theilériose tropicale en Algérie est en perpétuelle changement à cause de la modification des populations de tiques induite par les changements climatiques et surtout par les activités de vente pratiquées par les éleveurs, les tiques parasités fixés sur les bovins nouvellement introduits transmettent l'infection aux étables jusque là indemnes. L'introduction des bovins porteurs asymptomatiques dans des élevages indemnes entraîne l'apparition d'une population de tiques infectée, susceptible de transmettre l'infection à d'autres animaux, ce qui est à l'origine de l'extension géographiques de *T. annulata*. Et enfin l'utilisation abusive d'acaricides crée une résistance des tiques ce qui complique la lutte.

De plus, Mhadhbi *et al.*, (2010) confirme pour la première fois que des souches résistantes à la bupervaquone ont été isolées en Tunisie dans une étude réalisée sur une ferme laitière. Plusieurs observations suggèrent que *T. annulata* peut devenir résistant à la Buparvaquone dans de nombreuses régions d'endémie (Tunisie, Turquie et Iran), ce qui peut entraver le développement de l'élevage bovin dans ces domaines (Mhadhbi *et al.*, 2015).

---

## Chapitre IV

### PATHOGENIE ET IMMUNITE

#### 1. PATHOGENIE

Le stade pathogène de *T. annulata* chez les bovins est représenté par les formes leucocytaires (schizontes), du fait de leur multiplication intense chez l'hôte, de leur capacité de transformer la cellule hôte à une population en croissance rapide conduisant à une prolifération clonale des cellules infectées en cellules métastatiques disséminées dans divers organes du système des phagocytes mononucléés, et ses méthodes de subversion immunitaire (Preston *et al.*, 1999). Les métastases des cellules infectées peuvent être dues à leur expression pour des métalloprotéases matricielles (MMPs) comprenant MMP9, et des molécules d'adhésion CD2, CD11b, l'antigène très tardif- 4 (VLA-4) et CD9 (Preston *et al.*, 1999).

L'infection commence dans les nœuds lymphatiques drainant le site d'inoculation des sporozoïtes par les tiques lors du repas sanguin. Après avoir envahit différents types de cellules, y compris les fibroblastes, les monocytes sanguins, les macrophages, et les lymphocytes (Campbel et Spooner, 1999). Les sporozoïtes se développent en trophozoïtes. Une transformation facilitée par la modulation du programme d'expression gène-hôte par le parasite (Glass et Jensen, 2007), puis en macroschizontes multinucléés qui croissent et se divisent de manière synchrone avec les cellules hôtes transformées, puis se différencier en mérozoïtes. Si l'infection continue, les cellules infectées par les schizontes et les mérozoïtes se retrouvent partout dans les tissus lymphoïdes et réticulo-endothélial. Provenant des cellules hôtes, les mérozoïtes pénètrent les érythrocytes et deviennent piroplasmes, qui infectent le vecteur (Preston *et al.*, 1999).

La réponse à l'infection est nettement influencée par la dose et la virulence du parasite qui varie en fonction de la souche où des observations expérimentales et qui ont montré sur terrain cette large variation. Ces variations peuvent être dues aux différents taux de réplication du parasite, certaines souches ont une multiplication rapide tuant l'animal avant que le système immunitaire ne développe une réponse efficace tel que la souche Jed 4 isolée en Tunisie par Darghouth *et al.*, (1996), d'autres sont moins pathogènes avec une multiplication

lente permettant ainsi l'installation et le fonctionnement des mécanismes immunitaires protectrices (Robinson, 1982). En Algérie, Sergent *et al.*, (1945) ont enregistré une mortalité entre 3 et 13% avec les souches Brunette et Kouba qui sont des souches peu virulentes, elles ont été utilisées comme souche vaccinale (Robinson, 1982).

La pathogénie de la maladie dépend également de la race du bovins, Glass et Jensen, (2007) ont montré que la race Sahiwal infectée présente moins de signes cliniques et récupère à partir d'une dose de parasite qui est mortelle dans la race Holstein. Les Sahiwals développent une fièvre significativement plus faible, et des niveaux inférieurs de parasitémie que la race Holstein. Cette dernière exprime une production prolongée des protéines de la phase aiguë (APP)  $\alpha$ 1-glycoprotéine qui sont une caractéristique inhabituelle de la theilériose à *T. annulata* indiquant que le parasite induit des taux systémiques élevés de cytokines pro-inflammatoires, en revanche, les niveaux de APP sont légèrement plus élevés chez les bovins Sahiwals. Cette différence est due à des variations fondamentales dans l'expression des gènes dans les macrophages des deux races de la façon dont ils réagissent à l'infection.

Des doses élevées de sporozoïtes peuvent provoquer une maladie létale aiguë chez les individus sensibles. Le recouvrement de l'infection avec des doses sublétales est accompagné par le développement d'une immunité solide (Preston *et al.*, 1999).

Ainsi, lors d'infection expérimentale, les premiers signes de la maladie se manifestent avant l'apparition des premiers stades érythrocytaires du parasite (Darghouth *et al.*, 1996).

## 2. LA CELLULE HOTE MONONUCLÉÉE

Des études sur la nature de la cellule infectée par les schizontes et les cytokines qu'elle produit ont montré que les macrophages sont les cellules hôtes pour le parasite *T. annulata*. Dans les tissus infectés, les schizontes se trouvent dans les cellules phagocytaires  $CD3^+$ , et  $CD11b^+$  qui expriment un complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH II) (Preston *et al.*, 1999).

Les cellules infectées de parasites acquièrent des caractéristiques des cellules dendritiques et sur-activent les lymphocytes T  $CD4^+$  et lymphocytes T  $CD8^+$  (Glass, 2001).

*Ex vivo* des lignées cellulaires dérivées, créées par les cellules parasitées provenant de bovins infectés, expriment des marqueurs cellulaires myéloïdes reconnus par l'anticorps

monoclonal IL-A24 et CD9<sup>+</sup>, CD11b<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup> et CMH de classe I et II. *In vivo*, les cellules mononucléaires infectées par *T. annulata* sont trouvées à travers les organes lymphoïdes et les tissus du système réticulo-endothélial (Preston *et al.*, 1999).

*T. annulata* infecte et transforme les cellules myéloïdes qui se multiplient ensuite et se métastasent (Preston *et al.*, 1999).

Dans la culture, les sporozoïtes envahissent et transforment les macrophages et dans une moindre mesure les cellules B et T qui deviennent transformées comme le parasite qui se différencie d'abord en trophozoïte intracellulaire, puis en macroschizonte ce qui entraîne l'augmentation du nombre de parasites dans les nœuds lymphatiques drainant la morsure de la tique (Glass, 2001). Les cytokines produites par les cellules mononucléaires infectées et leurs profils d'ARNm de cytokines sont caractéristiques des macrophages, et non pas des cellules T ou B (Preston *et al.*, 1999).

### 3. LES REPONSES IMMUNITAIRES INNEES ET ADAPTATIVES

*T. annulata* est un parasite intracellulaire typique des macrophages (Brown *et al.*, 1995) qui induit la production d'une variété de cellules T-stimulatrices et cytokines inflammatoires qui peuvent être responsables des symptômes immuno-pathologiques observés lors de l'infection (Brown *et al.*, 1995). Il est contrôlé par une variété de réponses immunitaires innées et adaptatives. L'infection stimule l'immunité solide à la réinfection et suscite des réactions tissulaires dominées par des macrophages non infectés. Cette immunité dépend de la coopération entre ces deux réponses d'ailleurs semblable à d'autres infections avec des parasites des macrophages (Preston *et al.*, 1999).

La présence de *T. annulata* entraîne la synthèse d'anticorps anti-sporozoïtes, anti-mérozoïtes et anti-schizontes, dont la présence est exploitée pour la mise en évidence de l'infection par des tests sérologiques : IFI et ELISA.

Les cellules infectées induisent la prolifération non spécifique des cellules T *in vivo* et *in vitro* (Campbell et Spooner, 1999). Il est probable que, *in vivo*, d'autres cellules telles que les cellules dendritique (DC) agissent comme cellules présentatrices de l'antigène (APC) et de fournir les signaux nécessaires pour la génération de cellules T spécifiques de l'antigène (Glass, 2001).

### 3.1. Réponses immunitaire innées

Les réponses immunitaires innées stimulées par des infections avec des doses sublétales de sporozoïtes de *T. annulata* ou des cellules infectées par des schizontes activés comprenant les cellule cytotatiques macrophages, suppriment la prolifération des cellules infectées par les schizontes et produisent le facteur de nécrose tumorale-alpha (TNF-  $\alpha$ ) (Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ) et (NO) le monoxyde d'azote, et les cellules tueuses (NK) (natural killer). Ces cellules lysent les cellules infectées par les schizontes (Preston *et al.*, 1999). Le facteur de nécrose tumorale-alpha ou cachectine  $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ) dérivant des macrophages de Bovins est synthétisé lorsque des cellules mononucléaires du sang périphérique et infectées par *T. annulata* sont incubées *in vitro* avec de la concanavaleine A (Con- A) ou l'interféron gamma recombinant de bovin (Bo rIFN- $\gamma$ ). La production de la TNF-  $\alpha$  été également induite lorsque les cellules mononuclées ont été cultivées avec des cellules infectées par des macroschizontes de *T. annulata* (Preston *et al.*, 1993).

### 3.2. Réponses immunitaire adaptatives

Les réponses immunitaires adaptatives comprennent les cellules T cytotoxiques pour les cellules infectées par les schizontes, les lymphocytes sensibilisées par l'antigène et les cellules T CD4<sup>+</sup>.

La réponse adaptative à pour objectif de promouvoir l'activité des macrophages anti-*T. annulata*:

1. Par la production des interférons  $\gamma$  (IFN-  $\gamma$ ), lorsque les cellules mononuclées du sang périphérique sont exposées à des interleukine 2 (IL-2) provenant de bovins immunisés ou les cellules infectés par des schizontes.

2. Les cellules incubées avec l'IFN-  $\gamma$  produisent le NO et la TNF  $\alpha$ .

3. Les cellules mononuclées des bovins immunisés produisent du NO lorsqu'ils sont incubées avec des cellules infectées par des schizontes, tandis que les cellules d'un animal naïf ne le font pas.

Les produits des macrophages et des cellules NK activés au cours des infections *T. annulata* pourrait améliorer une réponses adaptative T helper de type 1 (Th1) et ainsi promouvoir la génération de cellules cytotoxiques et la production de l'IFN- $\gamma$  un facteur connu pour inhiber les cellules infectées par les trophozoïtes et activer les macrophages pour produire le NO (Preston *et al.*, 1999).

Les mécanismes qui régulent l'immunité à *T. annulata* semblent être encore plus compliqués car les cellules infectées elles-mêmes peuvent influencer les réponses immunitaires qui contrôlent les parasites (Preston *et al.*, 1999).

1. *In vitro* les cellules infectées peuvent stimuler les macrophages non infectés et les lymphocytes pour produire des cytokines et les facteurs qui régulent les mécanismes immunitaires protectrices. Les cellules infectées stimulent les macrophages non infectés pour produire TNF- $\alpha$ , les cellules T CD4<sup>+</sup> pour produire l'IFN- $\gamma$ , les cultures de macrophages et les lymphocytes pour produire du NO (probablement à la suite de la synthèse de l'IFN- $\gamma$  par les cellules T) et les cellules T à proliférer quand l'IL-2 est présent (Preston *et al.*, 1999).

2. Les cytokines produites par le macrophage infecté ressemblent à celles des macrophages non infectés (activés) qui régissent les interactions entre le système immunitaire inné et adaptative d'autres infections ce qui pourraient induire des cellules NK à devenir lytique et de produire IFN- $\gamma$ , provoquant indirectement les macrophages pour synthétiser le NO, et induire les cellules Th0 à se développer en cellules T CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup> (Preston *et al.*, 1999).

#### 4. IMMUNITE ET VACCIN

*In vitro* l'immunité induite par immunisation avec les cellules infectées par des schizontes permet le développement de vaccins atténués à partir de lignées cellulaires infectées (Preston *et al.*, 1999).

Les différents stades parasitaires (trophozoïtes, schizontes, mérozoïtes, piroplasmes) et les cellules qu'ils parasitent sont affectés par différents mécanismes, et la récupération de l'infection implique une multitude de réponses immunitaires innées et adaptatives (Preston *et al.*, 1999).

*In vitro*, les vaccins de lignées cellulaires sont produits par culture à long terme de cellules infectées. Les cellules parasitées produisent des niveaux élevés de cytokines dont les cytokines pro-inflammatoires, l'IL-1 $\alpha$  et  $\beta$ , l'IL-6 et TNF $\alpha$ , et d'autres monokines telles que l'IL-10, IL-12, IL-15 et l'interféron de type I, cependant, ni l'IL-1, ni le TNF $\alpha$  ne sont sécrétés par les cellules infectées *in vitro* (Glass, 2001). Les travaux sur les réponses immunitaires à *T. annulata* visent à développer des vaccins sous-unitaires aussi efficaces que les vaccins des lignées cellulaires atténuées. Un vaccin recombinant aura les avantages de stabilité (en évitant la nécessité de la chaîne du froid), étant non vivant (absence de réversion de la virulence et de contamination) et d'avoir une composition définie (permettant un contrôle de la qualité). Les trois cibles potentielles pour un tel vaccin sont : le sporozoïte (pour réduire la dose infectieuse), le schizonte (pour contrôler la prolifération des cellules mononucléaires infectées et de la pathologie) et le mérozoïte /piroplasma (pour réduire l'infection des érythrocytes et donc l'anémie, et de limiter la transmission). Des essais avec deux antigènes recombinants, Spag-1 (à partir de la surface des sporozoïtes) et Tams (à partir de la surface des mérozoïtes), induisent une protection partielle contre les sporozoïtes ou les mérozoïtes, respectivement, mais l'efficacité dépend du système de distribution. Bien que ces essais ont fourni peu d'informations sur la protection de la réponse immunitaire stimulée par les deux antigènes spécifiques définis, ils indiquent que le développement d'un vaccin sous-unitaire est possible (Preston *et al.*, 1999).

---

## Chapitre V

### MODIFICATION HEMATOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES DUES A L'INFECTION PAR *THEILERIA ANNULATA*

La theilériose tropicale induit des modifications biochimiques et hématologiques sur le métabolisme de l'animal.

Les analyses biochimiques et hématologiques ont une grande importance dans le diagnostic, le dépistage et le suivi des maladies. Elles sont utilisées comme examens complémentaires à un diagnostic clinique, notamment, pour les formes sub-cliniques, ou pour établir un pronostic.

Pour interpréter correctement les résultats de ces analyses il faut connaître les valeurs physiologiques chez les animaux sains et définir les valeurs pathologiques.

#### 1. MODIFICATIONS HEMATOLOGIQUES

La theilériose tropicale est une maladie qui affecte les érythrocytes et les cellules des phagocytes mononuclées qui se traduit en clinique par l'apparition d'anémie, d'ictère, et d'autres signes d'où l'intérêt des dosages hématologiques.

##### 1.1. Leucocytes

L'hyperleucocytose peut être physiologique lors d'une gestation ou après le part, mais des cas pathologiques sont observés en cas d'inflammation, d'infection ou de leucémie. Les leucopénies expriment une diminution du taux des leucocytes, elles sont généralement observées lors d'infections du système immunitaire.

Sandhu *et al.*, (1998) ont montré une leucocytose en début de la maladie suivie par une leucopénie chez les veaux croisés suite à l'infection expérimentale par *T. annulata*.

La leucopénie est rapportée dans tous les travaux qui visent à étudier l'incidence de la theilériose sur les paramètres hématologiques, cette leucopénie est d'autant plus sévère que la

parasitémie est élevée (Razavi *et al.*, 2011). La leucocytose résulte de la prolifération des lymphocytes dans les organes lymphoïdes comme une réaction de défense aux protozoaires *T. annulata* envahissants.

## 1.2. Hématies

Après l'inoculation de *T. annulata* à l'hôte et sa prolifération dans les cellules lymphoïdes, les parasites infectent les érythrocytes pour terminer leur cycle de vie (Soulsby, 1982), entraînant des anémies progressives et sévères (Jain, 1993). Ces anémies hémolytiques se caractérisent par une destruction plus ou moins massive et plus ou moins rapide des érythrocytes (Hubans-Belkilani, 2001) d'où la diminution de leurs nombre dans le torrent circulatoire rapportée par plusieurs auteurs (Omer *et al.*, 2003 ; Mahmmoud *et al.*, 2011 ; Ghanem, 2013).

L'anémie a aussi une composante auto-immune (Stockham et Scott, 2002). En outre, il peut être conclu que l'infection par *T. annulata* peut interférer avec les mécanismes de protection antioxydants des globules rouges favorisant le développement de l'anémie (Razavi *et al.*, 2011), l'augmentation de la parasitémie induit une diminution significative des activités des enzymes anti-oxydantes et des niveaux élevés de la peroxydation lipidique et la fragilité osmotique des érythrocytes indiquant une exposition accrue des érythrocytes aux dommages oxydatifs (Nazifi *et al.*, 2011).

De ce point de vue, l'activité des enzymes anti-oxydantes comme la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPX) et de la catalase peut être affectée par le parasite, provoquant pendant la phase de l'anémie grave une augmentation des valeurs des indices d'oxydation (Shiono *et al.*, 2003).

Les résultats trouvés par Shiono *et al.*, (2003) indiquent que les dommages oxydatifs et la perte de l'asymétrie de la membrane dans les érythrocytes sont liés au développement de l'anémie due à l'infection par *Theileria*. Ces dommages oxydatifs jouent un rôle important dans l'accélération de la clairance des érythrocytes par les cellules phagocytaires.

### 1.3. Hémoglobine

L'hémoglobine est un pigment capable de transporter l'oxygène sous forme d'oxyhémoglobine et le dioxyde de carbone sous la forme de désoxyhémoglobine. Elle est composée d'une protéine (globine), et de 4 hèmes. La globine est formée de deux paires de sous-unités, appelées alpha et bêta. Au niveau de chaque sous-unités nous trouvons un hème constitué d'un noyau tétrapyrrolique associé à un atome de fer ferreux. Chaque hème peut fixer de manière réversible une molécule de dioxygène (Drieu, 2009).

Chez les bovins adultes, il existe deux types d'hémoglobine : HbA et HbB, une hémoglobine embryonnaire (HbE) et une hémoglobine fœtale (HbFs) qui remplace peu à peu l'hémoglobine embryonnaire durant la gestation et est à son tour remplacée par une des hémoglobines adultes (Doxey, 1977).

L'étude des indicateurs hématologiques et biochimiques suite à l'infection par *T. annulata* a révélé une chute significative de la concentration de l'hémoglobine, suite à la destruction des érythrocytes par les macrophages dans les organes du système des phagocytes mononuclées (Dhar et Gautam, 1979 ; Sharma, 1979 ; Mehta *et al.*, 1988 ; Rayula et Hafeez, 1995 ; Sandhu *et al.*, 1998 ; Singh *et al.*, 2001).

### 1.4. Hématocrite

L'hématocrite correspond au rapport du volume des érythrocytes sur le volume sanguin total (Hubans-Belkilani, 2001). La diminution de l'hématocrite est observée chez les animaux atteints de theilériose tropicale (Sandhu *et al.*, 1998 ; El-Deeb et Younis, 2009 ; Osman et Al-Gaabary, 2007).

Elle est due à la destruction des érythrocytes par des macrophages dans la rate et les autres organes du système des phagocytes mononuclées (Singh *et al.*, 2001).

### 1.5. Volume globulaire moyen, Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobin, Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine

Le volume globulaire moyen (VGM) ( $\mu\text{m}^3$ ) exprime la taille moyenne des érythrocytes. Il se calcule en utilisant la numération globulaire (NG) (millions/ $\text{mm}^3$ ) de sang et

l'hématocrite (Ht) (%).

La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) est la quantité d'hémoglobine contenue dans 100 ml d'hématies.

La Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (TCMH), également appelée Teneur Globulaire Moyenne en Hémoglobine ou (TCMH) correspond à la masse moyenne d'hémoglobine présente dans un globule rouge.

Le volume globulaire moyen et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine sont deux paramètres qui permettent de faire une classification morphologique des anémies des bovins. La population érythrocytaire est dite normocytaire lorsque le VGM est dans les normes (Tableau II), Si le VGM est au dessous des valeurs physiologiques l'anémie est dite microcytaire, et macrocytaire s'il est supérieur. Si le VGM est très supérieur à la normale, la population est dite mégalozytaire, les anémies sont dites normochromes si le CCMH est dans les normes (Tableau II), et hypochromes s'il est inférieur au valeurs physiologiques (Drieu, 2009).

Sandhu *et al.*, (1998) ont rapporté une anémie normocytaire normochrome chez les veaux de races croisées atteint de theilériose tropicale.

## 2. MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES

Les analyses biochimiques sont un ensemble de procédures chimiques permettant d'évaluer les quantités de constituants dans les liquides biologiques (sang, urines, épanchements, sécrétions, etc.).

### 2.1. Glycémie

Différents paramètres peuvent être mesurés pour caractériser le statut énergétique d'un animal, leur interprétation est parfois délicate et les valeurs obtenues doivent être confrontées à son stade physiologique et à son état clinique. Bien souvent, plusieurs paramètres associés apportent plus d'information qu'une valeur isolée (Isler, 2007).

Les valeurs usuelles chez les bovins sont inférieures à celles des monogastriques, elle

est de 0,4 à 0,7g/L. Classiquement, la glycémie est basse en cas d'anorexie, et élevée en cas de diabète qui est rare chez les bovins, cependant des hyperglycémies agoniques peuvent avoir lieu (Isler, 2007).

Yadav et Sharma, (1986) ont montré que la glycémie chez les veaux infectés expérimentalement par *T. annulata* diminue progressivement du premier jour au 40<sup>ième</sup> jour où le taux devient égal à la moitié de celui des animaux témoins.

## 2.2. Albuminémie

L'albumine est la protéine la plus représentée dans le sang, elle constitue 60% des protéines sanguines. Une baisse du taux de l'albumine dans le sang, appelée hypoalbuminémie, survient le plus souvent lors d'une insuffisance hépatique ou plus rarement d'une pathologie rénale.

Lors de la theilériose tropicale le niveau de l'albuminémie diminue significativement (Ghanem, 2013). Cette diminution est peut-être à l'origine de la baisse du taux des protéines totales (Omer *et al.*, 2003 ; Singh *et al.*, 2001).

## 2.3. Protéines totales

Les protéines sanguines sont formées par un groupe hétérogène qui comprend les albumines, le fibrinogène, les  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ -globulines. Elles sont toutes synthétisées par le foie sauf les  $\gamma$ -globulines. Ces dernières sont synthétisées par les plasmocytes et les lymphocytes dans les nœuds lymphatiques, la rate et la moelle osseuse (Verrièle et Bedouet, 1999).

Les hypoprotéïnémies sont présentes dans les maladies graves du foie, le plus souvent en association avec un défaut de synthèse des facteurs de coagulation. Les animaux souffrant de telles affections ont alors tendance à faire des hémorragies (Michell *et al.*, 1989), d'après Radostis *et al.*, (2000) la perte continue de sang lors d'infestation massive par des parasites hématophages peut être une cause d'hypoprotéïnémie.

Les animaux infectés par *T. annulata* ont montré une diminution de la protéinémie du premier jour au 20<sup>ième</sup> jour de l'infection par rapport aux témoins, ensuite à partir du 25<sup>ième</sup> Jour, il y avait une augmentation du niveau de la protéinémie (Yadav et Sharma, 1986).

## 2.4. Bilirubine totale et directe

C'est un pigment biliaire jaune rougeâtre issu de la dégradation de l'hémoglobine du sang (Hunter, 2006). La bilirubine mesurée dans le sang est la bilirubine totale c'est la somme de la bilirubine libre et de la bilirubine conjuguée dite directe.

Son augmentation précède toujours l'expression clinique d'un ictère (muqueuses jaunâtres), lors des anémies hémolytiques elle est liée à l'augmentation du catabolisme des hèmes libérés par l'hémolyse intravasculaire (Achard, 2005).

Contrairement au glucose la bilirubine augmente progressivement du jour 0 de l'infection par *Theileria annulata* au 40<sup>ème</sup> jour (Yadav et Sharma, 1986)

**Tableau II :** Les intervalles des valeurs de références hématologiques et biochimiques chez les bovins

Paramètres	Intervalle de références	Référence bibliographique
Leucocytes (/mm <sup>3</sup> )	4000-1200	
Hématies M/mm <sup>3</sup>	5-10	
Hémoglobine g/dl	8-15	
Hématocrite %	24-46	(Weiss <i>et al.</i> , 2010)
VGM $\mu^3$	40-60	
CCMH %	30-36	
TCMH pg	11-17	
Protides totaux g/L	0.5-0.7	
Albuminémie g/L	30.3-35.5	
Glycémie g/L	0.4-0.7	(Kaneko <i>et al.</i> , 2008)
Bilirubine totale mg/dl	0.01-0.5	
Bilirubine directe mg/dl	0.04-0.442	

---

## Chapitre VI

### LUTE CONTRE LA THEILERIOSE TROPICALE BOVINE

La lutte contre la theilériose bovine est une préoccupation majeure du fait de l'impact économique (pertes en lait, pertes en viande, coût de la lutte...) et médicale de cette parasitose. Elle repose sur la mise en place d'une stratégie prophylactique complète d'une part et l'utilisation du traitement d'autre part.

#### 1. TRAITEMENT

Le traitement médical de la theilériose associe un traitement spécifique à base de médicaments theiléricides et un traitement symptomatique complet. En raison de l'absence de symptômes constants, le risque de mortalité élevé et le coût élevé des theiléricides, le traitement doit être effectué après la confirmation en laboratoire de l'infection. Par ailleurs, les coinfections par plusieurs hémopathogènes sont fréquentes dans les régions enzootiques par exemple les co-infections entre *Babesia* spp. et *T. annulata* et *Anaplasma marginale* (M'ghirbi *et al.*, 2010 ; Gharbi et Darghouth, 2015), ces coinfections doivent être prise en considération lors du traitement.

##### 1.1. Traitement Spécifique (theiléricide)

Depuis le début du siècle, de nombreux médicaments ont été utilisés contre la theilériose.

- La parvaquone a une activité schizonticide, son effet curatif est meilleur contre *T. parva* que sur *T. annulata*, elle est utilisée à la posologie de 20 mg/kg (Kilani et Bouattour, 1984).
- La buparvaquone est un schizonticide le plus actif de la série des naphtoquinones, le meilleur dans les cas avancés, il est 20 fois plus actif que la parvaquone. Sharma et Mishra, (1990) ont testé l'activité de la buparvaquone sur des veaux mâles croisés, infectés expérimentalement par *T. annulata* (Izatnagar isolat) par la voie intramusculaire à raison de 2,5 mg/kg de poids corporel. Une dose unique de

médicament administrée au cours de la phase ascendante de la parasitémie a permis la survie de tous les veaux infectés non traités tandis que tous les veaux témoins infectés sont morts. En Inde, des bovins ont été traités avec de l'oxytétracycline ou la buparvaquone, l'Oxytétracycline guérison de 30,4% des animaux, tandis que la buparvaquone a permis la guérison de la majorité des animaux (98,8%) (Singh *et al.*, 1993).

- L'halofuginone est un coccidiostatique, qui a prouvé son efficacité sur *T. annulata*, il agit comme un schizonticide. Son inconvénient est sa marge de sécurité réduite, qui l'exclut de l'application sur terrain.

## 1.2. Traitement symptomatique

Il est recommandable pour améliorer l'état de l'animal, contre l'anémie, l'entérite, la pneumonie, et l'hyperthermie.

En Algérie le traitement de la theilériose tropicale est toujours associé à un traitement symptomatique, qui fait intervenir des antibiotiques à large spectre, des antipyrétiques, et des anti-inflammatoires.

### 1.2.1. Médication hépatique

Pour protéger le foie des facteurs lipotropes à base de choline, méthionine, inositol sont administrés pour éviter la dégénérescence graisseuse du parenchyme hépatique.

### 1.2.2. Médication tonicardiaques

La Nicéthamide, Héptaminol ou l'adrénaline, à raison de 2 à 3 mg est rajouté dans le sérum glucosé, pour surmonter le cœur.

### 1.2.3. Médication rénale

Les animaux sont aussi perfusés avec du sérum glucosé hypertonique à la dose de 250 ml à 500 ml par animal pendant 2 à 3 jours pour permettre entre autre l'excrétion de l'hémoglobine et d'autres déchets toxiques et maintenir l'alcalinité urinaire.

#### 1.2.4. Médication antianémique

Les bovins malades reçoivent des préparations à base de vitamine B12 ou de sels ferreux. Cependant, sur un animal très anémié, une perfusion de plasmagène ou une transfusion sanguine est envisagée par voie veineuse lente de trois litres de sang prélevées sur anticoagulant soit de l'héparine ou du citrate de soude mais les risques d'incompatibilité de rhésus sont possibles.

## 2. PROPHILAXIE

La theilériose tropicale bovine est une maladie transmise par les tiques du genre *Hyalomma* et étroitement lié à son cycle, de ce fait, la lutte contre cette maladie requière des mesures visant le parasite *T. annulata*, la tique vectrice *H. scupense*, en tenant en considération les caractères biologiques particuliers de cette dernière.

### 2.1. Mise en norme des étables

C'est une mesure qui permet l'éradication des tiques dans une étable, elle consiste à réaliser un crépissage, un lissage, et un blanchissement des murs associés à un nettoyage de toute la région intérieure et extérieure des locaux d'élevage en éliminant les rochers et les tas d'immondices, ce qui permet l'élimination des gîtes de ponte et d'hibernation des tiques afin de réaliser une rupture du cycle de vie de la tique, par la destruction de la tique en dehors de son hôte (la ponte des femelles, larves, nymphes fraîchement écloses en hibernation et les adultes qui viennent de muer) (Gharbi, 2006 ; Gharbi et Darghouth, 2015).

Cette mesure est à adapter pour les tiques endophiles tels que *H. scupense* ou *H. anatolicum* mais elle est sans effet sur les tiques exophile comme *H. lusitanicum* (Gharbi et Darghouth, 2015).

Malgré le caractère endophile de la tique vectrice, les externalités négatives entre les élevages voisins peuvent être à l'origine de transmission (Gharbi, 2006).

## 2.2. Utilisation d'acaricides

Les acaricides visent à réduire la population de tiques en coupant leur cycle de vie, par l'élimination des tiques adultes en été et les tiques immatures (larves et nymphes) en automne (Gharbi et Darghouth, 2015).

En éliminant les tiques, les acaricides permettent de lutter contre toutes les maladies qu'elles transmettent. La méthode classique utilise les acaricides en bains ou en pulvérisations. L'utilisation des acaricides imprégnés (boucles auriculaires), à libération lente à l'inconvénient d'être coûteuse, elle risque d'être à l'origine de contaminations résiduelles de viande et de lait (Boulter et Hall, 1999).

Plusieurs molécules appartenant à différentes familles peuvent être utilisées en fonction de la législation nationale: les organophosphates (trichlorfon, Phoxime, coumaphos, etc.), les pyréthroïdes (deltaméthrine, cyperméthrine, fluméthrine, etc...) et les formamidines (amitraz) (Gharbi et Darghouth, 2015)

L'utilisation continue des acaricides augmente les risques de résistance des tiques aux acaricides, et la rupture de l'immunité anti-tiques, entraîne une perte de l'équilibre de la stabilité endémique, rend les animaux plus sensibles à l'infection (Boulter et Hall, 1999), pour cela l'utilisation des acaricides doit être raisonnée.

## 2.3. Vaccination contre *Theileria annulata*

Les premiers essais de vaccination contre la theilériose tropicale ont été effectués par Sargent *et al.*, (1945) à l'Institut Pasteur d'Alger. L'immunisation des animaux par « prémunition » ou immunité de coïnfection suite à l'isolement de souches peu virulentes par passages, dont la souche « Kouba » de *T. annulata*, a permis à l'époque de vacciner avec succès plusieurs milliers de bovins au Maroc, en Algérie et en Tunisie.

### 2.3.1. La vaccination avec des parasites atténués

La mesure de contrôle la plus répandue contre *T. annulata* est l'inoculation d'un vaccin préparé à partir d'une lignée cellulaire atténuée. Cela implique l'inoculation des cellules infectées par des schizontes dérivés d'une culture de tissus en croissance continue *in vitro*. Le

vaccin de culture cellulaire protège la plupart des races bovines contre une infection homologue et souvent contre une infection hétérologue. Une seule vaccination est généralement suffisante, mais les races exotiques peuvent nécessiter une seconde injection avec une souche hétérologue pour une meilleure protection (Boulter et Hall, 1999). La vaccination confère une stabilité enzootique artificielle. Le développement d'un vaccin atténué efficace contre la theilériose tropicale nécessite l'identification des facteurs épidémiologiques influençant à la fois l'efficacité du vaccin et son innocuité dans les conditions du terrain (Darghouth, 2008). En utilisant des lignées cellulaires injectées par la voie sous-cutanée, le vaccin confère aux animaux une forte immunité contre les souches homologues et plus faible contre les souches hétérologues, son action demeure minime sur l'épidémiologie de l'infection car il ne freine pas l'infection, les bovins vaccinés deviennent des porteurs asymptomatiques pendant plusieurs années (Gharbi et Darghouth, 2015).

Le nombre de passages pour atteindre l'atténuation dépend de la souche du parasite. Dans le cas des souches tunisiennes 100 à 300 passages sont nécessaires pour devenir inactivées, confèrent une durée de protection post-vaccinale supérieure à un an, cette durée de protection post-vaccinale dépend du vaccin. Le stockage du vaccin dans de l'azote liquide dure pendant de nombreuses années, mais sa décongélation en cas de besoin détériore l'efficacité du vaccin et représente 30% du coût du vaccin. Un nouveau système de livraison sans l'azote liquide a été breveté; le vaccin est décongelé sur demande et peut être utilisé pendant les 4 à 6 jours suivants à la température ambiante, sans diminution notable de son efficacité (Gharbi et Darghouth, 2015).

L'atténuation dépend de certains critères :

- L'adaptation de son niveau d'atténuation pour les animaux vaccinés.
- Le vaccin doit protéger pendant au moins une saison de theilériose.
- Le vaccin ne doit pas être transmis aux tiques vectrices.
- Le vaccin doit être inoffensif par les vaches gestantes de moins de 6 mois (Gharbi et Darghouth, 2015).

Plusieurs auteurs ont montré que l'atténuation est un phénomène complexe multifactoriel qui s'accompagne d'une diminution importante voire une disparition de la production de métalloprotéinases, le polymorphisme est réduit avec l'apparition d'une seule population à caractère clonal, les souches atténuées de *T. annulata* soit perdent le gène SPAG-

1, soit présentent des mutations sur les séquences reconnues par les amplicons. Le pourcentage de produits par les souches atténuées produisent un nombre significativement moindre de microschantons par rapport aux souches parentales, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*, en utilisant la différenciation des schizontes en mérozoïtes, l'infection des bovins par des clones à faible potentiel d'induction de cytokines pro-inflammatoires (IL1-alpha, IL1-béta, IL6, TNF alpha) évolue vers une theilériose asymptomatique alors que l'utilisation de clones à potentiel élevé entraîne l'apparition de signes cliniques de theilériose.

Plusieurs antigènes ont été reconnus comme protecteurs et qui pourraient être utilisés en tant que vaccins recombinants à savoir, sporozoïtes antigène 1 (SPAG-1) et *T. annulata* mérozoïtes (Tams) qui ont montré une protection partielle.

Le SPAG-1 a montré une protection partielle contre les souches homologues et hétérologues, mais qui est meilleur en ajoutant un adjuvant (RWL). L'injection de Tams recombinants associés à un (complexe immunostimulant) adjuvant confère une protection relative contre les souches homologues (Gharbi et Darghouth, 2015).

### **2.3.2. La vaccination par infection-traitement**

Une autre méthode de vaccination est la méthode d'infection traitement, comme son nom l'indique, les bovins sont infectés par une dose définie de sporozoïtes et ensuite traités avec un agent chimiothérapeutique, la buparvaquone est le médicament de choix préférable dans le cas de *T. annulata*. La chimiothérapie immédiate après l'infection pourrait supprimer les parasites avant qu'ils aient eu l'occasion de se mettre en place dans les lymphocytes de l'hôte, ce qui entraîne un manque d'immunité. Elle doit être donnée suffisamment tôt pour empêcher le développement des symptômes. Ce type de vaccination offre une immunité solide contre une infection homologues, et selon la source de l'infection, souvent contre une infection hétérologue (Boulter et Hall, 1999).

***PARTIE***  
***EXPERIMENTALE***

*Première partie expérimentale*

**Evaluation de la prévalence de la theilériose tropicale pendant la saison  
estivale dans la région d'El Eulma (Wilaya de Sétif)**

## 1. INTRODUCTION

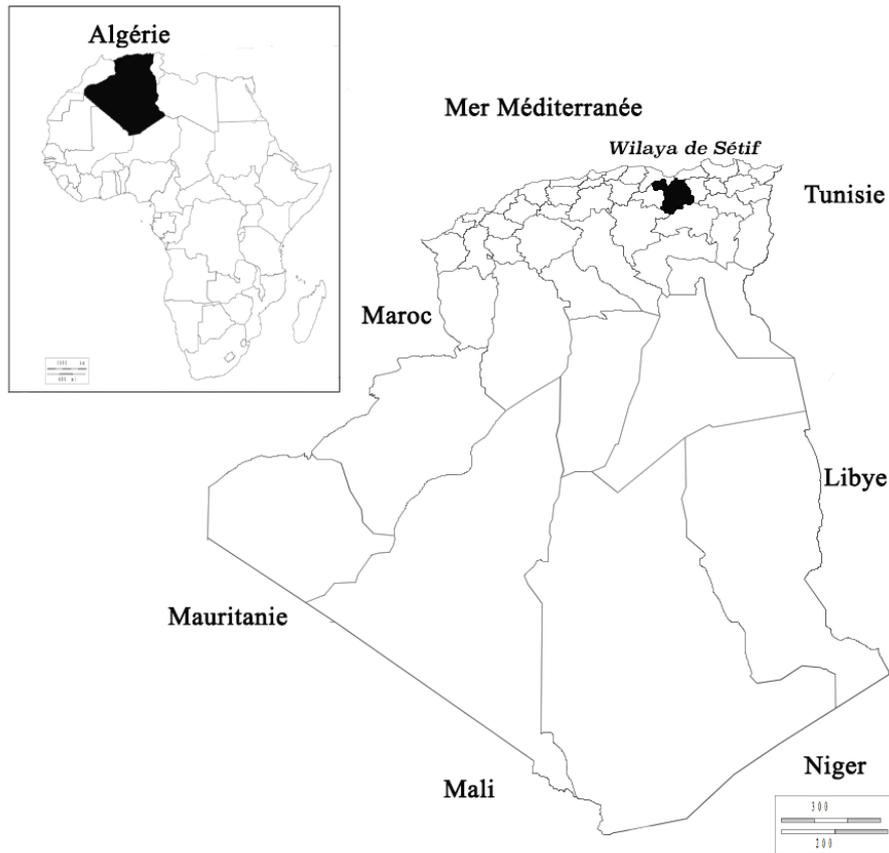
La theilériose tropicale représente une contrainte majeure au développement de l'élevage bovin en Algérie. Cette maladie est à l'origine d'une diminution du poids des animaux, d'une hypogalaxie voire parfois d'un tarissement lacté, d'avortements et quelquefois de mortalité chez les bovins (Gharbi *et al.*, 2011). En Algérie de nombreuses études épidémiologiques ont été consacrées aux piroplasmoses bovines sensu lato dont la theilériose tropicale par Sergent *et al.*, (1945). La theilériose tropicale présente une allure enzootique et se rencontre dans les étages bioclimatiques humides (Ziam *et al.*, 2004), subhumides et semi-arides (Merzkani, 2014) correspondant aux régions favorables à l'évolution biologique de la tique vectrice *H. scupense* (Sergent *et al.*, 1945 ; Bouattour *et al.*, 1999).

L'objet de la présente étude est d'évaluer la prévalence de la theilériose tropicale pendant la saison estivale correspondant à la période d'activité du vecteur, ceci nous permettra d'apprécier le niveau endémique de la maladie dans la région étudiée.

## 2. MATERIELS ET METHODES

### 2.1. Région d'étude

La présente étude a été réalisée dans la région d'El Eulma, wilaya de Sétif (Nord-est de l'Algérie) (Figure 11) entre mai et septembre 2015. L'altitude de cette région varie entre 800 et 1300 mètres. Le climat semi-aride est caractérisé par une pluviométrie moyenne de 482 mm, des étés chauds et secs et des hivers froids avec des températures moyennes de 23,7 et 5,1°C durant l'été et l'hiver respectivement. Le cheptel bovin avec un effectif total de 30.000 têtes, composé de race locale et exotique (Montbéliard, pie noire, pie rouge, fleckvieh) est conduit selon un mode semi-extensif chez les vaches laitières et intensif pour les bovins de boucherie (Direction des services agricoles, 2014).



**Figure 11** : Localisation géographique de la wilaya de Sétif, Algérie

## 2.2. Animaux

Entre mai et septembre 2015, un échantillon de 31 élevages (Annexe 1), représentatif de la population bovine de la région d'étude a été tiré au sort et stratifié sur l'importance relative de ce type d'étables dans la population bovine de la région. Les bovins dont l'âge varie entre 6 et 72 mois, sont de race locale et exotique (Montbéliard, Fleckvieh et la Pie Noire Holstein).

## 2.3. Identification des piroplasmes

Sur chaque bovin suspect clinique, un échantillon de 5 ml de sang sur tube contenant de l'EDTA (acide tétra-acétique éthylène diamine) a été prélevé à partir de la veine jugulaire puis acheminé au Laboratoire de Parasitologie du Département des Sciences Vétérinaires (Université Mentouri, Constantine, Algérie) sous régime du froid. Pour chaque animal, un étalement de sang coloré au Giemsa a été réalisé pour la recherche des formes intra-

érythrocytaires de *Theileria annulata* au microscope optique à l'objectif x100 et à l'huile à immersion. L'identification de l'hémopathogène a été réalisée en utilisant les critères de diagnose de l'Organisation Internationale de la Santé Animale (OIE, 2005).

La parasitémie est calculer comme suit :

Moyenne (Nombre de cellules infectés par les formes piroplamiques /Nombre total de cellules) dans 50 champs.

### **3. ANALYSE STATISTIQUE**

L'analyse statistique à été réalisée en utilisant le test de chi carré avec le logiciel SPSS 21 (IBM Inc.), les différences étaient considérées comme significatives à des valeurs de  $p < 0,05$ . La réalisation des diagrammes a été faite par le logiciel Excel.

---

**RESULTATS****1. EVALUATION DE LA PREVALENCE DE L'INFECTION PAR LES PIROPLASMOSES SENSU LATO**

Sur un total de 1035 bovins examinés entre mai et septembre 2015, issus de 31 élevages, 80 étaient atteints de piroplasmoses *sensu lato* soit une prévalence globale d'infection des animaux de 7,72% (Tableau III).

**Tableau III :** Prévalence d'infection par les piroplasmoses sensu lato au niveau de la région d'El Eulma

<b>Nombre de cas /nombre total d'animaux</b>	<b>Prévalence d'infection des animaux (écart type)</b>
80/1035	7,72% (0,013)

**2. RESULTATS PARASITOLOGIQUES**

L'examen microscopique des étalements sanguins colorés au Giemsa a permis de mettre en évidence trois espèces de piroplasmes : *T. annulata*, *B. bovis* et *B. bigemina*. Des infections mixtes ont été également enregistrées (Tableau IV).

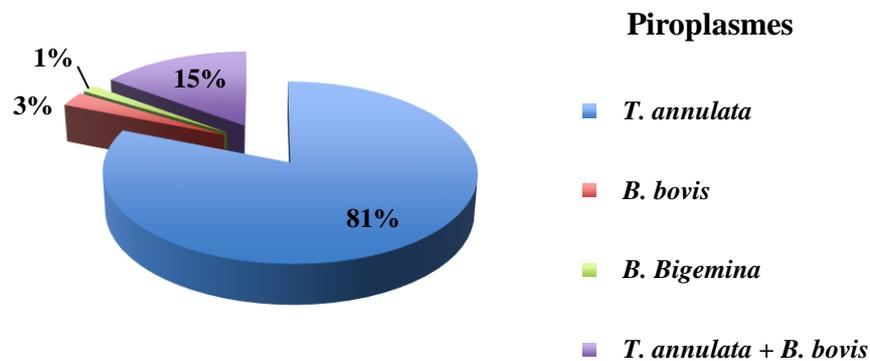
Parmi les 80 étalements réalisés, 6 étalements n'ont montré la présence d'aucun Piroplasma intra-erythrocytaire.

L'analyse des résultats indiqués dans le tableau IV montre une prédominance de la theilériose à *T. annulata* soit 81,9% (60/74) des cas cliniques diagnostiqués. Il existe une différence significative entre la prévalence d'infection par les différentes espèces de piroplasmes pathogènes ( $p < 0,001$ ).

Le diagnostic clinique de la theilériose tropicale a été posé essentiellement sur la présence d'une forte hyperthermie et d'une adénomégalie (hypertrophie des ganglions préscapulaire et précurrale le plus souvent).

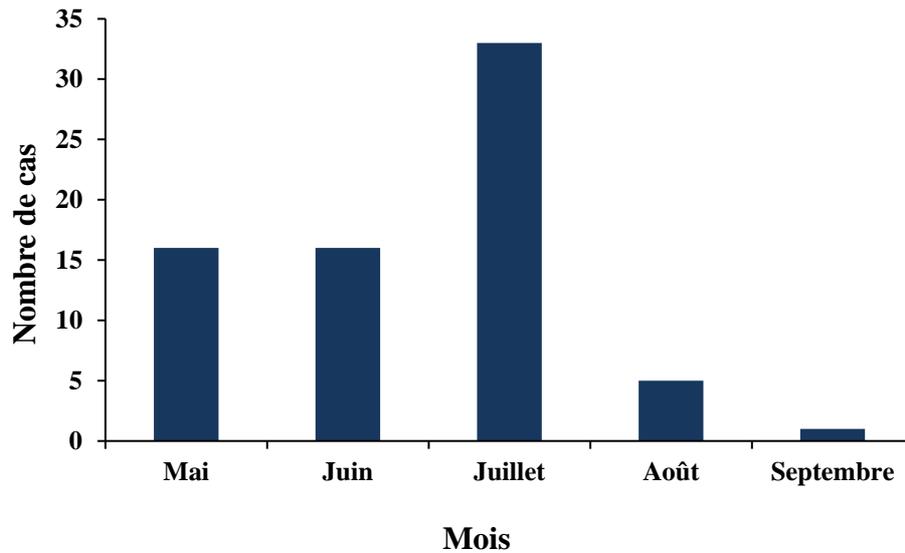
**Tableau IV** : Prévalence des piroplasmoses durant la saison estivale.

Espèce de piroplasmoses	Nombre de cas/nombre d'animaux	Prévalence % (écart type)
<i>T. annulata</i>	60/74	81,2 (0,046)
<i>B. bovis</i>	2/74	2,7 (0,019)
<i>B. Bigemina</i>	1/74	1,4 (0,013)
<i>T. annulata</i> + <i>B. bovis</i>	11/74	14,9 (0,041)



**Figure 12** : Fréquence d'infections par les différentes espèces de piroplasmoses

Le pathogène le plus fréquent était *T. annulata* (81,2%) alors que les infections par *B. bovis* (2,7%) et *B. bigemina* (1,4%) étaient rares. Les co-infections dues à *T. annulata* et *B. bovis* étaient assez fréquentes (14,9%) (Figure 12).



**Figure 13 :** Distribution saisonnière des cas de theilériose tropicale.

Les premiers cas cliniques de theilériose ont été enregistrés vers la troisième semaine du mois de mai avec un pic d'incidence clinique en juillet où 33 cas ont été diagnostiqués chez les bovins (Figure 13).

### 3. EVALUATION DU TAUX DE PARASITEMIE SELON L'ESPECE DE PIROPLASMES

Les résultats de l'évaluation de la parasitémie indiquent des taux différents de l'infection par *T. annulata* : 75% (45/60) des bovins ont une parasitémie comprise entre 0,1-4,99%, 30% (18/60) : entre 5-9,99%, alors que 13,3% (8/60) des animaux sont fortement infectés avec un taux de parasitémie compris entre 10-16,99%. La parasitémie de l'infection par *B.bovis* est faible, elle est comprise entre 0,1 – 1,99% pour les 13 cas de babésiose à *B. bovis* (Tableau V).

Tableau V : Taux de parasitémie en fonction de l'espèce de piroplasmes

Parasitémie (%)	Nombre de cas		
	<i>Theileria annulata</i>	<i>Babesia bovis</i>	<i>Babesia bigemina</i>
0,1 - 0,99	9	10	1
1 - 1,99	7	1	
2 - 2,99	11		
3 - 3,99	9		
4 - 4,99	9		
5 - 5,99	5		
6 - 6,99	4		
7 - 7,99	2		
8 - 8,99	4		
9 - 9,99	3		
10 - 10,99	1		
11 - 11,99	2		
12 - 12,99	3		
13 - 13,99	1		
16 - 16,99	1		

---

## DISCUSSION

La theilériose tropicale est une maladie vectorielle dont l'impact économique dans les élevages bovins est considérable. Elle constitue un véritable frein au développement de l'élevage bovin dans les pays de l'Afrique du Nord (Sergent *et al.*, 1945 ; Darghouth *et al.*, 1999 ; Gharbi *et al.*, 2014 ; Rahali *et al.*, 2014). Devant le manque de données relative à l'épidémiologie de cette infection grave, une étude épidémiologique descriptive de la maladie a été réalisée dans une région située dans l'étage bioclimatique semi-aride dans le nord-est de l'Algérie.

Les résultats épidémiologiques de la présente étude ont montré le caractère endémique des piroplasmoses sensu lato dans les élevages bovins dans la région d'El Eulma située dans l'étage bioclimatique semi-aride avec une prédominance de la theilériose tropicale (81,2% pour *T. annulata* vs 2,7% pour *B. bovis* et 1,4% pour *B. bigemina*). En Algérie, Sergent *et al.*, (1945) ont rapporté dans une étude étalée sur 22 ans que plus de la moitié (57,6%) des cas annuels de piroplasmoses bovines sensu lato sont dus à la theilériose tropicale. Des résultats similaires ont été enregistrés par Ziam et Benaouf, (2004) où 53,7% des bovins étaient atteints de theilériose tropicale à *T. annulata* dans les régions humides d'Annaba et El Tarf (Nord-est de l'Algérie). Plus récemment, le caractère hyper-endémique de la theilériose tropicale a été également rapporté dans les régions semi-aride (Oum El Bouaghi : 64,3%) et sub-humide (Skikda : 63,2%) (Merzkani, 2014). En Algérie, la theilériose tropicale présente une allure enzootique et se rencontre dans les étages bioclimatiques humides, subhumides et semi-arides correspondant aux régions favorables à l'évolution biologique de la tique vectrice *H. scupense* (Sergent *et al.*, 1945 ; Bouattour *et al.*, 1999). La prédominance de la theilériose tropicale a été observée au Maroc dans diverses régions d'élevages de bovins laitiers : 41 % pour *T. annulata* (vs 13% pour *B. bigemina*) à Doukkala, 27 % (vs 14% pour *B. bigemina*) au Gharb, 66 % (vs 16% pour *B. bigemina*) au Haouz (El Hadj *et al.*, 2002). En Tunisie, la majorité des cas cliniques de theilériose tropicale est observée dans la zone subhumide et semi-aride où le vecteur *H. scupense* est la tique commune (Bouattour, 1996 ; Darghouth *et al.*, 1999 ; Bouattour, 2001). Des coinfections, avec association *T. annulata* et *B. bovis* (14,9%) ont été notées dans la présente étude. Ce résultat pourrait être expliqué par une infection naturelle simultanée des animaux par ces deux espèces trouvées dans les fermes étudiées. De fortes prévalences d'infections mixtes ont été rapportées par Ziam et Benaouf, (2004) et Merzkani,

(2014) : 20,3% et 29% respectivement en Algérie, M'Ghirbi *et al.*, (2009) : 25% en Tunisie et Ait Hamou *et al.*, (2012) : 27,9% au Maroc. La présente étude a montré que le pic d'incidence clinique de la theilériose tropicale a été enregistré au mois de juillet période correspondant au pic d'infestation par la tique vectrice, *Hyalomma scupense*. Sergent *et al.*, (1945) ont observé une forte infestation des bovins par les jeunes adultes de *H. scupense* en juillet, et l'endémie atteint le maximum de son intensité. Plus récemment, Merzkani, (2014) a montré une corrélation significative entre l'incidence des cas de theilériose tropicale et l'abondance des *H. scupense* adultes chez les bovins. Le pic d'incidence cliniques et du nombre de tiques adultes a été enregistré en juillet. Par ailleurs, Sergent *et al.*, (1945) ont rapporté que les cas cliniques de theilériose tropicale étaient plus graves lors de sirocco en raison d'une intensité d'infestation plus élevée par les tiques adultes *H. scupense*.

La forte endémicité de la theilériose tropicale avec des taux de parasitémie parfois élevés (>10%) et la présence des babésioses devraient motiver la mise en œuvre d'un programme de lutte contre les piroplasmoses bovines sensu lato dans la région étudiée. Aussi, le programme de lutte anti-vectorielle devra être adapté en fonction de la biologie et de la dynamique saisonnière des tiques vectrices de ces infections.

*Deuxième partie expérimentale*

**Étude de la prévalence, séquençage et paramètres influençant la prévalence de la theilériose tropicale bovine chez les porteurs asymptomatiques dans la région de Sétif (Nord de l'Algérie)**

## 1. INTRODUCTION

*Theileria annulata*, est un protozoaire parasite des bovins et des buffles domestiques (*Bubalus bubalis*), il est transmis par les tiques du genre *Hyalomma* (Sergent *et al.*, 1945 ; Robinson, 1982 ; Darghouth, 1988 ; Salih *et al.*, 2005 ; El Hussein *et al.*, 2012). La theilériose tropicale bovine est due à la présence et la multiplication de ce parasite dans les leucocytes puis dans les érythrocytes, elle se manifeste par une anémie progressive et sévère (Jain, 1993 ; Gharbi *et al.*, 2012). La distribution de cette maladie s'étend du sud de l'Europe, l'Afrique du Nord, le Moyen Orient, l'Inde et jusqu'en Chine (Uilenberg, 1981 ; d'Oliveira *et al.*, 1997). Dans le Maghreb, elle représente une dominante pathologique du bétail (Ziam et Benaouf, 2004). Généralement, les bovins autochtones sont plus résistants à la theilériose et développent une forme subclinique de la maladie (Robinson, 1982; Katzer *et al.*, 1998 ; Gamal et El- Hussein, 2003). Le taux de mortalité enregistré chez les animaux indigènes est beaucoup plus faible (environ 10%) limitée principalement aux veaux, les races exotiques pures sont très sensibles à l'infection atteignant des taux de mortalité élevés (de 40 à 80%). Cette sensibilité représente une contrainte majeure à l'amélioration génétique des élevages bovins (Hashemi-Fesharki, 1988).

Les bovins guéris de la maladie demeurent porteurs pendant une longue période et au cours de cette période, seules un faible nombre d'hématies sont parasités et dont la mise en évidence à l'examen microscopique est difficile (Kirvar *et al.*, 2000). Ces porteurs chroniques deviennent des sources d'infection pour les tiques vectrices, ils sont impliqués dans la propagation de l'infection et ont un rôle important dans l'entretien du cycle biologique du parasite (Ilhan *et al.*, 1998 ; Aktas *et al.*, 2006). Le diagnostic précis de la theilériose chez les bovins porteurs est un paramètre épidémiologique important pour déterminer les conditions immunologiques des animaux et aussi pour mettre en place des programmes de lutte à l'encontre de cette maladie (d'Oliveira *et al.*, 1995 ; Ilhan *et al.*, 1998).

Plusieurs méthodes de diagnostic sont utilisées pour la détection de *Theileria annulata* chez les bovins parasités. La méthode courante utilisée est l'examen microscopique des frottis sanguins colorés au Giemsa. Cette technique est généralement suffisante pour la détection des infections aiguës, mais a une faible sensibilité dans le diagnostic des bovins porteurs asymptomatiques dont la parasitémie est très faible (Shayan et Rahbari, 2005 ; Altay *et al.*, 2008).

La biologie moléculaire a permis la détection, l'identification et la caractérisation génétiques de nombreux hémoparasites. Parmi les techniques, nous citons la PCR, c'est une méthode spécifique, elle a été développée pour la détection et l'identification des espèces de *Theileria* et a révélé une sensibilité et une spécificité plus élevées comparée aux tests sérologiques et l'examen des étalements sanguins colorés au Giemsa (Dumani *et al.*, 2005 ; Azizi *et al.*, 2008 ; Kattak *et al.*, 2012).

## 2. OBJECTIF DU TRAVAIL

L'objectif de la présente étude est d'utiliser un outil moléculaire spécifique et sensible, la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), d'une part pour estimer la prévalence de *T. annulata* chez les bovins cliniquement sains (porteurs asymptomatiques) avant et après la saison de la theilériose tropicale (période estivale) et la comparer avec l'examen des étalements sanguins colorés au Giemsa. Par ailleurs, nous évaluerons l'influence des facteurs de risque sur la prévalence de *T. annulata* durant les deux périodes d'étude.

## 3. PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE

La présente étude a été réalisée dans la région d'El Eulma, wilaya de Sétif (nord est algérien) (Figure 14). L'altitude de cette région varie entre 800 et 1300 m. Elle est caractérisée par un climat continental semi-aride avec des étés chauds. La température moyenne annuelle est de 13,5°C, juillet est le mois le plus chaud de l'année avec une température moyenne de 23,7°C. Janvier est le mois le plus froid de l'année avec une température moyenne de 5,1°C.

La pluviométrie annuelle moyenne est de 482 mm, la pluviométrie minimale se situe en juillet avec seulement 8 mm. Janvier enregistre le plus haut taux de précipitations avec une moyenne de 67 mm (Figure 15) (Centre météorologique de Sétif, 2014).

La région d'El Eulma comporte un effectif total de 30000 bovins de races locale et importées (Montbéliard, Pie Noire, Pie Rouge, Fleckvieh) conduits selon un mode semi-extensif et intensif pour les bovins de boucherie (Direction des services agricoles, 2014).

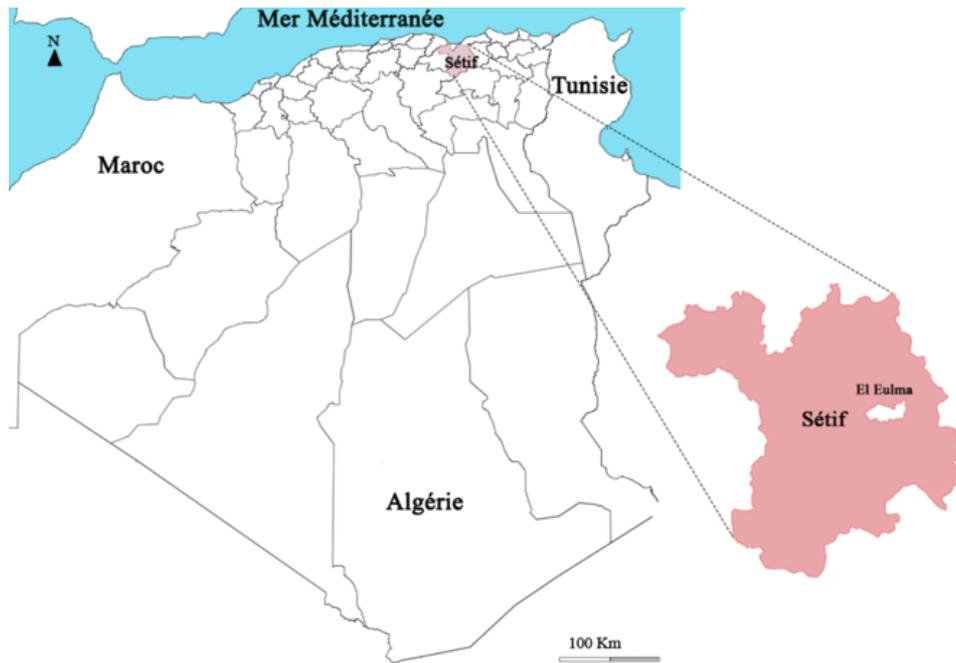


Figure 14 : Localisation géographique de la région d'El Eulma, Algérie

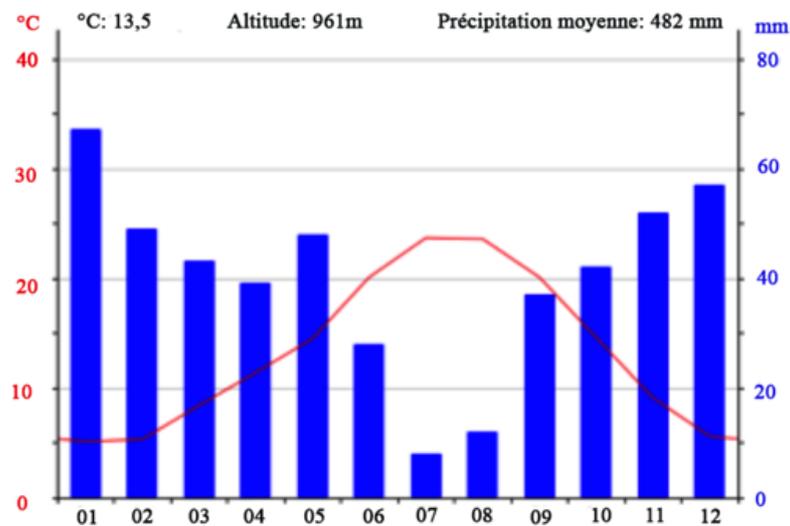


Figure 15 : Diagramme climatique de la région d'El Eulma (Centre météorologique de Sétif, 2014)

## 4. MATERIELS ET METHODES

### 4.1. Prélèvements et choix des animaux

Le suivi a été réalisé dans 21 fermes qui ont été choisis au hasard dans la région d'El Eulma commune de Sétif. Tous les bovins inclus n'avaient aucun symptôme de la theilériose tropicale bovine. Un total de 180 échantillons sanguins sur tubes EDTA ont été collectés

durant avril 2015 et 134 échantillons durant novembre 2015. Les bovins étaient âgés entre 3 mois et 7 ans. Quarante six bovins n'ont pas été retrouvés après l'été et ne sont pas retenus dans l'enquête. Les échantillons ont été conservés au froid à la température de  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'à leur acheminement au laboratoire de Parasitologie de l'Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet, Tunisie.

## **4.2. Techniques du laboratoire**

### **4.2.1. Examen microscopique**

L'examen microscopique des étalements sanguins colorés au Giemsa a été utilisé pour le diagnostic des formes érythrocytaires des hémopathogènes (theilériose, babésiose). Les étalements sanguins ont été fixés au méthanol puis colorés au Giemsa et enfin examinés au microscope optique au Laboratoire de Parasitologie de l'Institut Vétérinaire d'El Khroub, Constantine, Algérie.

#### 4.2.1.1. Protocole

Une petite goutte de sang est déposée à l'extrémité de la lame, le sang est ensuite étalé avec une autre lame à bords rodés selon un mouvement régulier (Figure 16). Les bords et la queue de l'étalement sont minutieusement observés lors de l'examen microscopique car ils sont souvent riches en parasites intra-érythrocytaires.

Après avoir laissé sécher l'étalement, il est fixé par le May-Grünwald pure pendant 3 minutes, après rinçage avec de l'eau distillée tamponnée ( $\text{pH} = 7,2$ ), il est coloré avec une solution de Giemsa diluée au  $1/10^{\text{ième}}$  dans de l'eau distillée tamponnée pendant 30 minutes. La lame est ensuite séchée en position verticale à la température ambiante.

Les lames ont été examinées au microscope optique avec un objectif de 100x, à l'huile d'immersion ; sur chaque lame, 100 champs ont été examinés.

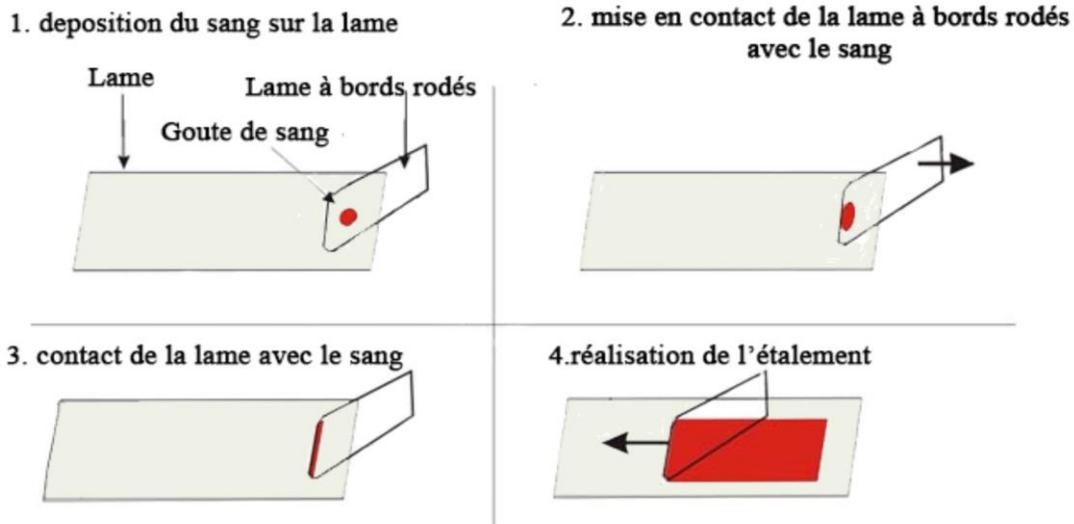


Figure 16 : Technique d'étalement de sang

#### 4.2.2. Technique moléculaire

##### 4.2.2.1. Extraction de l'ADN

L'extraction d'ADN à partir des échantillons de sang total a été réalisée au laboratoire de Parasitologie de l'ENMV de Sidi Thabet (Tunisie) en utilisant le kit d'extraction BIO BASIC INC (Markham, Canada) en suivant les instructions du fabricant :

Un volume de 300  $\mu\text{l}$  de sang total a été mélangé avec 900  $\mu\text{l}$  de solution de *RBC Lysis Solution* dans des tubes Eppendorf stériles de 1,5 ml.

Le mélange a été incubé pendant 10 min à la température ambiante et inversé lentement plusieurs fois au cours de l'incubation, ensuite centrifugé pendant 20 s à 13 000 - 16 000 xg.

Le surnageant est enlevé et le culot a été remis après vortexage pendant 10 s en suspension dans 300  $\mu\text{l}$  de *Cell Lysis Solution*.

Ensuite, 100  $\mu\text{l}$  de *Protein Precipitation Solution* ont été ajoutés au culot et vortexé vigoureusement pendant 20 s pour bien mélanger.

Le mélange a été centrifugé pendant 1 min à 13 000 - 16 000 g afin que la précipitation des protéines forme une pastille de couleur brun foncé.

Le surnageant a été mis dans des tubes Eppendorfs de 1,5 ml contenant 300 µl de 100% de l'isopropanol.

Après avoir mélangé en inversant soigneusement, le tube a été centrifugé à 13.000 – 16.000 g pendant 1 min.

Après avoir jeté le surnageant, 300 µl d'éthanol 70% ont été ajoutés.

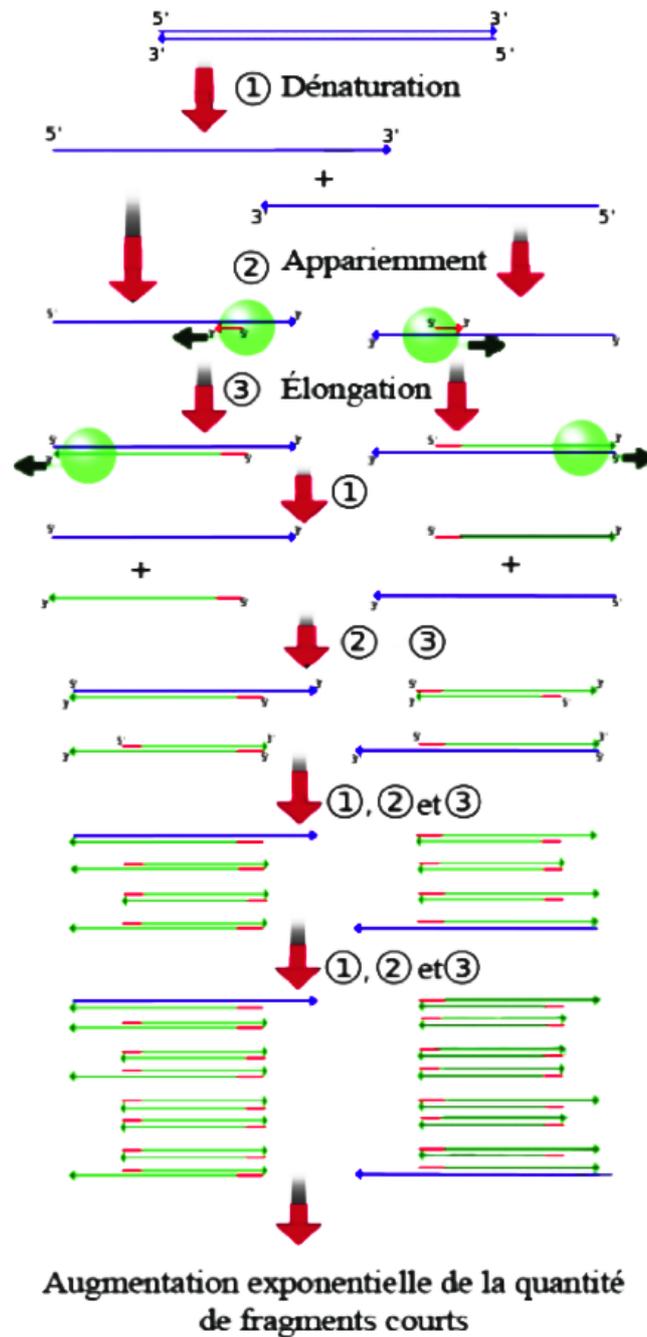
Le tube a été mélangé et centrifugé à 13 000 - 16 000 g pendant 1 min, l'éthanol a été retiré et les tubes ont été séchés a température ambiante.

Enfin, 100 µl de *DNA Hydratation Solution* a été ajouté et mélangé soigneusement. L'ADN a été congelé à – 20°C, jusqu'à utilisation.

#### 4.2.2.2. Réaction de polymérisation en chaîne

La PCR permet l'amplification d'un segment d'ADN compris entre 2 régions de séquences connues en multipliant spécifiquement le segment d'ADN d'intérêt (aussi appelé ADN cible) et synthétiser le brin complémentaire d'une séquence à partir d'une amorce. Deux amorces oligonucléotidiques de synthèse complémentaires des extrémités 5' des 2 brins d'ADN sont utilisées. Une de ces amorces est complémentaire du brin codant et une autre du brin non codant. Sous l'action d'une enzyme, ADN polymérase, chaque amorce est allongée dans le sens 5'-3' (Krieger, 1999).

Chaque cycle de PCR est composé de trois étapes : la dénaturation permettant la séparation des brins d'ADN, une hybridation des amorces avec l'ADN à étudier et enfin une élongation par une ADN polymérase ADN dépendante (Figure 17). La répétition des cycles aboutit à une amplification exponentielle de la séquence cible donnant théoriquement  $2^n$  copies, tel que n est le nombre de cycle (généralement entre 30 et 50). Les amorces sont spécifiques du fragment d'ADN à amplifier.



**Figure 17** : Différents cycles de la Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR)

(<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/8/87/PCR.svg/220px-PCR.svg.png>)

La réaction se déroule dans un thermocycleur, c'est un appareil qui permet de faire varier la température en fonction du temps pour réaliser plusieurs cycles, dont le nombre est compris entre 30 et 50 cycles, pour permettre l'obtention d'un signal détectable sur le gel.

1. L'ADN est d'abord dénaturé pendant environ 5 minutes à une température d'environ 95°C, les deux brins d'ADN sont ainsi séparés. Cette dénaturation initiale est suivie d'une

autre dénaturation cyclique moins longue.

2. Après la dénaturation la température diminue entre 45 et 60°C, elle dépend de la quantité des amorces qui vont s'hybrider avec l'ADN à tester.

3. La température est augmentée à 72°C environ pendant 4 à 120 secondes, ce qui permet à l'ADN polymérase de polymériser les amorces hybridées dans le sens 5'-3' en utilisant des nucléotides. Ce brin est synthétisé à partir des nucléotides libres présents dans le milieu réactionnel. Cette étape permet donc l'élongation de l'amorce, sa durée est proportionnelle à la longueur du segment à amplifier.

Au fur et à mesure du déroulement de la réaction, les copies d'ADN s'accumulent et modifient le milieu réactionnel. La viscosité augmente, les amorces et les oligonucléotides disponibles pour d'autres réactions diminuent. De plus, la synthèse de l'ADN est accompagnée de la libération d'ions pyrophosphates, qui, à une concentration élevée, inhibent l'activité de l'ADN polymérase.

### Technique

Le mélange de la réaction de PCR Mix a été préparé comme suit :

2,5 µl du tampon de la Taq ; 15,25 µl d'eau de qualité biologie moléculaire, 1,5 µl de MgCl<sub>2</sub> ; 1 µl de dNTP, les amorces TAMS: 1,25 µl de l'amorce N516 (5'-GTAACCTTTAAAAACGT-3'); 1,25µl de l'amorce N517 (5'-GTTACGAACATGGGTTT-3'), 0,25 µl de Taq et 2 µl d'ADN génomique. Le volume final était de 25 µl pour une seule réaction. Les échantillons ont été ensuite placés dans un thermocycleur (ESCO Swift MaxPro, Kintex, Korea) en utilisant le programme suivant : une étape de dénaturation pendant 5 mn à 94°C, suivie par 30 cycles (94, 55 et 72°C chacune pendant 1 minute), et une étape d'extension finale de 1 minute à 72°C.

#### 4.2.2.3. Analyse par électrophorèse

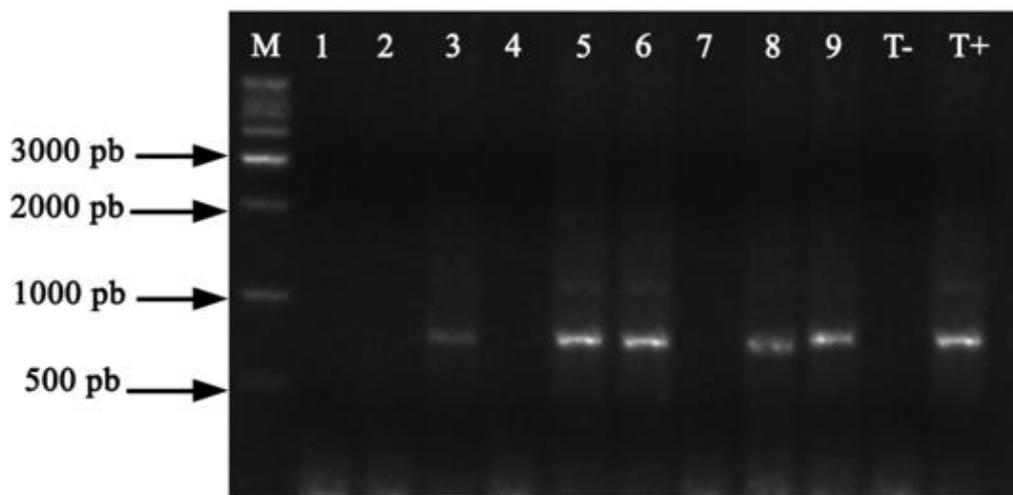
##### Principe

L'électrophorèse sur gel d'agarose permet la séparation des fragments d'ADN qui migrent selon leurs tailles sous l'action d'un champ électrique du pôle négatif au pôle positif à cause des charges négatives de ces groupements phosphate triacide qui cèdent un proton H<sup>+</sup>,

la vitesse de migration est inversement proportionnelle à la taille des fragments d'ADN. Les fragments sont ensuite visualisés par un composé fluorescent intercalent de l'ADN sous la lumière ultraviolette, le bromure d'éthidium (BET) (Sigma) ajouté à une concentration finale de 1 ng/ml (5%) se fixe sur les acides nucléotidiques.

### Protocole

Une quantité de 0,5 g d'agarose est ajouté à un volume de 50 ml de TBE. Le mélange est chauffé au micro-onde jusqu'à une température entre 41-42°C, un volume de 2,5 µl de bromure d'éthidium (BET) à une concentration finale de 1 ng/ml est ajouté. Le mélange est versé dans un récipient permettant la formation du gel, un peigne permettant la construction des puits pour le dépôt des ADN amplifiés est placé dans ce récipient avant le versement du gel qui est à l'état liquide puis retiré après la solidification du gel. Le gel pourvu de puits est ensuite placé dans une cuve d'électrophorèse remplie de tampon de migration TBE 1x. Un volume de 5 µl d'ADN est mélangé avec un volume de 5 µl de bleu de bromophénol concentré 5x comme tampon de charge permet à l'ADN de couler au fond des puits. La migration est effectuée sous une différence de potentiel de 10 volts/cm de gel (30 min – 45 min), les fragments d'ADN sont visualisés grâce à l'effet intercalent du bromure d'éthidium et à sa fluorescence sous UV (Figure 18).



**Figure 18** : Photographie du gel d'agarose (1,5%) montrant les amplifiats des échantillons positifs à *Theileria annulata*

M : marqueur de taille 1Kb. Les puits 3 ,5 ,6 ,8 ,9 sont positifs, ces puits contiennent les amplifiats possédant une taille de une taille de 721 pb spécifique à *Theileria annulata*, les deux derniers puits contiennent un témoin négatif (T-) et un témoins positif (+)

## 4.2.2. Séquençage de l'ADN et analyses phylogénétiques

### 4.2.2.1. Purification des produits de la PCR

#### Principe

Les séquences amplifiées ont été purifiées en utilisant le kit de purification « *Wizard SV Gel and PCR Clean - Up System* » (Promega, Madison, USA) permettant la purification du fragment d'ADN cible amplifié à partir de 45 µl d'ADN intégré dans un gel d'agarose additionné par le bromure d'éthidium (BET). Le pourcentage de récupération des fragments d'ADN est proportionnel à la taille de ces derniers.

Les fragments d'ADN amplifiés possèdent des tailles comprises entre 500 et 1000 pb, donc le pourcentage de récupération de ces amplifiats varie entre 89 et 92%.

Le produit de la PCR a été purifié en enlevant l'excès de nucléotides et d'amorces, par un système de purification basé sur une membrane de sélection qui peut contenir 40 µg d'ADN au maximum, en se basant sur la capacité de l'ADN à se lier à la membrane de silice en présence de sels chaotropiques.

Après la dissolution du gel en présence d'une solution liée à la membrane de guanidine isothiocyanate (en anglais Membrane Binding Solution), l'ADN cible a été isolée par microcentrifugation en forçant le morceau du gel dessolé à passer à travers la membrane.

Après le lavage de l'ADN isolé, l'amplifiât attaché à cette membrane a été élué avec de l'eau excepte de nucléase.

#### Protocole

Pour un échantillon, un volume de 1000 µl d'éthanol (95%) est ajouté à un volume de 200 µl de la solution concentrée de lavage de la membrane (Membrane Wash Solution).

Le protocole de purification comporte les étapes suivantes :

1- Après l'analyse des produits de la PCR par électrophorèse sur gel d'agarose à 1% additionné de TBE comme tampon et la visualisation des bandes correspondantes aux fragments d'ADN étudiés, un tube Eppendorf pour chaque échantillon a été pesé et son poids noté.

2- Afin de réduire les cassures d'ADN, l'exposition de l'ADN aux UV a été minimisée (Cariello, 1988 ; Grundemann et Schomig, 1996 ; Hengen, 1997 ; Zimmermann *et al.*, 1998).

3- Après la photographie du gel, le fragment d'ADN d'intérêt est excisé dans un volume minimum de gel d'agarose en utilisant un scalpel. Ce morceau du gel a été transféré dans le tube Eppendorf déjà pesé. Le poids du fragment du gel a été obtenu par la détermination du poids du tube pourvu du gel et par la soustraction du poids du tube vide du poids du tube contenant le fragment du gel. Le poids de ce dernier était de 150 à 250 mg.

4- Un volume de 150 et 250 µl de la solution liée à la membrane de liaison (appelé en anglais *Membrane Binding Solution*) est ajouté au tube pourvu du morceau du gel d'agarose.

5- L'ensemble est mélangé vigoureusement avec un vortex et incubé à 65°C pendant 10 minutes jusqu'à dissolution du gel.

Après quelques minutes les tubes sont mélangés une autre fois avec un vortex augmentant ainsi la vitesse de fusion du gel d'agarose.

Une centrifugation brève des tubes à température ambiante est nécessaire afin de s'assurer que le contenu se trouve au fond du tube.

6- Chaque tranche de gel dissoute a été placée dans un tube menu de colonne (*SV Minicolumn*). Ce tube est placé sur un autre tube appelé tube collecteur. Les deux tubes combinés (*SV Minicolumn Assembly*) sont incubés pendant une minute à température ambiante.

7- Après une centrifugation de l'ensemble à 16000 g pendant une minute, le tube pourvu de membrane est enlevé de l'ensemble et le liquide trouvé dans le tube collecteur est jeté.

8- Après le remplacement du tube pourvu de membrane sur le tube collecteur, la membrane a été lavée deux fois : une fois avec 700 µl de la solution de lavage de la membrane (*Membrane Wash Solution*) suivie d'une centrifugation de l'ensemble des deux tubes combinés à 16000 g pendant une minute et une autre fois avec 500 µl seulement par la même solution, suivie d'une autre centrifugation à 16000 g pendant 5 minutes. Le tube collecteur est vidé après la première centrifugation.

9- Après la dernière centrifugation, le tube collecteur est vidé une deuxième fois et les deux tubes combinés sont centrifugés à nouveau pendant une minute en laissant le couvercle ouvert afin de laisser évaporer l'éthanol résiduel.

10- La colonne (*SV Minicolumn*) où les fragments d'ADN ont été fixés, a été transférée du tube collecteur à un tube Eppendorf. Un volume de 25 µl d'eau exempte de nucléase (*Nuclease Free Water*) a été déposé dans le centre de la colonne.

Les deux tubes combinés ont été incubés pendant une minute à température ambiante et centrifugés une minute à 16000 g permettant ainsi le passage des fragments d'ADN de la colonne vers le tube Eppendorf.

11- Enfin, les deux tubes ont été séparés, le tube menu de colonne a été jeté et le tube Eppendorf pourvu de l'amplifiât élué et purifié a été stocké à -20°C.

#### 4.2.2.2. Séquençage automatique

##### Principe

Le séquençage des produits de PCR purifiés est réalisé au laboratoire Microorganismes et Biomolécules Actives (Faculté des Sciences Mathématiques, Physiques et Naturelles de Tunis) par la méthode de Sanger en utilisant un séquenceur automatique.

La réaction de séquence consiste en une synthèse *in vitro* d'ADN avec une incorporation aléatoire de di-désoxyribonucléotides.

La matrice qui est un fragment d'ADN purifié doit être présente en grande quantité (> 100 millions de copie dans le tube de réaction). Elle est mise en contact avec un mélange réactionnel comprenant une ADN polymérase (Taq polymérase), une amorce s'hybridant en 3' du fragment à séquencer, un tampon et un mélange de dNTP + ddNTP. Chaque ddNTP porte un fluorochrome spécifique (Tableau VI). Le ratio ddNTP / dNTP est de l'ordre de 1/100. Il existe donc 100 fois plus de chance d'incorporer un dNTP qu'un ddNTP. L'incorporation d'un ddNTP bloque la réaction d'élongation ce qui engendre la formation d'un fragment plus court que le fragment d'origine.

**Tableau VI:** Tableau représentatif de la couleur du fluorochrome de chaque di-désoxyribonucléotide

<b>ddNTP</b>	<b>Fluorochrome</b>	<b>Couleur</b>
ddGTP	R110	Noir
ddTTP	TAMRA	Rouge
ddATP	R6G	Vert
ddCTP	ROX	Bleu

La synthèse d'ADN est complémentaire de la matrice initiale. Lorsqu'il existe une Adénine sur un brin de matrice, une incorporation d'un dTTP ou d'un ddTTP fluorescent va être effectuée.

Si le fragment de PCR initial comporte 300 A, comme la réaction est faite avec un très grand nombre de copie de la matrice, une incorporation d'un ddATP va être établie à toutes les positions possibles (incorporation aléatoire) et 300 fragments néosynthétisés porteurs du ddTTP fluorescent et de taille différente vont être présents dans le tube.

Cette réaction est effectuée simultanément avec les 4 ddNTP. Ainsi, pour un produit de PCR de 1400 pb, il y aura donc génération de 1400 fragments fluorescents ne différant que d'une paire de base.

#### Préparation des produits de la PCR

Les produits de la PCR ont été testés sur un gel d'agarose à 1% puis déposés sur la plaque de séquençage à 96 puits. Si les échantillons sont concentrés en produits de PCR, une dilution est nécessaire. Le tableau VII met en évidence la quantité de matrice nécessaire et suffisante pour la réaction de séquençage.

**Tableau VII :** Tableau représentatif de la quantité de matrice nécessaire pour le séquençage en fonction de la taille des échantillons analysés

Taille (pb)	Quantité nécessaire (ng)
100-200	1-3
200-500	3-10
500-1000	5-20
1000-2000	10-40
>2000	20-50

Dans chaque puits de la plaque, deux enzymes et de l'eau bi-distillée stérile ont été ajoutées selon les volumes suivants :

- 0,5 µl de l'enzyme Exonucléase I à concentration de 10 unités/µl. Cette enzyme permet d'éliminer les amorces libres grâce à son activité exonucléasique.

- 0,5 µl de l'enzyme *Shrimp Alkaline Phosphatase* (SAP) à concentration de 5 unités/µl. La SAP permet d'enlever les phosphates en 5' des dNTP et donc rend leur incorporation dans l'ADN impossible.

- 4 µl de H<sub>2</sub>O bi-distillée stérile

Le volume réactionnel dans chaque puits était alors de 10 µl (Tableau VII). Une incubation de la plaque a été effectuée dans le thermocycleur pendant :

- 40 min à 37°C ce qui permet l'action des enzymes
- 20 min à 80°C ce qui permet la dénaturation des enzymes.

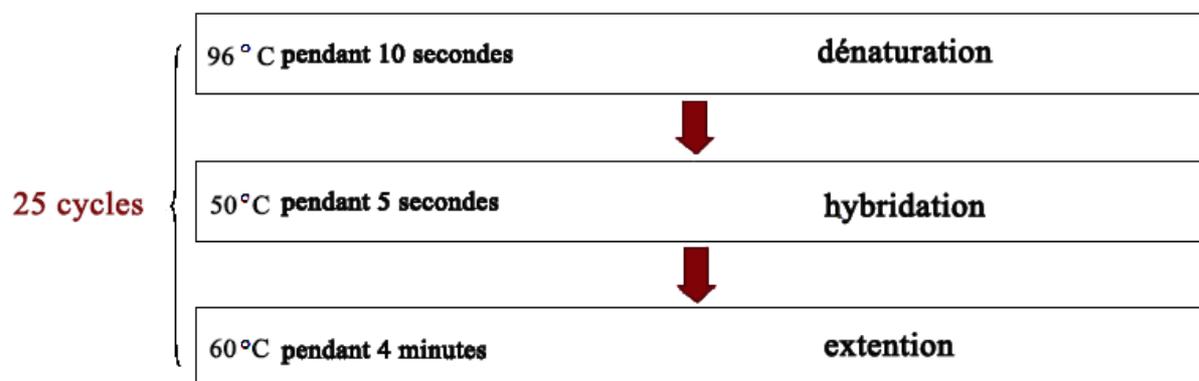
#### Réaction de séquençage

Après l'étape de purification, les réactifs suivants sont déposés dans chaque puits : 1 µl d'amorce directe ou inverse à 3,2 pmol/µl, 4 µl de tampon concentré 5x du kit du Bigdye (conservé à +4°C), 1,5 µl du mélange Bigdye 3,1 qui contient une Taq polymérase et les quatre bases azotés marqués des fluorophores et finalement 3,5 µl d'eau stérile. Un volume réactionnel total de 20 µl a ainsi été obtenu dans chaque puits (Tableau VIII).

**Tableau VIII** : Tableau récapitulatif de la réaction de séquençage

Étape	Réactif	Quantité (µl)	Réaction
<b>Purification</b>	Matrice d'ADN	5	40 min à 37°C
	<i>Exonucléase I</i> (10 U/µl)	0,5	20 min à 80°C
	<i>Shrimp Alkaline Phosphatase</i> (5U/µl)	0,5	
	H <sub>2</sub> O bi-distillée stérile	4	
<b>Réaction de séquençage</b>	Amorce (3,2 mol /µl)	1	25 cycles:
	Tampon de séquence (Buffer 5x)	4	10 s à 96°C
	Mix Bigdye	1,5	5 s à 50°C
	H <sub>2</sub> O stérile	3,5	4 min à 60°C
<b>Précipitation de l'ADN</b>	Ethanol à 80%	80	15min
			centrifugation 20 min à 4000 tr/min

La réaction de séquençage dans le thermocycleur a été effectuée selon le programme représenté dans la figure ci-dessous (Figure 19).

**Figure 19:** Programme de la réaction de séquençage (Rjeibi, 2015)

### Précipitation de l'ADN

Après la réaction de séquençage, un volume de 80 µl d'éthanol à 80% a été ajouté sans agitation dans chaque puits en le laissant agir pendant 15 min à l'obscurité. Une centrifugation de la plaque pendant 20 min à 4000 tr/min à température ambiante permet de

fixer le produit de séquençage au fond du puits. Le surnageant est ensuite renversé de la plaque maintenue inversée sur du papier absorbant afin de la sécher pendant quelques minutes. La suppression d'éventuelles gouttes d'éthanol restantes a été effectuée par une centrifugation de la plaque inversée pendant 2 min à 1000 tours par minute.

Le culot fixé au fond du puits doit être solubilisé, pour cela un volume de 10 à 20 µl de formamide est ajouté.

L'injection du produit de séquençage avec le polymère POP7 *via* le capillaire 36 cm (Rapidseq 36-POP7) a été effectuée de façon automatisée dans le séquenceur (séquenceur ABI 3130).

#### 4.2.2.3. Analyse bioinformatique

L'obtention de la séquence de l'espèce étudiée chez les bovins en analysant les séquences brutes a été effectuée en utilisant le logiciels Chromas Pro (Version 2.4.1). Les alignements par deux et multiples des séquences obtenues avec les séquences existantes dans Genbank ont été établis en utilisant le logiciel Mega5 (Version 5.1.0). L'arbre phylogénétique à été construit par la méthode de *neighbor-joining* (Saitou et Nei., 1987) en utilisant le logiciel Mega5 (Version 5.1.0). Chacun a été analysé par Bootstrap sur 1000 itérations (Felsenstein, 1985). Les distances évolutives ont été calculées en utilisant la méthode Tajima-Nei (Tajima et Nei., 1984) et sont dans les unités du nombre de différences de base par site.

## **5. ANALYSE STATISTIQUE**

Les données ont été analysées avec SPSS 21 (IBM Inc.), des tests de chi carré ont été effectués et les différences étaient considérées comme significatives à des valeurs de  $p < 0,05$ .

---

**RESULTATS****1. EVALUATION ET COMPARAISON DE LA PREVALENCE DE L'INFECTION PAR *THEILERIA ANNULATA* PAR PCR ET PAR MICROSCOPIE CHEZ LES PORTEURS ASYMPTOMATIQUES**

Les résultats de la comparaison entre la PCR et l'étalement de sang sont présentés dans le Tableau IX.

Avant la saison de la theilériose (avril), la technique PCR après amplification de la séquence de poids moléculaire 721 spécifique de *T. annulata* avec les amorces TAMS<sub>N516</sub> et TAMS<sub>N517</sub>, a détecté beaucoup plus de bovins exposés à l'infection par *T. annulata* que l'étalement de sang (38,9% et 17,8% respectivement) (test Chi deux,  $P < 0,001$ ). Après la saison de theilériose (novembre), la détection par PCR d'animaux porteurs asymptomatiques de l'infection par *T. annulata* a été encore significativement plus élevée comparée à celle de l'étalement de sang (50% et 16,4% respectivement) ( $P < 0,001$ ).

Tous les animaux qui étaient positifs par étalement de sang étaient aussi positifs par PCR.

La comparaison statistique de la méthode PCR avec l'étalement de sang dans le diagnostic des animaux porteurs de *T. annulata* par le test statistique Chi Deux a montré une variation significative entre ces deux méthodes ( $P < 0,001$ ).

Le test Khi deux indique que l'analyse des échantillons de sang par PCR est plus sensible pour la détection des porteurs asymptomatiques de *T. annulata* que l'examen microscopique durant les deux périodes de notre enquête. De nombreux cas d'infection latente ne sont pas détectés par l'examen des frottis sanguins en raison des niveaux de parasitémie très faibles.

**Tableau IX** : Comparaison de la prévalence entre l'étalement de sang et la PCR avant et après la saison de theilériose

	Avant la saison de theilériose		Après la saison de theilériose	
	Etalement de sang	PCR	Etalement de sang	PCR
Positive (%)	32 (17,8)	70 (38,9)	22 (16,42)	67 (50)
Négative (%)	148 (82,2)	110 (61,1)	112 (83,58)	67 (50)
Total (%)	180 (100)	180 (100)	134 (100)	134 (100)
<b>Valeur P</b>	<b>&lt;0.001</b>		<b>&lt;0.001</b>	

## 2. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE DE L'INFECTION PAR *THEILERIA ANNULATA* PAR MICROSCOPIE ET PAR PCR

### 2.1. Etude épidémiologique de l'infection en fonction de l'âge

La prévalence moléculaire et microscopique durant la première visite (avril) chez les bovins entre 1 et 2 ans (53,46 et 38,46% respectivement) est la plus grande prévalence par rapport aux prévalences des bovins moins d'1 an et les bovins plus de 2 ans. Aucune différence significative n'a été observée entre les prévalences de l'infection par *T. annulata* en fonction de l'âge par PCR alors qu'elle est significative par étalement de sang (P=0,117 et P=0,009 respectivement) (Tableau X).

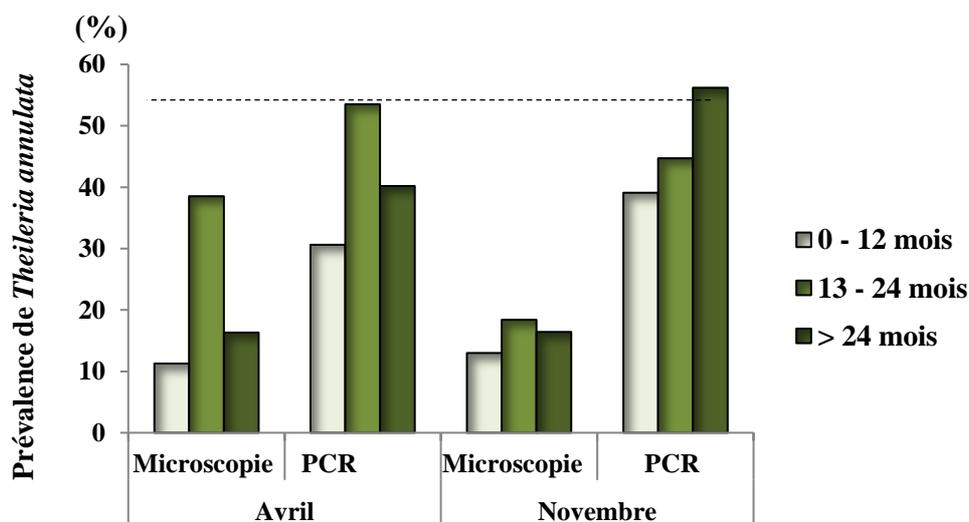
La prévalence moléculaire de *T. annulata* chez les bovins moins d'1 an (39,1%) est moins élevée que les bovins entre 1 et 2 ans (44,7%), et les bovins plus de 2 ans (56,2%) durant la deuxième visite. Cette prévalence augmente avec l'âge. Les résultats par étalement de sang coloré au Gimsa durant la deuxième visite (novembre) montre que la prévalence chez les bovins moins d'un 1 (13,0%) est moins élevée que la prévalence chez les bovins entre 1 et 2 ans (18,42%) qui est la plus grande prévalence suivie par les bovins plus de 2 ans (16,43%) (Tableau X) (Figure 19).

Aucune différence significative n'a été observée entre les prévalences de l'infection par *T. annulata* en fonction de l'âge par PCR et par étalement de sang (P=0,270 et P=0,860 respectivement)

**Tableau X** : Prévalence de l'infection par *Theileria annulata* chez les bovins en fonction de l'âge avant et après la saison de theilériose

Age (mois)	Positifs/examinés (prévalence (%) ± E. S)			
	Avril		Novembre	
	Etaiement de sang	PCR	Etaiement de sang	PCR
0 - 12	7/62 (11,3 ± 0,04)	19/62 (30,6 ± 0,08)	3/23 (13,0 ± 0,08)	9/23 (39,1 ± 0,13)
13 - 24	10/26 (38,5 ± 0,12)	14/26 (53,5 ± 0,1)	7/38 (18,4 ± 0,07)	17/38 (44,7 ± 0,09)
> 24	15/92 (16,3 ± 0,04)	37/92 (40,2 ± 0,06)	12/73 (16,4 ± 0,05)	41/73 (56,2 ± 0,07)
Total	32/180 (17,8 ± 0,03)	70/180 (38,9 ± 0,05)	22/134 (16,4 ± 0,04)	67/13 (50,0 ± 0,00)
<b>Valeur p</b>	<b>0,009</b>	<b>0,117</b>	<b>0,860</b>	<b>0,270</b>

E.S: Erreur standard



**Figure 20** : Prévalence de l'infection par *Theileria annulata* chez les bovins en fonction de âge avant et après la saison de theilériose

## 2.2. Etude épidémiologique de l'infection en fonction du sexe

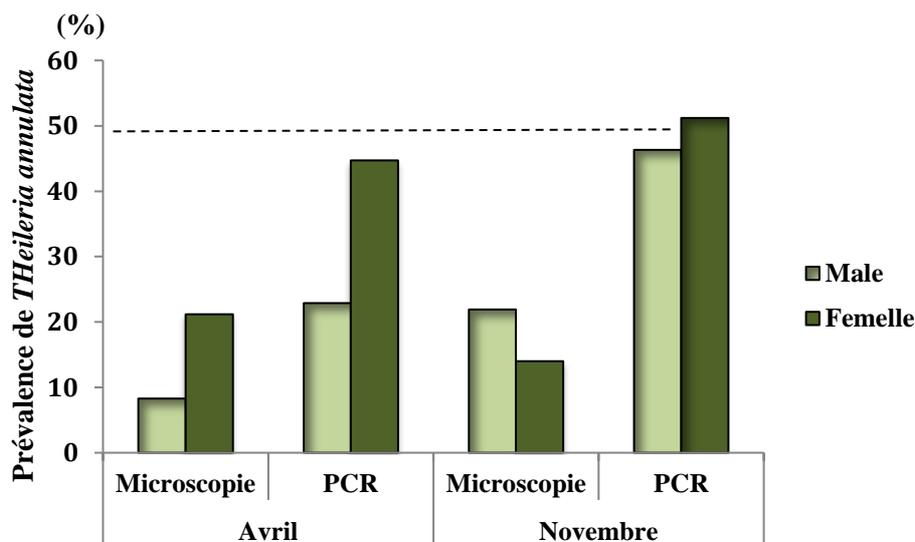
La prévalence moléculaire et par étalement de sang de l'infection par *T. annulata* était de 51,2 et 14,0% respectivement chez les femelles et de 46,3 et 21,9 % respectivement chez les mâles durant la deuxième visite (Tableau XI). L'analyse statistique montre qu'il n'y a aucune différence significative entre les deux sexe (P=0,574) par PCR, et par étalement de sang (P=0,251).

Durant la première visite (avril) la prévalence moléculaire et par étalement de sang de l'infection par *T. annulata* était de 44,7 et 21,2 % respectivement chez les femelles et de 22,9 et 8,3 % respectivement chez les mâles (Tableau XI). L'analyse statistique montre que les femelles étaient, plus significativement infectées par *T. annulata* que les mâles par étalement de sang (P=0,046) et par PCR (P=0,008).

**Tableau XI :** Prévalence de l'infection par *Theileria annulata* chez les bovins en fonction du sexe avant et après la saison de theilériose

Sexe	Positifs/examinés (prévalence (%) ± E. S)			
	Avril		Novembre	
	Etalement de sang	PCR	Etalement de sang	PCR
Mâle	4/48 (8,3± 0,04)	11/48 (22,9± 0,07)	9/41 (21,9 ± 0,08)	19/41 (46,3 ± 0,07)
Femelle	28/132 (21,2± 0,04)	59/132 (44,7± 0,05)	13/93 (14,0 ± 0,04)	48/93 (51,2 ± 0,03)
Total	32/180 (17,8± 0,03)	70/180 (38,9± 0,05)	22/134 (16,4 ± 0,04)	67/13 (50,0 ± 0,00)
<b>Valeur p</b>	<b>0,046</b>	<b>0,008</b>	<b>0,251</b>	<b>0,574</b>

E.S: Erreur standard



**Figure 21** : Prévalence de l'infection par *Theileria annulata* chez les bovins en fonction du sexe avant et après la saison de theilériose

### 2.3. Etude épidémiologique de l'infection en fonction de la race

La prévalence moléculaire de l'infection par *T. annulata* était significativement plus élevée chez les bovins de la race Montbéliarde (54,2% durant la première visite) par rapport à la race Holstein (41,9% respectivement), à la race Fleckvieh (14,6% respectivement) et à la race Locale (45,8% respectivement) ( $P=0,003$ ) (Tableau XII).

La prévalence de l'infection par *T. annulata* par étalement de sang était significativement plus élevée chez les bovins de la race Locale (26,4%) par rapport à la race Montbéliard (16,7%), à la race Holstein (16,3%) et à la race Fleckvieh (4,9%) durant la première visite ( $P<0,038$ ).

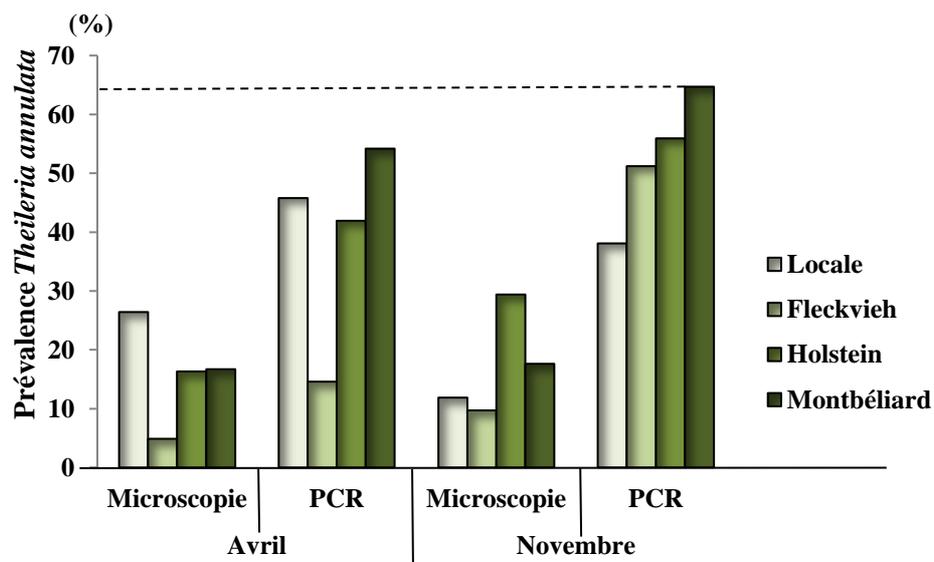
La prévalence de l'infection par *T. annulata* par étalement de sang était plus élevée chez les bovins de la race Holstein (29,4%) par rapport à la race Montbéliard (17,6%), à la race Locale (11,9%) et à la race Fleckvieh (9,7%) durant la deuxième visite, alors qu'elle était plus élevée chez la race Montbéliard (64,7%) par rapport à la race Holstein (55,9%), à la race Fleckvieh (51,2%) et à la race Locale (38,1%).

Aucune différence significative n'a été observée entre les prévalences de l'infection par *T. annulata* en fonction de la race par PCR et par étalement de sang durant la deuxième visite ( $P=0,226$  et  $P=0,104$  respectivement).

**Tableau XII** : Prévalence de l'infection par *Theileria annulata* chez les bovins en fonction de la race avant et après la saison de theilériose

Race	Positifs/examinés (prévalence (%) ± E. S)			
	Avril		Novembre	
	Etallement de sang	PCR	Etallement de sang	PCR
Locale	19/72 (26,4 ± 0,07)	33/72 (45,8 ± 0,06)	5/42 (11,9 ± 0,06)	16/42 (38,1 ± 0,09)
Fleckvieh	2/41 (4,9 ± 0,03)	6/41 (14,6 ± 0,06)	4/41 (9,7 ± 0,05)	21/41 (51,2 ± 0,05)
Holstein	7/43 (16,3 ± 0,07)	18/43 (41,9 ± 0,09)	10/34 (29,4 ± 0,10)	19/34 (55,9 ± 0,09)
Montbéliard	4/24 (16,7 ± 0,09)	13/24 (54,2 ± 0,10)	3/17 (17,6 ± 0,11)	11/17 (64,7 ± 0,15)
Total	32/180 (17,8 ± 0,03)	70/180 (38,9 ± 0,05)	22/134 (16,4 ± 0,04)	67/134 (50,0 ± 0,00)
<b>Valeur P</b>	<b>0,038</b>	<b>0,003</b>	<b>0,104</b>	<b>0,226</b>

E.S: Erreur standard



**Figure 22** : Prévalence de l'infection par *Theileria annulata* chez les bovins en fonction de la race avant et après la saison de theilériose

## 2.4. Etude épidémiologique de l'infection en fonction du type d'élevage

Les résultats de la prévalence moléculaire durant la première et la deuxième visite et par étalement de sang durant la deuxième visite de l'infection par *T. annulata* étaient de 42,0, 58,6 et 20,7% respectivement avec le type d'élevage laitier semi intensif. Ces résultats sont élevées que celles avec le type d'élevage à viande intensif (38,1, 44,1 et 14,7% respectivement), et avec le type d'élevage laitier intensif (28,6, 37,5 et 0,0% respectivement) (Tableau XIII).

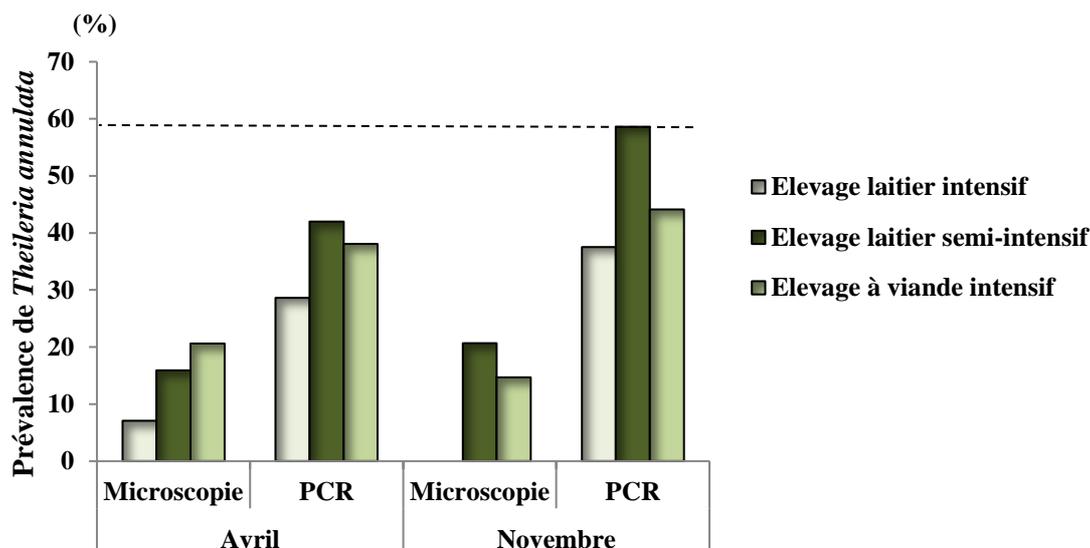
La prévalence par étalement de sang de l'infection par *T. annulata* était de 20,6% avec le type d'élevage à viande intensif, qui est élevée que celle avec le type d'élevage laitier semi intensif (15,9%), et avec le type d'élevage laitier intensif (7,1%) durant la première visite (Tableau XIII).

Durant la première et la deuxième visite aucune différence significative n'a été observée entre les trois types d'élevage soit par PCR ou par étalement de sang.

**Tableau XIII** : Prévalence de l'infection par *Theileria annulata* chez les bovins en fonction du type d'élevage avant et après la saison de theilériose

Type d'élevage	Positifs/examinés (prévalence (%) ± E. S)			
	Avril		Novembre	
	Etalement de sang	PCR	Etalement de sang	PCR
Elevage laitier intensif	1/14 (7,1 ± 0,07)	4/14 (28,6 ± 0,15)	0/8 (0,0 ± 0,00)	3/8 (37,5 ± 0,22)
Elevage laitier semi-intensif	11/69 (15,9 ± 0,05)	29/69 (42,0 ± 0,07)	12/58 (20,7 ± 0,06)	34/58 (58,6 ± 0,08)
Elevage à viande intensif	20/97 (20,6 ± 0,05)	37/97 (38,1 ± 0,06)	10/68 (14,7 ± 0,05)	30/68 (44,1 ± 0,07)
<b>Total</b>	32/180 (17,8 ± 0,03)	70/180 (38,9 ± 0,05)	22/134 (16,4 ± 0,04)	67/134 (50,0 ± 0,00)
<b>P value</b>	<b>0,411</b>	<b>0,626</b>	<b>0,288</b>	<b>0,205</b>

**E.S:** Erreur standard



**Figure 23 :** Prévalence de l'infection par *Theileria annulata* chez les bovins en fonction du type d'élevage avant et après la saison de theilériose

## 2.5. Etude épidémiologique de l'infection en fonction de l'état des murs

La prévalence moléculaire et par étalement de sang de l'infection par *T. annulata* était plus élevée quand les murs des fermes présentent des fissures (50,4 et 17,1% respectivement), ne sont pas crépis (51,5 et 18,5% respectivement), et ne sont pas blanchis (54,1 et 21,3% respectivement) durant la deuxième visite (Tableau XIV).

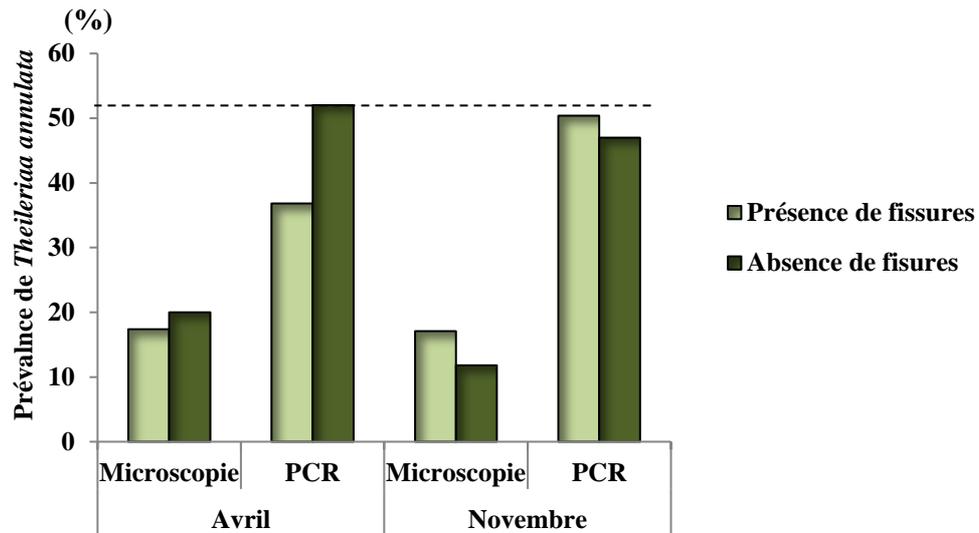
Aucune différence significative n'est détectée par PCR ou par étalement de sang en fonction de la présence des fissures ( $p=0,795$  et  $0,579$  respectivement), du blanchissement ( $p=0,386$  et  $0,162$ ), et du crépis ( $p=0,562$  et  $0,279$ , respectivement).

Durant la première visite aucune influence significative n'est détectée par PCR ou par étalement de sang en fonction de la présence des fissures ( $p=0,147$  et  $0,754$  respectivement), du blanchissement ( $p=0,959$  et  $0,895$  respectivement), et du crépis ( $p=0,240$  et  $0,165$ , respectivement).

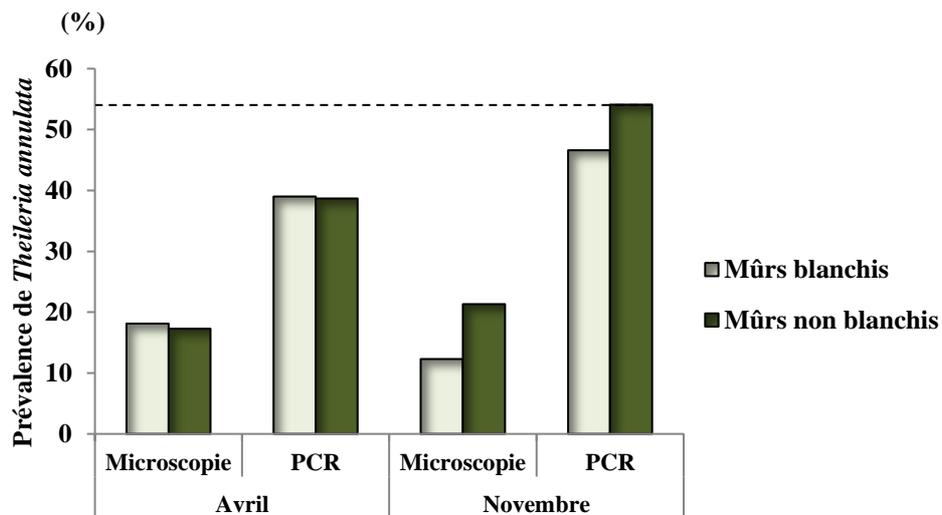
**Tableau XIV** : Prévalence de l'infection par *Theileria annulata* chez les bovins en fonction de l'état des murs avant et après la saison de theilériose

Etat des murs	Positifs/examinés (prévalence (%) ± E. S)			
	Avril		Novembre	
	Etaiement de sang	PCR	Etaiement de sang	PCR
<b>Présence de fissures</b>				
Oui	27/155 (17,4 ± 0,03)	57/155 (36,8 ± 0,07)	20/117 (17,1 ± 0,04)	59/117 (50,4 ± 0,08)
Non	5/25 (20,0 ± 0,04)	13/25 (52,0 ± 0,05)	2/17 (11,8 ± 0,09)	8/17 (47,0 ± 0,10)
Total	32/180 (17,8 ± 0,03)	70/180 (38,9 ± 0,05)	22/134 (16,4 ± 0,04)	67/134 (50,0 ± 0,00)
<b>Valeur P</b>	<b>0,754</b>	<b>0,147</b>	<b>0,579</b>	<b>0,795</b>
<b>Blanchissement</b>				
Oui	19/105 (18,1 ± 0,05)	41/105 (39,0 ± 0,07)	9/73 (12,3 ± 0,04)	34/73 (46,6 ± 0,05)
Non	13/75 (17,3 ± 0,04)	29/75 (38,7 ± 0,06)	13/61 (21,3 ± 0,06)	33/61 (54,1 ± 0,06)
Total	32/180 (17,8 ± 0,03)	70/180 (38,9 ± 0,05)	22/134 (16,4 ± 0,04)	67/134 (50,0 ± 0,00)
<b>Valeur P</b>	<b>0,895</b>	<b>0,959</b>	<b>0,162</b>	<b>0,386</b>
<b>Crépis</b>				
Oui	4/39 (10,2 ± 0,05)	12/39 (30,7 ± 0,10)	4/37 (10,8 ± 0,06)	17/37 (45,9 ± 0,08)
Non	28/141 (19,8 ± 0,04)	58/141 (41,1 ± 0,05)	18/97 (18,5 ± 0,05)	50/97 (51,5 ± 0,03)
Total	32/180 (17,8 ± 0,03)	70/180 (38,9 ± 0,05)	22/134 (16,4 ± 0,04)	67/134 (50,0 ± 0,00)
<b>Valeur P</b>	<b>0,165</b>	<b>0,240</b>	<b>0,279</b>	<b>0,562</b>

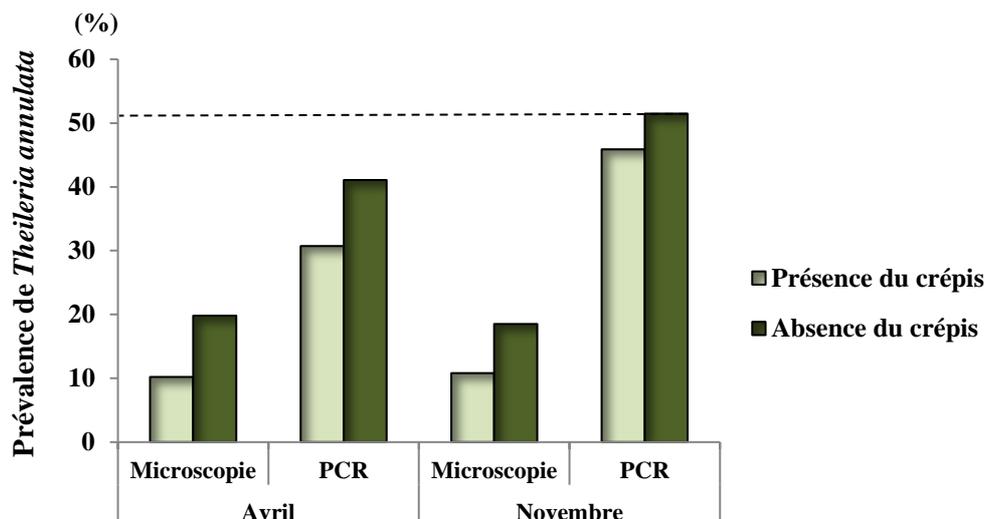
**E.S:** Erreur standard



**Figure 24 :** Prévalence de l'infection par *Theileria annulata* chez les bovins en fonction de la présence ou absence des fissures sur les mûrs avant et après la saison de theilériose



**Figure 25 :** Prévalence de l'infection par *Theileria annulata* chez les bovins en fonction de du blanchissement ou non des mûrs avant et après la saison de theilériose



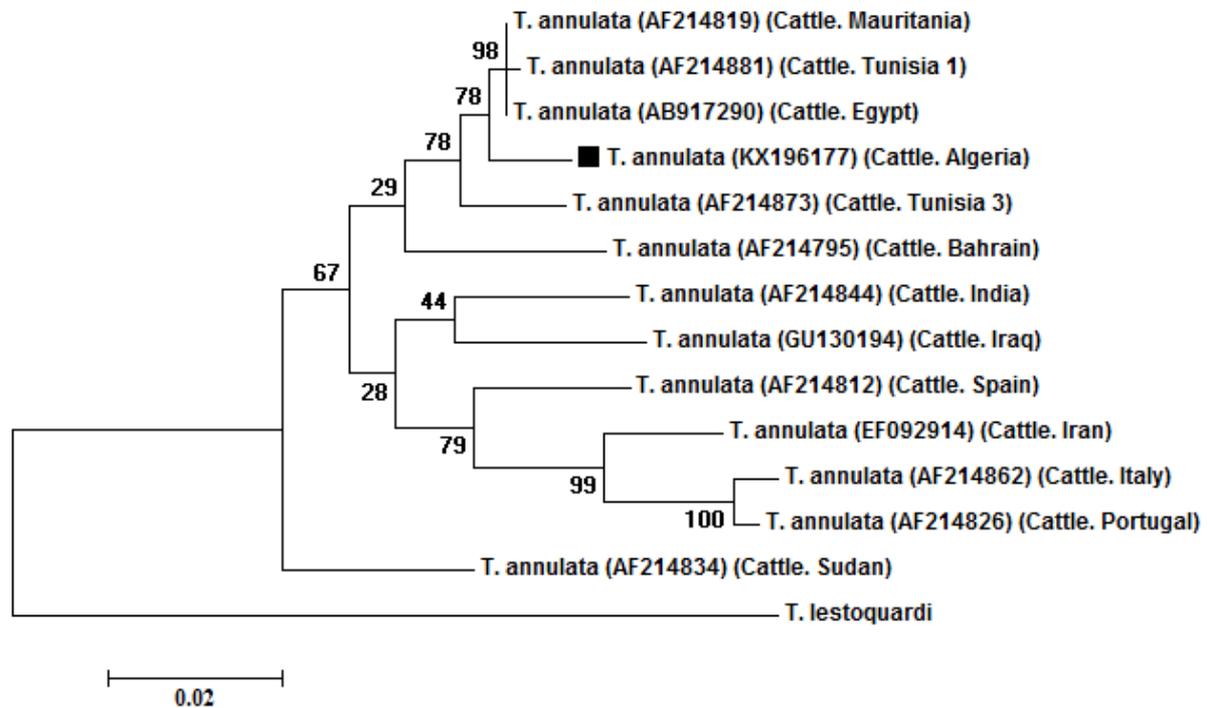
**Figure 26 :** Prévalence de l'infection par *Theileria annulata* chez les bovins en fonction du crépis ou non des murs avant et après la saison de theilériose

#### 4. ETUDE GENETIQUE DES ISOLATS ALGERIENS DE *T. ANNULATA*

Quatre produits de PCR obtenus avec des amorces N516 / N517 ont été purifiés avec les terminateurs non constitués en utilisant les kits de séquençage de cycle v3.1 BigDye® Terminator (Applied Biosystems) selon les instructions du fabricant. Les produits de PCR ont été séquencés dans les deux directions, en utilisant les mêmes amorces que pour la PCR. Les réactions de séquençage ont été réalisées dans l'ADN Engine Tétrade 2 Peltier Thermal Cycler (BIO-RAD) avec le kit de séquençage de cycle v3.1 ABI BigDye® Terminator (Applied Biosystems), en suivant les protocoles fournis par le fabricant. Le logiciel MEGA 6.1 a été utilisé pour effectuer des alignements de séquences multiples (Tamura *et al.*, 2013). Les séquences d'ADN obtenues ont été comparées pour la similitude des séquences déposées dans GenBank en utilisant le programme BLAST. Les séquences partielles Tams1 de *T. annulata* (TabvA1) variante ont été déposées dans la GenBank (numéro d'accèsion: KX196177).

*T. annulata* ciblant le gène Tams1 (GenBank Numéro d'accèsion: KX196177) a été identifié dans la présente étude. Notre amplicon (KX196177) présente une identité de 96,9% avec celui isolé en Égypte (AB917290), il a également une identité de 98,6% d'identité avec celui isolé en Tunisie (AF214881) et 98,9% avec l'isolat mauritanien (AF214819), tous ces isolats ont été regroupés en un seul clade. Notre isolat a 96,1% d'identité avec l'isolat

Bahreïni (AF214795). De plus, les amplicons isolés en Espagne, Italie, Iran, Soudan et l'Inde étaient regroupés dans un clade différent (Figure 26).



**Figure 27 :** Arbre phylogénétique de la séquence partielle Tams 1, gène de *Theileria annulata*

identifié chez les bovins dans la présente enquête et ceux qui sont déposés dans GenBank

L'arbre a été construit selon la méthode du neighbor-joining (Saitou et Nei, 1987). Le pourcentage d'arbres répliqués dans lequel les taxons associés regroupés ensemble dans le test bootstrap (1100 répétitions) a été montré à côté des branches. Les distances évolutives ont été calculées en utilisant la méthode Tajima-Nei (Tajima et Nei., 1984) et sont dans les unités du nombre de différences de base par site. Les analyses évolutionnistes ont été menées dans MEGA 6.1 (Tamura *et al.*, 2013). Les numéros d'accession GenBank sont donnés entre parenthèses. L'isolat décrit dans cette étude est indiqué par un carré noir.

---

## DISCUSSION

La theilériose tropicale est largement répandue dans le monde. Sa répartition géographique est étroitement liée à celle des espèces de tiques vectrices du genre *Hyalomma*. *H. scupense* est le principal vecteur de la theilériose tropicale en Afrique du Nord (Gharbi *et al.*, 2013). Viseras *et al.* (1999) ont montré également le rôle de la tique *H. lusitanicum* comme vecteur de *T. annulata* dans les zones enzootiques.

En Algérie, la theilériose tropicale évolue selon une allure enzootique et se rencontre dans les étages bioclimatiques humides, subhumides et semi-arides correspondant aux biotopes favorables à la tique vectrice *H. scupense* (Sergent *et al.*, 1945 ; Bouattour *et al.*, 1999 ; Ziam et Benaouf, 2004).

En Algérie, plus de la moitié des cas annuels de piroplasmoses bovines *sensu lato* sont dus à *T. annulata* (Sergent *et al.*, 1945 ; Ziam et Benaouf, 2004). Après avoir passé la phase aiguë de la maladie, les bovins guéris deviennent des porteurs asymptomatiques, et au cours de cette période, seules un certain nombre d'hématies sont parasitées par les piroplasmes de *T. annulata* et dont la mise en évidence à l'examen microscopique est difficile (Kirvar *et al.*, 2000). Les bovins porteurs jouent le rôle de réservoirs du parasite, leur identification précise est indispensable pour mettre en place une stratégie de lutte.

Plusieurs techniques sont utilisées pour la détection de *T. annulata* chez les animaux. La technique conventionnelle est l'examen microscopique des étalements sanguins colorés au Giemsa. Cette technique est généralement suffisante pour la détection d'infections aiguës, mais pas pour la détection des animaux porteurs, où la parasitémie est souvent faible (Shayan et Rahbari, 2005 ; Altay *et al.*, 2008). Des résultats faussement positifs et négatifs sont fréquemment observés dans les tests sérologiques en raison de la réactions croisées, de la diminution de la réponse immune spécifique (Burrige *et al.*, 1974 ; Gubbels *et al.*, 1999 ; Leemans *et al.*, 1999).

Dans la présente étude, deux méthodes de diagnostic à savoir l'examen des étalement sanguins colorés au Giemsa et la PCR, ont été utilisées pour estimer la prévalence des bovins porteurs de *T. annulata* dans la province d'El Eulma au nord-est de l'Algérie. Les résultats ont montré que la PCR (38,9 et 50% durant la première et deuxième visite respectivement)

était plus sensible pour la détection des bovins porteurs de *T. annulata* que l'examen microscopique (17,8 et 16,4% durant la première et deuxième visite respectivement). Plusieurs études ont montré que la PCR est plus spécifique et sensible que les techniques conventionnelles pour la détection des ruminants porteurs asymptomatiques de *T. annulata* dans le sang (d'Oliveira *et al.*, 1995 ; Dumanli *et al.*, 2005 ; Aktas *et al.*, 2006 ; Azizi *et al.*, 2008 ; Durrani *et al.*, 2010 ; Hoghooghi-Rad *et al.*, 2011 ; Safarpour *et al.* 2012 ; Ziam *et al.*, 2015). D'Oliveira *et al.*, (1995) ont examiné 92 échantillons sanguins collectés à partir de bovins en Espagne pour le diagnostic de *T. annulata* par la PCR, IFI et étalements sanguins. Les taux de positivité des trois techniques étaient de 75 ; 40 et 22% respectivement. En Iran, Azizi *et al.*, (2008) ont démontré que la PCR dans le diagnostic de *T. annulata* chez les bovins porteurs est plus sensible que l'examen des étalements sanguins et recommandent son utilisation dans les études épidémiologiques. Des résultats similaires ont été rapportés par Mahmmoud *et al.*, (2010) où 30 échantillons sanguins de bovins et de buffles ont été analysés par PCR et la méthode de coloration Giemsa en Egypte. Ils ont montré que la prévalence de l'infection à *T. annulata* par la PCR était de 70% (21/30) tandis qu'avec la coloration Giemsa était de 30% (9/30).

Nos résultats ont montré que la prévalence de *T. annulata* chez les bovins porteurs asymptomatiques était de 38,9 et 50% avant et après la saison de theilériose respectivement. Cette augmentation du taux de l'infection indique une transmission de *T. annulata* aux bovins durant l'été.

Dans la présente étude, l'influence de l'âge sur la prévalence de l'infection par *T. annulata* a été observée durant la première visite par étalement de sang. En effet, les jeunes âgés de moins d'un an présentent la prévalence la moins élevée par rapport aux plus âgés, Ces résultats viennent corroborer les données rapportées par Hamou *et al.*, (2012) au Maroc, Khattak *et al.*, (2012) au Pakistan et Ziam *et al.*, (2015) en Algérie. De même, Flach *et al.*, (1995) ont rapporté que la prévalence de *T. annulata* chez les porteurs a augmenté de façon significative avec l'âge et peut être influencée par l'exposition des bovins adultes à un nombre élevé d'*H. scupense*. Des résultats contradictoires ont été rapportés par Qayyum *et al.*, (2010) où la prévalence de *T. annulata* par étalement sanguin chez les jeunes bovins était plus élevée que chez les adultes (respectivement de 61,5 et 31,9%) entre avril et septembre confirmant une stabilité enzootique dans les régions étudiées au Pakistan.

Alors que les autres résultats de la présente étude ont montré une augmentation non significative de la prévalence en fonction de l'âge, ceci peut être expliqué par la diminution importante du nombre des jeunes âgés de moins d'un an examinés, ainsi que des porteurs asymptomatiques durant la deuxième visite.

Au cours de la deuxième visite, aucune différence de la prévalence de *T. annulata* n'a été détectée entre les mâles et les femelles soit par PCR ( $p=0,57$ ) ou par étalement de sang ( $p=0,25$ ). Des résultats similaires ont été rapportés dans d'autres enquêtes (Hamou *et al.*, 2012 ; Khattak *et al.*, 2012). Au contraire, notre première visite rapporte que la prévalence chez les femelles était plus élevée que chez les mâles par PCR ( $p=0,008$ ) et par étalement de sang ( $p=0,046$ ). Saleem *et al.* (2014) ont rapporté que les femelles (89,28%) étaient plus infectées que les mâles (10,71%).

L'influence de la race a été aussi mise en évidence dans la présente étude où les prévalences de *T. annulata* chez les races pures exotiques Montbéliard (54,2%), étaient significativement plus élevées que celle trouvée chez la race locale algérienne (45,8%) durant la première visite ( $p=0,003$ ).

Généralement les races indigènes sont plus résistantes que les races améliorées et exotiques comme la Frison Pie Noir et Holstein (Gharbi *et al.*, 2014 ; Saleem *et al.*, 2014). Glass *et al.*, (2005) et Jensen *et al.*, (2008) ont attribué la différence de sensibilité des bovins Frisonne Holstein et les races Sahiwal à la theilériose tropicale à une différence dans l'interaction entre les cellules infectées et d'autres cellules immunitaires qui influencent la réponse immunitaire à produire des niveaux élevés de cytokines pro-inflammatoires chez la race Holstein. Au contraire, la race Sahiwal semble capable de surmonter l'infection par *T. annulata* empêchant la sur-stimulation de la réponse immune à produire des cytokines. Cette résistance immunitaire des races locales peut bloquer la multiplication du parasite, en empêchant ainsi sa dissémination dans le torrent circulatoire.

La diminution de l'infection des bovins de la race locale durant la deuxième visite est peut être due à la disparition de 30 bovins de race locale parmi les 46 non retrouvés en novembre. L'influence de la race a été rapportée durant la première visite pendant laquelle les Montbéliards été plus infectés, en effet, 17 des 24 bovins de cette race inclus dans la présente étude étaient âgés de plus d'un an ce qui suppose une infection cumulative durant un ou

plusieurs étés précédents, et non pas à une sensibilité de cette race envers la theilériose tropicale.

La différence non significative entre les races suppose que la race locale algérienne présente une certaine sensibilité à la theilériose tropicale par rapport aux races exotiques mais des études ultérieures sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

Dans notre étude, la prévalence de *T. annulata* est plus faible dans les fermes où les murs sont crépis et blanchis, ne présentant pas de fissures, mais cette différence n'est pas significative. En effet, les fissures dans les murs représentent des gîtes favorables pour l'hibernation de la tique vectrice, *H. scupense*, et les murs crépis ainsi que le lissage réduisent considérablement les fissures et empêchent ainsi les nymphes et jeunes adultes de *H. scupense* d'hiberner dans les étables (Gharbi *et al.*, 2014). Ce qui diminue l'atteinte des bovins par les tiques et par conséquent une diminution de la prévalence de la theilériose. En Algérie la présence de la tique *H. lusitanicum* a été également rapportée, en Oran (Yousfi-Monod et Aeschlimann, 1986), à Tiaret (Boulkaboul, 2003), à Jijel (Benchikh-Elfegoun *et al.*, 2007), à El Tarf et Mila (Benchikh-Elfegoun *et al.*, 2013), cette tique vectrice de la theilériose tropicale a un caractère exophile, et dont les états des murs des élevages n'ont aucune influence sur cette tique, ce qui explique les résultats retrouvés durant les deux visites.

Dans la présente étude, aucune différence significative entre les conduites d'élevage semi-extensive laitière, et intensive (laitières ou à viande) n'a été mise en évidence, ces résultats viennent argumenter la participation de la tique exophile *H. lusitanicum* comme vecteur, l'animal est alors toujours exposé à l'infestation par les tiques et par conséquent au parasite *T. annulata*.

Darghouth *et al.* (1996) suggèrent que la stimulation immunitaire au cours de la période de l'apparition de nouvelles infections conduit à une augmentation des taux d'anticorps spécifiques anti-*T. annulata*, ce qui limiterait l'apparition de piroplasmes chez les bovins infectés après la fin de la saison de la maladie en novembre. Ce point de vue est fortement soutenu par le fait que, dans la présente étude en novembre, le taux d'infection par les piroplasmes par la microscopie était 16,4% alors qu'en avril il était de 17,8%.

L'amplicon algérien décrit dans notre étude partage 96,1 à 98,9% d'identité avec les amplicons des autres pays d'Afrique du Nord. Une relation étroite a été détectée entre l'Algérie, la Tunisie, la Mauritanie et des amplicons égyptiens.

*Troisième partie expérimentale*

**Etude des modifications hématologiques et biochimiques dues à la  
theilériose tropicale en Algérie**

## 1. INTRODUCTION

Une grande partie de la pathologie de la theilériose est due à la réplication par schizogonie dans les lymphocytes du parasite, *Theileria spp.* (Morrison *et al.*, 1989) et associée à une modification des paramètres biochimiques et hématologiques chez les bovins (Ganguly *et al.*, 2015). Ces altérations sont liées à la virulence de la souche de *T. annulata*, la dose infectante, et aux caractéristiques (race, âge) et au statut immunitaire des animaux.

Les analyses de ces paramètres sont utiles pour évaluer le degré de gravité de la maladie chez les animaux et mettre ainsi en place des mesures thérapeutiques spécifiques et symptomatiques à l'encontre de cette grave infection.

En Algérie et à notre connaissance, aucune étude traitant des changements hématologiques et biochimiques induites par la theilériose tropicale n'a été réalisée jusqu'à maintenant.

## 2. OBJECTIF DU TRAVAIL

L'objectif de la présente étude est de déterminer les modifications des paramètres hématologiques (leucocytes, hématies, hémoglobines, hématocrite, VGM, CCMH, et TCMH) et biochimiques (glycémie, albuminémie, protéines totales, bilirubine totale et directe) causées par *T. annulata* chez les bovins malades par rapport aux bovins cliniquement sains.

## 3. PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE

La présente étude est réalisée dans la région d'El Eulama (Sétif) (voir pages 60 et 61)

## 4. MATERIEL ET METHODES

### 4.1. Choix des animaux

Entre Mai et Septembre 2013, 80 bovins d'âge et de sexe différents dont 40 animaux cliniquement sains et 40 autres malades avec des symptômes typiques de la theilériose (hyperthermie 40,5 et 41°C, hypertrophie des nœuds lymphatiques, anémie) ont fait l'objet de

prélèvements de sang. Une fiche d'identification individuelle est établie dans laquelle sont notés les caractéristiques (race, âge, sexe) et les signes cliniques éventuels observés sur l'animal.

## 4.2. Technique de prélèvement

Les prélèvements sont effectués le matin à partir de la veine jugulaire dans deux tubes avant l'administration du traitement spécifique contre *T. annulata* : l'un contenant de l'EDTA pour les dosages hématologiques (leucocytes, hématies, hémoglobines, hématocrite, VGM, CCMH, et TCMH) et l'autre hépariné pour les dosages biochimiques (glycémie, albuminémie, protéines totales, bilirubine totale et directe). En parallèle des étalements de sang sont effectués pour confirmer la présence du parasite *T. annulata*.

## 4.3. Analyses des échantillons

### 4.3.1. Dosage des paramètres biochimiques

Les paramètres protéines totales, albumines, glycémie, et bilirubine totale et directe sont dosés après centrifugation du sang contenu dans les tubes héparinés pour séparer le sérum.

Le sérum obtenu est préparé par des réactifs des Kits Spinreact (Girona, Espagne) : PROTEINES TOTALES Spinreact (BSIS30-E), ALBUMINE Spinreact (BSIS02-F), GLUCOSE Spinreact (BSIS17-I), BILIRUBINE Spinreact (BSDTT36), qui suivent les normes établies par ISO (International Organization for Standardization, Ed.2004, Espagne), puis dosé par le spectrophotomètre semi automatique BA-88A (Shenzhen, Chine).

#### 4.3.1.1. Principe de la spectrophotométrie

Un faisceau lumineux émis par une source lumineuse, traverse la cuve remplie par la solution préparée (sérum + réactif). Une partie de cette lumière incidente est absorbée par les molécules colorées (molécule à doser), et est mesurée.

#### 4.3.1.2. Principe du dosage des protides totaux

Dans un milieu alcalin les protéines donnent en associant avec des sels de cuivre un complexe bleu-violet intense.

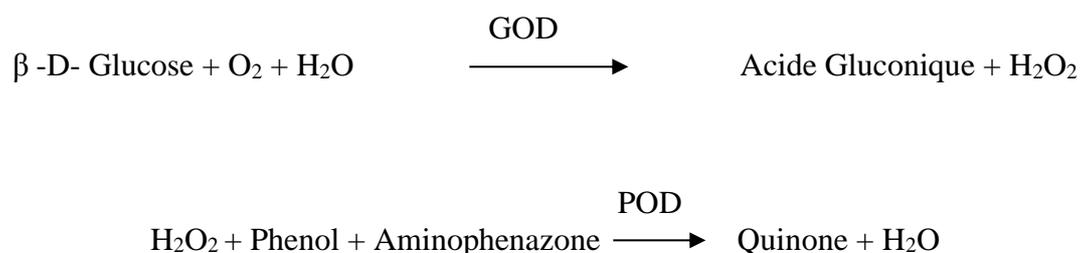
Iodure est inclus comme un antioxydant. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration totale de protéines dans l'échantillon.

#### 4.3.1.4. Principe du dosage de l'albumine

L'albumine se combine au vert de bromocrésol, à pH légèrement acide, entraînant un changement de couleur de l'indice, passant du jaune-vert au vert-bleuté, et proportionnel à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon testé.

#### 4.3.1.4. Principe du dosage de la glycémie

La Glucose oxydase (GOD) catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique. Le peroxyde d'hydrogène formé ( $H_2O_2$ ), est détecté par un chromogène accepteur d'oxygène, le phénol-aminophenazone dans la présence de la peroxydase (POD):

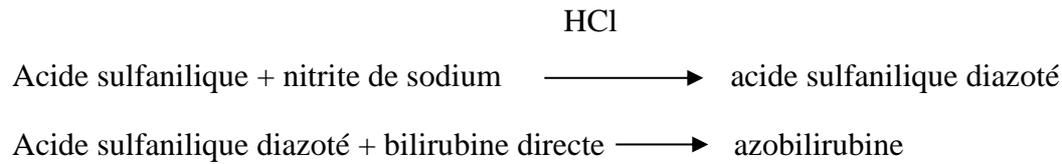
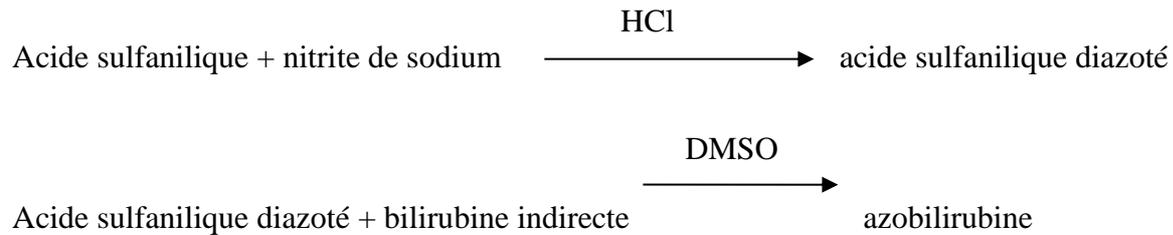


L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon.

#### 4.3.1.5. Principe du dosage de la bilirubine totale et directe

La bilirubine sérique réagit avec l'acide sulfanilique diazoté pour former un complexe coloré l'azobilirubine mesurable par spectrophotométrie. Pour les deux fractions présentes dans le sérum (la bilirubine glucuronide ou bilirubine conjuguée, et la bilirubine fixée à l'albumine ou bilirubine libre) seulement la bilirubine conjuguée entre directement en réaction d'où le nom de bilirubine directe.

Pour que la bilirubine libre réagisse il faut qu'elle se dissocie de l'albumine en se solubilisant avec le Di Méthyle SulfOxide (DMSO) d'où le nom de bilirubine indirecte. Le résultat de la détermination de la bilirubine directe et indirecte correspond à la bilirubine totale.

Bilirubine directeBilirubine indirecte**4.3.2. Dosage des paramètres hématologiques**

Le sang contenu dans les tubes EDTA est mélangé par un agitateur puis les paramètres hématologiques (leucocytes, hématies, hémoglobines, hématocrite, VGM, CCMH, et TCMH) sont dosés par l'automate d'hématologie ES 60 (Kyoto, Japan).

**4.3.3. Lecture des étalements de sang**

La lecture des lames est faite par microscope optique grossissement x100, après coloration Giemsa (voir pages 63 et 64).

**5. ANALYSE STATISTIQUE**

Les données sont saisies sur Excel pour la réalisation des comparaisons de moyennes avec le test Student au risque de 5%, ainsi que l'établissement des histogrammes.

**RESULTATS**

Les résultats des modifications hématologiques et biochimiques due à la theilériose pour chaque paramètre sont représentés sous forme d'un tableau regroupant moyenne et écart type, les valeurs minimales et maximales.

**1. PROFILS HEMATOLOGIQUES DES BOVINS ATTEINTS DE THEILERIOSE TROPICALE****1.1. L'influence de la theilériose sur les leucocytes**

Le Tableau XV indique la variation du nombre de leucocytes entre les bovins cliniquement sains et les bovins malades, atteints de theilériose.

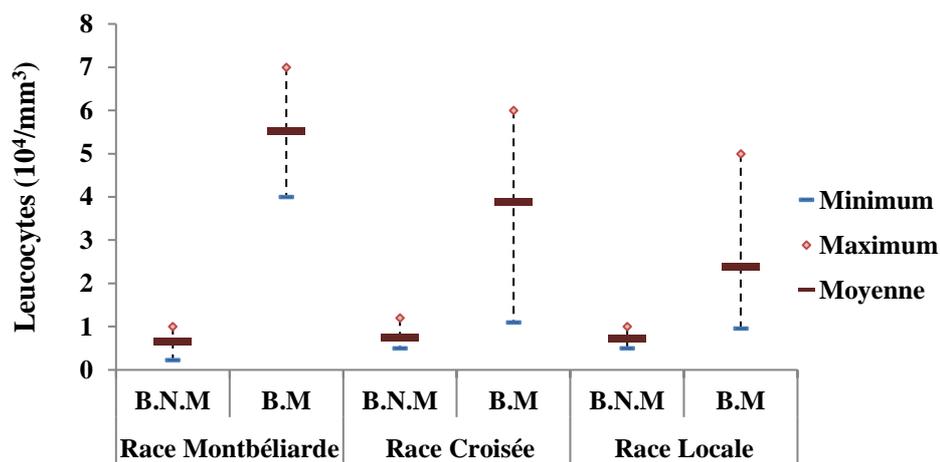
Chez les animaux malades de la race Montbéliarde le nombre moyen des leucocytes ( $5,42 \cdot 10^3/\text{mm}^3$ ) a diminué significativement par rapport aux animaux non malades ( $16,98 \cdot 10^3/\text{mm}^3$ ) ( $p=0,048$ ).

Les animaux malades ont montré une légère augmentation du nombre moyen des leucocytes chiffré à 10,35 et  $15,53 \cdot 10^3/\text{mm}^3$  par rapport aux animaux témoins dont le nombre moyen est de 8,23 et  $14,46 \cdot 10^3/\text{mm}^3$  chez la race croisée et locale respectivement. Cette différence n'est pas significative entre les deux groupes de bovins.

**Tableau XV** : Variation du nombre des leucocytes entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

Race (nombre)	Leucocytes ( $10^3/\text{mm}^3$ )		
	Moyenne $\pm$ écart type	Mini	Maxi
<b>Montbéliarde (27)</b>			
Bovins non malades (13)	16,98 $\pm$ 23.2	4,2	93
Bovins malades (14)	5,42 $\pm$ 2.5	1,9	9,7
P	<b>0,048 *</b>		
<b>Croisée (21)</b>			
Bovins non malades (11)	8,23 $\pm$ 1,96	4,5	11,2
Bovins malades (10)	10,35 $\pm$ 5,69	3,5	18,6
P	0,172		
<b>Locale (32)</b>			
Bovins non malades (16)	14,46 $\pm$ 21,07	4,5	93
Bovins malades (16)	15,53 $\pm$ 16.25	3	67,5
P	0,441		

\*: Différence significative

**Figure 28** : Variation du nombre des leucocytes (moyenne, valeur minimale, et valeur maximale) entre les bovins malade de theilériose et les bovins non malades

B.N.M : Bovins non malades, B.M : Bovins malades

## 1.2. L'influence de la theilériose sur le taux d'hématies

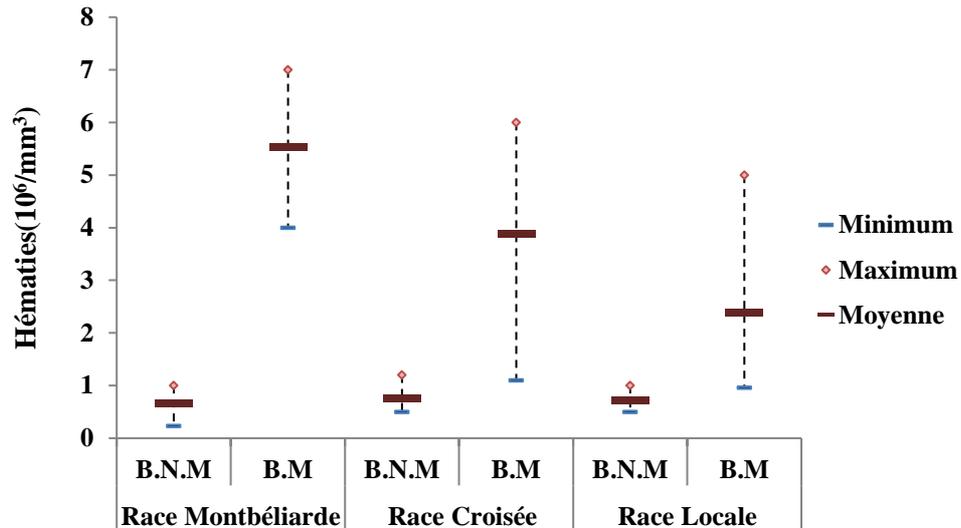
Les moyennes du taux d'hématies chez les bovins malades par la theilériose tropicale de la race Montbéliarde et croisée qui sont de 5,10 et 5,69 ( $10^6/\text{mm}^3$ ) respectivement sont significativement moins élevées que celles des bovins non malades qui sont de 7,05 et 6,97 ( $10^6/\text{mm}^3$ ) respectivement ( $p=0,002$ ; et  $0,027$  respectivement) (Tableau XVI).

Chez la race locale, il y a une légère diminution qui n'est pas significative chez les bovins malades par rapport aux bovins non malades.

**Tableau XVI** : Variation du nombre d'hématies entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

Race (nombre)	Hématies ( $10^6/\text{mm}^3$ )		
	Moyenne $\pm$ écart type	Mini	Maxi
<b>Montbéliarde (27)</b>			
Bovins non malades (13)	7,05 $\pm$ 1,4	4,6	9,36
Bovins malades (14)	5,10 $\pm$ 1,1	2,65	7,12
P	<b>0,002 *</b>		
<b>Croisée (21)</b>			
Bovins non malades (11)	6,97 $\pm$ 1,09	5,46	8,64
Bovins malades (10)	5,69 $\pm$ 1,04	3,44	6,75
P	<b>0,027 *</b>		
<b>Locale (32)</b>			
Bovins non malades (16)	6,87 $\pm$ 1,15	5,17	9,58
Bovins malades (16)	6,53 $\pm$ 1,28	5,2	9
P	0,263		

\*: Différence significative



**Figure 29** : Variation du nombre d'hématies entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

**B.N.M** : Bovins non malades, **B.M** : Bovins malades

### 1.3. Influence de la theilériose sur le taux de l'hémoglobine

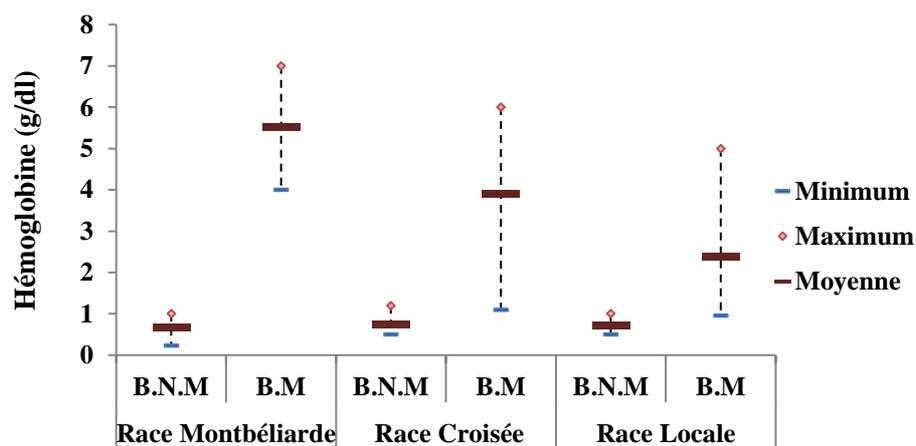
Les moyennes du taux de l'hémoglobine chez les bovins malades par la theilériose tropicale bovine de la race Montbéliarde et croisée (7,16 et 8,8 g/dl respectivement) ont diminué significativement par rapport à celles des bovins non malades qui sont de 10,51 et 10,20 (g/dl) respectivement (tableau XVII).

Aucune différence significative n'est détectée entre les deux groupes de bovins de la race locale.

**Tableau XVII** : Variation du taux d'hémoglobine entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

Race (nombre)	Hémoglobine (g/dl)		
	Moyenne $\pm$ écart type	Mini	Maxi
<b>Montbéliarde (27)</b>			
Bovins non malades (13)	10,51 $\pm$ 1,8	8,4	14
Bovins malades (14)	7,16 $\pm$ 1,3	3,9	9,1
P	<b>&lt;0,001*</b>		
<b>Croisée (21)</b>			
Bovins non malades (11)	10,20 $\pm$ 0,72	9	11,3
Bovins malades (10)	8,8 $\pm$ 1,61	5,1	11,4
P	<b>0,003 *</b>		
<b>Locale (32)</b>			
Bovins non malades (16)	9,82 $\pm$ 1,06	8,3	12
Bovins malades (16)	9,62 $\pm$ 1,65	6,8	11,9
P	0,378		

\*: Différence significative

**Figure 30** : Variation du taux d'hémoglobine entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

B.N.M. : Bovins non malades, B.M. : Bovins malades

### 1.4. Influence de la theilériose sur le taux l'hématocrite

Le tableau XVIII indique la variation du taux de l'hématocrite entre les bovins cliniquement atteints de theilériose et les bovins non malades.

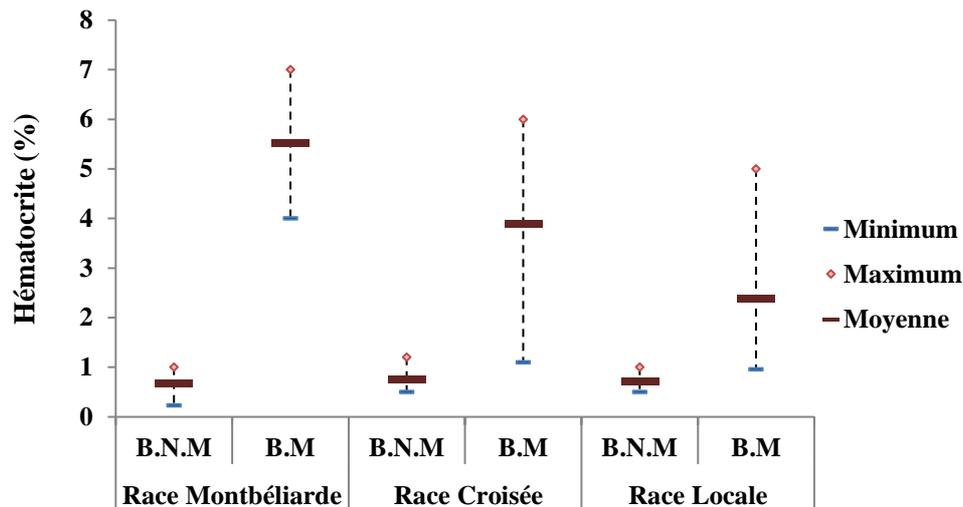
Les moyennes du taux de l'hématocrite chez les bovins malades de la race Montbéliarde et croisée qui sont de 21 et 24,89 (%), sont significativement moins élevées que celles des bovins témoins (31,07 et 30,00 % respectivement) ( $p < 0,001$ ).

Aucune différence significative n'est détectée entre les deux groupes de bovins de la race locale.

**Tableau XVIII :** Variation du taux d'hématocrite entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

Race (nombre)	Hématocrite (%)		
	Moyenne $\pm$ écart type	Mini	Maxi
<b>Montbéliarde (27)</b>			
Bovins non malades (13)	31,07 $\pm$ 5,5	25	42
Bovins malades (14)	21 $\pm$ 4,1	11,6	27
P	<0,001*		
<b>Croisée (21)</b>			
Bovins non malades (11)	30,00 $\pm$ 2,09	26	33
Bovins malades (10)	24,89 $\pm$ 4,64	13,5	31,9
P	<0,001*		
<b>Locale (32)</b>			
Bovins non malades (16)	28,81 $\pm$ 2,66	24	34
Bovins malades (16)	27,75 $\pm$ 4,64	19,2	34,8
P	0,264		

\*: Différence significative



**Figure 31** : Variation du taux d'hématocrite entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

B.N.M : Bovins non malades, B.M : Bovins malades

### 1.5. Influence de la theilériose sur la VGM, le CCMH, et le TCMH

Les valeurs du VGM CCMH et TCMH chez la race Montbéliarde ( $39,53 \mu\text{m}^3$ , 33,48 % et 14,02 pg respectivement) étaient significativement moins élevées chez les bovins atteints de theilériose ( $P=0,002$ ; 0,027 et 0,018 respectivement) que celles des animaux témoins ( $45,61 \mu\text{m}^3$ , 34,37 % et 15,53 pg respectivement) (Tableau XIX).

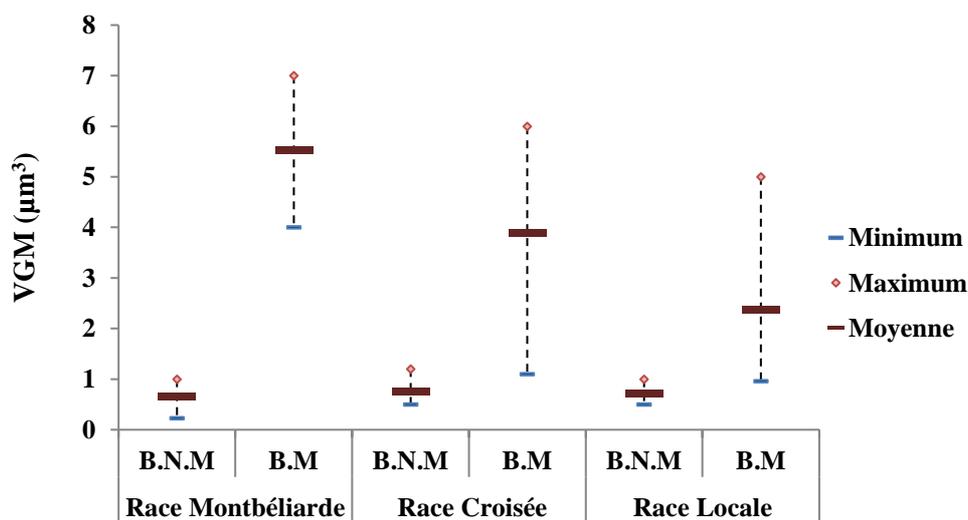
Quant aux valeurs de la VGM, CCMH et TCMH chez la race croisée et locale, aucune différence significative entre les bovins sains, témoins et les animaux malades existe (34,68% vs 33,75%).

En se basant sur les critères de classification des anémies cités par (Weiss et al., 2010) (Tableau XX), la présente étude a révélé la présence de deux types d'anémies : des anémies microcytaires hypochrome chez la race locale et normocytaires normochromes chez la race croisée et Locale.

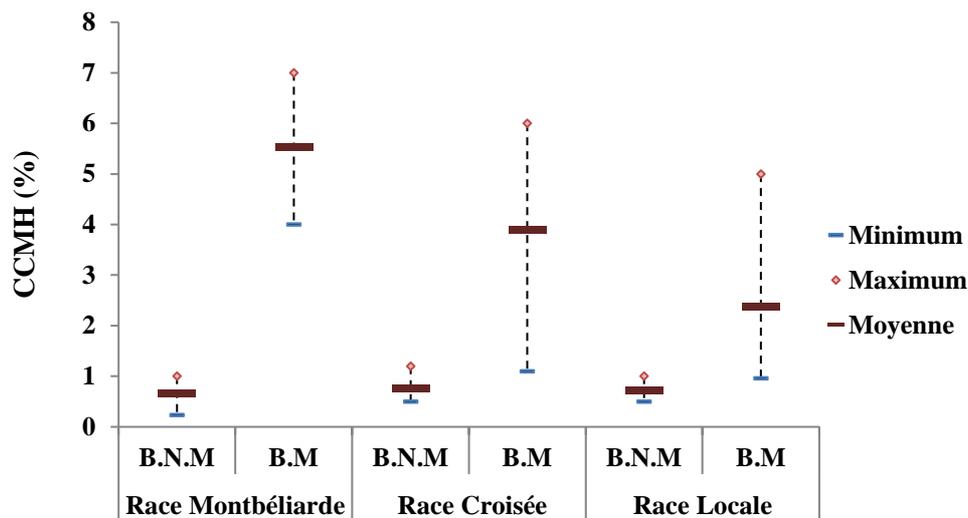
**Tableau XIX :** Variation de la VGM, CCMH, et TCMH entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

Race (nombre)	VGM ( $\mu\text{m}^3$ )			CCMH (%)			TCMH (pg)		
	Moyenne			Moyenne			Moyenne		
	$\pm$ écart type	Min	Max	$\pm$ écart type	Min	Max	$\pm$ écart type	Min	Max
<b>Montbéliarde (27)</b>									
Bovins non malades (13)	45,61 $\pm$ 5,9	38	56	34,37 $\pm$ 1,2	33	37	15,53 $\pm$ 2	13	20
Bovins malades (14)	39,53 $\pm$ 5,3	33	47,5	33,48 $\pm$ 1	31,8	35,8	14,02 $\pm$ 1,6	11,6	16,7
P	<b>0,002 *</b>			<b>0,027 *</b>			<b>0,018 *</b>		
<b>Croisée (21)</b>									
Bovins non malades (11)	43,9 $\pm$ 8,5	34	57	34,23 $\pm$ 1,3	33	37,4	15,54 $\pm$ 2,2	13	19
Bovins malades (10)	41,02 $\pm$ 3,5	36	49	35,09 $\pm$ 1,2	33	37,2	14,69 $\pm$ 0,9	13,1	16
P	0,09			0,149			0,051		
<b>Locale (32)</b>									
Bovins non malades (16)	38,93 $\pm$ 15,4	38	49	34,05 $\pm$ 0,9	33	35,8	15,44 $\pm$ 3,1	12,2	26
Bovins malades (16)	37,33 $\pm$ 6,2	18,3	48	34,48 $\pm$ 1,2	33	36,5	14,37 $\pm$ 1,1	12,5	17
P	0,349			0,151			0,085		

\*: Différence significative

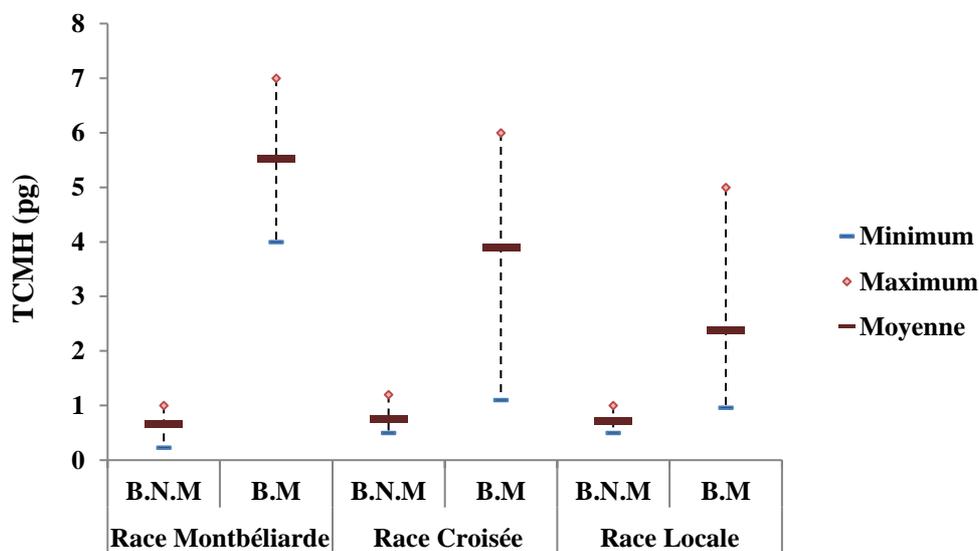
**Figure 32 :** Variation de la VGM entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

B.N.M : Bovins non malades, B.M : Bovins malades



**Figure 33 :** Variation de la CCMH entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

**B.N.M :** Bovins non malades, **B.M :** Bovins malades



**Figure 34 :** Variation de la TCMH entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

**B.N.M :** Bovins non malades, **B.M :** Bovins malades

**Tableau XX** : Type d'anémie en fonction du VGM et du CCMH d'après Weiss et al., (2010)

VGM ( $\mu\text{m}^3$ )	Type d'anémie
Valeurs physiologique	Normocytaire
Valeurs Supérieur	Macrocytaire
Valeurs Inférieur	Microcytaire
CCMH (%)	Type d'anémie
Valeurs physiologiques	Normochrome
Valeurs Inférieur	Hypochrome

## 2. PROFILES BIOCHIMIQUES DES BOVINS ATTEINTS DE LA THEILERIOSE TROPICALE

### 2.1. Influence de la theilériose sur la Glycémie

Les résultats consignés dans le tableau XXI montrent que les valeurs moyennes de la glycémie chez les bovins malades de race croisée et locale (0,67 et 0,73 g/l respectivement) sont légèrement inférieures à celles des animaux témoins (0,75 et 0,74 g/l respectivement).

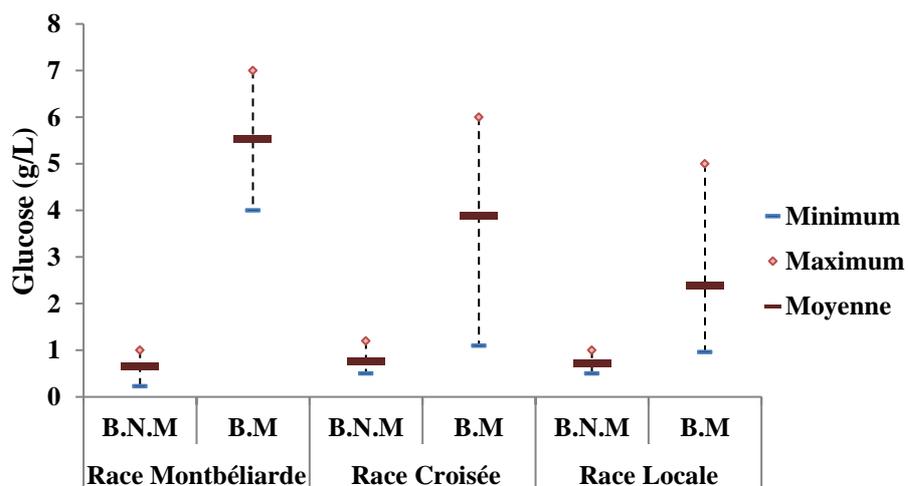
L'analyse statistique ne révèle aucune différence significative entre les deux races étudiées ( $p=0,081$  et  $0,42$  respectivement).

Chez la race Montbéliarde, la valeur moyenne de la glycémie chez les bovins malades (0,68 g/l) est significativement inférieure à celle des animaux témoins (0,79 g/l) ( $p=0,005$ ).

**Tableau XXI** : Variation de la glycémie entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

Race (nombre)	Glucose (g/L)		
	Moyenne $\pm$ écart type	Mini	Maxi
<b>Montbéliarde (27)</b>			
Bovins non malades (13)	0,79 $\pm$ 0,11	0,66	0,97
Bovins malades (14)	0,68 $\pm$ 0,06	0,62	0,85
P	<b>0,005 *</b>		
<b>Croisée</b>			
Bovins non malades	0,75 $\pm$ 0,11	0,6	0,93
Bovins malades	0,67 $\pm$ 0,07	0,5	0,74
P	0,081		
<b>Locale (32)</b>			
Bovins non malades (16)	0,74 $\pm$ 0,08	0,61	0,95
Bovins malades (16)	0,73 $\pm$ 0,18	0,59	1,42
P	0,42		

\*: Différence significative

**Figure 35** : Variation de la glycémie entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

B.N.M. : Bovins non malades, B.M. : Bovins malades

## 2.2. Influence de la theilériose sur Albuminémie

Après dosage, les valeurs moyennes de l'albumine trouvées chez les bovins malades de la race Montbéliarde (29,06 g/l) étaient significativement inférieures à celles des bovins cliniquement sains (33,46 g/l) ( $P=0,008$ ), (Tableau XXII).

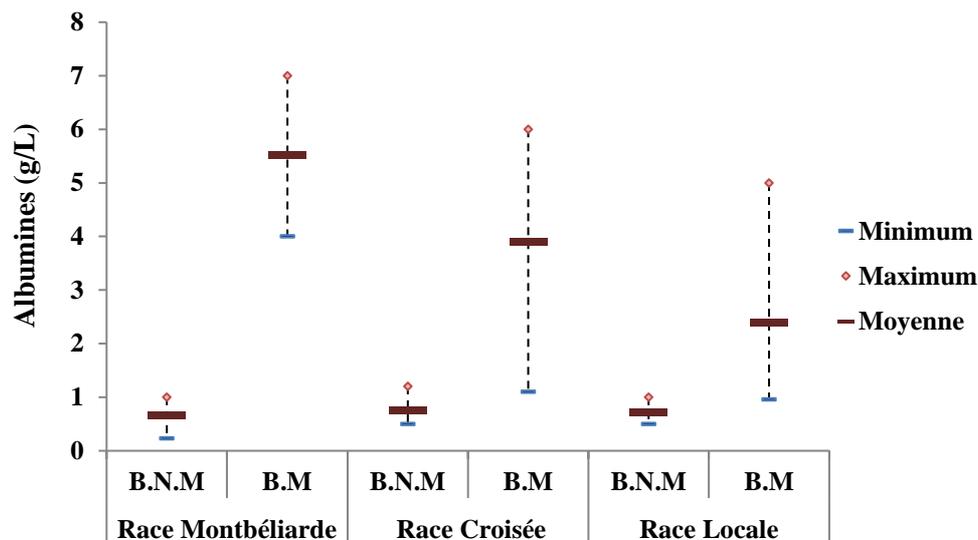
Les valeurs moyennes de l'albumine obtenues chez les bovins malades des races croisée et locale (30,30 et 28,92 g/l respectivement) étaient légèrement inférieures à celles des animaux témoins (32,63 et 30,56 g/l respectivement).

Cette différence n'est pas significative entre les deux groupes ( $p=0,140$  et  $0,156$  respectivement).

**Tableau XXII** : Variation de l'albumine entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

Race (nombre)	Albumines (g/L)		
	Moyenne $\pm$ écart type	Mini	Maxi
<b>Montbéliarde (27)</b>			
Bovins non malades (13)	33,46 $\pm$ 5,56	24	42
Bovins malades (14)	29,06 $\pm$ 8,78	23	49,13
P	<b>0,008 *</b>		
<b>Croisée (21)</b>			
Bovins non malades (11)	32,63 $\pm$ 3,44	27	40
Bovins malades (10)	30,30 $\pm$ 5,39	24	37,66
P	0,140		
<b>Locale (32)</b>			
Bovins non malades (16)	30,56 $\pm$ 3,30	25	36
Bovins malades (16)	28,92 $\pm$ 5,03	22	38,43
P	0,156		

\*: Différence significative



**Figure 36** : Variation de l'albumine entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

B.N.M : Bovins non malades, B.M : Bovins malades

### 2.3. Influence de la theilériose sur le taux des Protides totaux

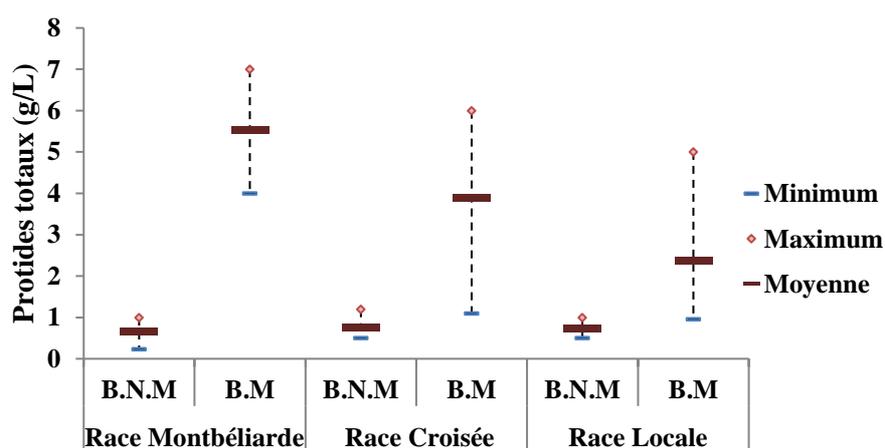
La valeur moyenne des protides totaux chez les animaux malades de la race Montbéliarde (69,28 g/L) est significativement inférieure à celle des animaux témoins (79,69 g/L) ( $p=0,03$ ).

Les valeurs moyennes des protides totaux obtenues chez les bovins malades de la race croisée et locale (77,31 et 75,96 g/l respectivement) étaient légèrement inférieures à celles des animaux témoins (78,36 et 79,81 g/l respectivement) (Tableau XXIII).

Cette différence n'est pas significative entre les deux groupes ( $p=0,340$  et  $0,242$  respectivement).

**Tableau XXIII** : Variation des protides totaux entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

Race (nombre)	Protides totaux (g/L)		
	Moyenne $\pm$ écart type	Mini	Maxi
<b>Montbéliarde (27)</b>			
Bovins non malades (13)	79,69 $\pm$ 5,99	64	86
Bovins malades (14)	69,28 $\pm$ 10,06	52	85,9
P	<b>0,03 *</b>		
<b>Croisée (21)</b>			
Bovins non malades (11)	78,36 $\pm$ 8,36	63	88
Bovins malades (10)	77,31 $\pm$ 12,38	61,9	108,8
P	0,340		
<b>Locale (32)</b>			
Bovins non malades (16)	79,81 $\pm$ 5,43	70	89
Bovins malades (16)	75,96 $\pm$ 21,19	55	146
P	0,242		

**Figure 37** : Variation des protides totaux entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

B.N.M : Bovins non malades, B.M : Bovins malades

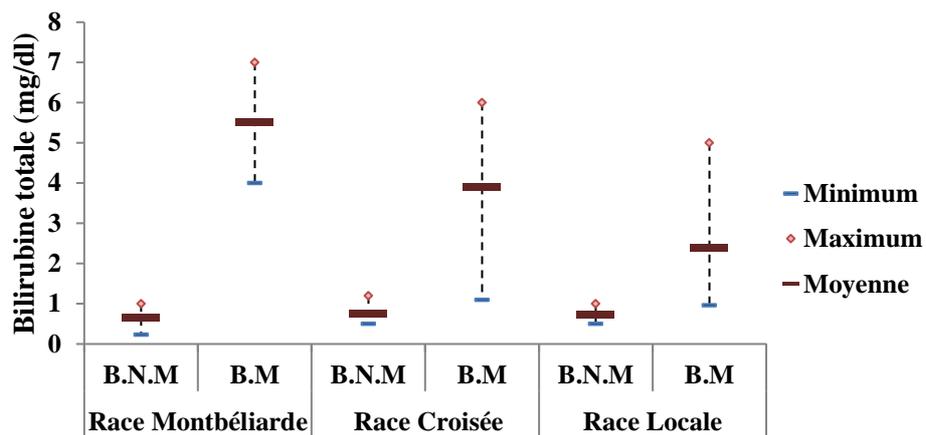
## 2.4. Influence de la theilériose sur la Bilirubine totale et directe

Les moyennes de la bilirubine totale et directe chez les bovins malades de la race Montbéliarde (5,52 et 1,18 mg/dl respectivement), croisée (3,89 et 1,24 mg/dl respectivement), et locale (2,38 et mg/dl 0,08 respectivement) sont significativement plus élevées que celles des bovins non malades de la race Montbéliarde (0,66 et 0,04 mg/dl respectivement), croisée (0,75 et 0,05 mg/dl respectivement), et locale (0,72 et 0,08 mg/dl respectivement) respectivement, ( $P < 0,001$ ) (Tableau XXIV).

**Tableau XXIV** : Variation de la bilirubine totale et directe entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

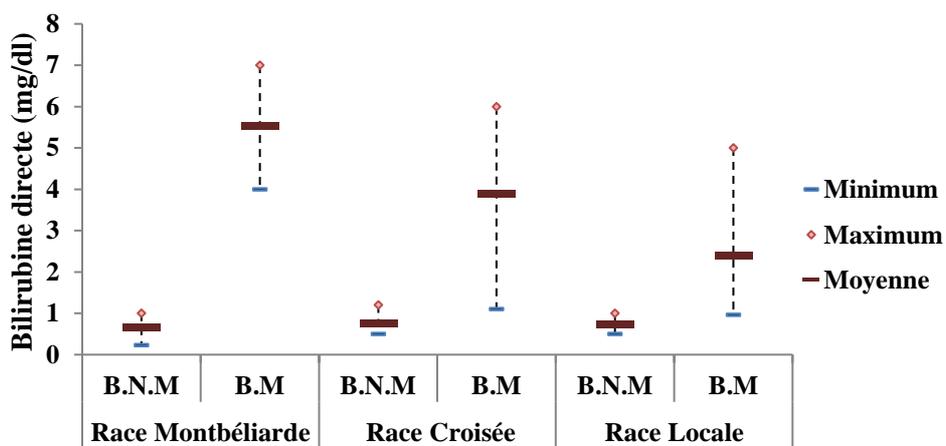
Race (nombre)	Bilirubine totale (mg/dl)		Bilirubine directe (mg/dl)			
	Moyenne $\pm$ écart type	Mini Maxi	Moyenne $\pm$ écart type	Mini	Maxi	
<b>Montbéliarde (27)</b>						
Bovins non malades (13)	0,66 $\pm$ 0,2	0,23 1	0,04 $\pm$ 0,1	0	0,9	
Bovins malades (14)	5,52 $\pm$ 1,2	4 7	1,18 $\pm$ 0,4	0,28	2	
P	<b>&lt;0,001*</b>		<b>&lt;0,001*</b>			
<b>Croisée (21)</b>						
Bovins non malades (11)	0,75 $\pm$ 0,2	0,5 1,2	0,05 $\pm$ 0,1	0	0,5	
Bovins malades (10)	3,89 $\pm$ 1,3	1,1 6	1,24 $\pm$ 0,7	0,3	2	
P	<b>&lt;0,001*</b>		<b>&lt;0,001*</b>			
<b>Locale (32)</b>						
Bovins non malades (16)	0,72 $\pm$ 0,1	0,5 1	0,045 $\pm$ 0,1	0	0,2	
Bovins malades (16)	2,38 $\pm$ 1,2	0,96 5	0,08 $\pm$ 0,4	0,04	2	
P	<b>&lt;0,001*</b>		<b>&lt;0,001*</b>			

\*: Différence significative



**Figure 38** : Variation de bilirubine totale entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

**B.N.M** : Bovins non malades, **B.M** : Bovins malades



**Figure 39** : Variation de bilirubine directe entre les bovins malades de theilériose et les bovins non malades

**B.N.M** : Bovins non malades, **B.M** : Bovins malades

---

**DISCUSSION**

L'infection par *T. annulata* est associée à une altération et une modification des paramètres sanguins biochimiques et hématologiques chez les bovins. Les analyses de ces paramètres sont utiles pour évaluer le degré de gravité de la maladie chez les animaux et mettre ainsi en place des mesures thérapeutiques spécifiques et symptomatiques à l'encontre de cette infection grave.

Dans la présente étude, la diminution significative des valeurs de l'hémoglobine, des hématies et de l'hématocrite chez les races Montbéliarde et croisée est attribuée à l'élimination des érythrocytes infectés par des macrophages dans les nœuds lymphatiques, la rate et d'autres organes du système des phagocytes mononucléés et non en raison de la destruction des érythrocytes par le parasite (Singh *et al.*, 2001). L'altération progressive des indices hématologiques observés au cours de l'infection par *T. annulata* a été également rapportée par Singh *et al.*, (2001) ; Ananda *et al.*, (2009) ; Masare *et al.*, (2009) ; et Qayyum *et al.*, (2010). De même, Sandhu *et al.*, (1998) après avoir infectés expérimentalement par *T. annulata* des veaux, ont observé une baisse progressive des valeurs de l'hémoglobine, l'hématocrite et des hématies.

A la lumière des résultats des profils hématologiques, les animaux présentaient deux types d'anémies : une anémie microcytaires hypochrome chez la race Montbéliarde et une anémie normocytaire normochrome chez les races croisée et locale. Sandhu *et al.*, (1998) ont rapporté la présence d'une anémie normocytaire normochrome chez des veaux de race croisée. D'autres types d'anémies ont été observés : une anémie macrocytaires hypochrome par Omer *et al.*, (2002) ; Durani *et al.*, (2008) et Modi *et al.*, (2015), une anémie normocytaire hypochrome par Ugalmugle *et al.*, (2010) ; Ganguly *et al.*, (2015) chez des bovins croisés, et une anémie macrocytaire normochrome (Muraleedharan *et al.*, 2005).

L'anémie observée au cours de l'évolution de la theilériose a été attribuée à une réaction auto-immune où les anticorps spécifiques élaborés par le système immunitaire agissent aussi bien contre les hématies parasitées que les hématies saines (Hooshmand-Rad, 1976). D'après Preston *et al.*, (1992), l'anémie pourrait résulter d'une destruction des hématies par les piroplasmes intra-globulaires. Plus tard, les travaux réalisés par Boulter et Hall, (2000) et Singh *et al.*, (2001) ont montré que l'anémie serait due à une phagocytose des hématies par

les macrophages des organes du système des phagocytes mononuclées et non à la destruction des piroplasmes. Dans le cas de *Theileria sergenti*, Shiono *et al.*, (2001) ont attribué l'anémie chez les bovins infectés à une élévation de la méthémoglobine (MetHb), une forme oxydée de l'hémoglobine.

En conclusion, la raison principale invoquée est la destruction des hématies au cours de la multiplication des parasites et leur phagocytose par les macrophages.

Dans la présente étude, les résultats du dosage des leucocytes n'ont pas révélé une leucocytose significative chez les bovins malades par rapport aux animaux témoins chez la race locale, ceci peut être expliqué par le fait que les prélèvements sanguins ont été réalisés chez les bovins soit au début d'évolution soit après quelques jours de l'apparition des signes cliniques. Chez la race croisée, le dosage des leucocytes a révélé une légère leucopénie non significative, alors que chez la race Montbéliarde, une leucocytose marquée a été révélée chez les animaux malades. En général, une augmentation marquée des leucocytes est rapportée chez les bovins atteints de theilériose en phase aiguë (Aulakh et Singla, 2006 ; Ugalmugle *et al.*, 2010). Cependant, Sandhu *et al.*, (1998) ont observé une augmentation immédiate de la numération leucocytaire, suivie par une diminution significative plusieurs jours après le début de l'infection par *Theileria*.

L'observation d'emblée d'une leucopénie significative a été rapportée par Osman et El Gaabary, (2007) sur des buffles atteints de theilériose tropicale dont la valeur moyenne passe de 8.41 à 5.57 ( $10^3/\mu\text{L}$ ). Des résultats similaires ont été trouvés chez des bovins infectés par *T. annulata* (Omer *et al.*, 2002 ; Bell-Sakyi *et al.*, 2004 ; Modi *et al.*, 2015).

La leucocytose résulte de la prolifération des lymphocytes dans les organes lymphoïdes comme une réaction de défense à l'invasion et à la multiplication de *T. annulata*, alors que la leucopénie est la conséquence de la destruction des leucocytes par le parasite.

Les modifications dans le leucogramme pourraient être attribuées à des effets nocifs des métabolites toxiques persistants de *T. annulata* sur les organes hématopoïétiques en particulier la moelle osseuse et leur interférence sur la leucogénèse (Ganguly *et al.*, 2015).

La leucocytose avec l'augmentation relative du nombre des lymphocytes et des monocytes est le reflet du mécanisme compensatoire des cellules cibles en réponse à l'invasion du parasite *T. annulata* (Lamia et Abo-EL-Hassan, 1997).

Dans la présente étude, une diminution non significative de la glycémie a été observée chez la race croisée et locale, ces résultats concordent avec ceux rapportés par Sandhu *et al.*, (1998) chez les veaux atteints de theilériose. Col et Uslu, (2006) ont rapporté une hypoglycémie plus marquée dans une étude réalisée sur des bovins infectés par *T. annulata*. Ces derniers résultats sont similaires à ceux rapportés dans la présente étude chez la race Montbéliard.

La diminution de la glycémie pourrait être due à l'utilisation du glucose par les parasites *Theileria* dans le sang et suite à un dysfonctionnement hépatique lors d'une infection à *Theileria*. Des résultats similaires ont été rapportés par El-Deeb et Younis, (2009) chez les buffles d'eau infectés.

La diminution de la concentration d'albumine chez les bovins cliniquement atteints de theilériose est peut-être à l'origine de la diminution des protéines totales qui n'est pas significative entre les deux groupes. Omer *et al.*, (2003) et Singh *et al.*, (2001) ont attribué la faible concentration sérique des protéines totales chez les bovins naturellement infectés par *T. annulata* à une hypoalbuminémie et une hypoglobulinémie découlant de l'insuffisance hépatique. Dans la présente étude, seuls les bovins malades de la race Montbéliarde ont présenté une diminution significative de la concentration de l'albumine.

L'augmentation significative de la concentration de la bilirubine totale et directe peut être due à deux mécanismes, le premier est le dysfonctionnement hépatique où on observe une augmentation significative de la concentration de la bilirubine directe, l'autre est due à une anémie hémolytique. Des résultats similaires ont été obtenus par plusieurs auteurs (Hooshmand-Rad, 1976 ; Yadav et Sharma, 1986 ; Sandhu *et al.*, 1998 ; Singh *et al.*, 2001 ; Omer *et al.*, 2003).

Les modifications observées dans les valeurs hématologiques et biochimiques chez les bovins infectés par *T. annulata* sont les indicateurs de la gravité de la maladie et sont utiles pour le diagnostic, le pronostic et pour la mise en place d'une thérapie efficace. Ces modifications présentent une variation entre les races de bovins qui doit être prise en considération.

*Quatrième partie expérimentale*

**Impact de la theilériose tropicale bovine sur la production laitière**

## 1. INTRODUCTION

La theilériose tropicale bovine représente une entrave au développement de l'élevage bovin dans plusieurs pays, incluant le Nord de l'Afrique, le Sud de l'Europe, le Proche et le Moyen Orient, l'Inde et la Chine. L'infection par *T. annulata* est considérée comme une menace majeure pour le développement de l'industrie du lait, de la viande et des produits dérivés, cette importance économique est due d'abord à l'effectif d'animaux à risque (250 millions de bovins étaient à risque de theilériose tropicale dans le monde (Uilenberg, 1981) et également aux pertes financières en raison des mortalités enregistrées aussi bien chez les adultes que les jeunes, aux avortements et aux coûts du traitement (Minjauw *et al.*, 2003), ce dernier étant un des plus coûteux en pathologie bovine. A ces pertes, il faut ajouter les coûts indirects consécutifs aux mesures de quarantaine, à la lutte contre les tiques et aux limitations des déplacements des troupeaux. Sergent *et al.*, (1945) ont déclaré dès les années 1920 que la theilériose tropicale est un lourd fardeau à l'économie Algérienne.

Actuellement devant le manque de données chiffrées sur les pertes occasionnées par la theilériose tropicale en Algérie, l'objectif de notre présente étude est d'évaluer l'impact de cette infection sur la production de lait.

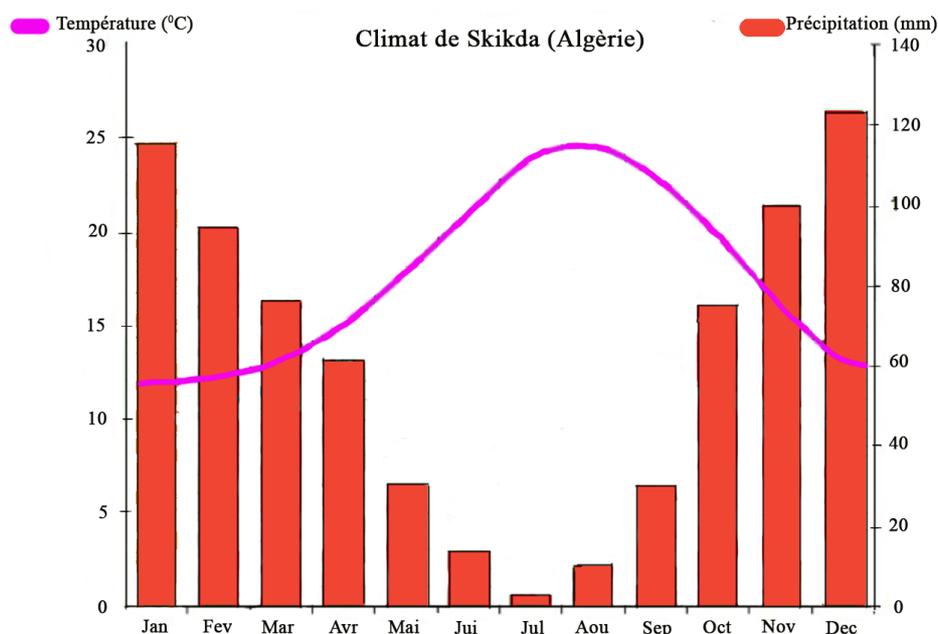
## 2. REGION D'ETUDE

La région de Skikda est située au nord-est de l'Algérie (36° 53'N, 6° 54'E) (Figure 40). Elle dispose de frontières communes avec les wilayas d'Annaba, de Guelma, de Constantine, de Mila et de Jijel. Sa superficie est de 4 137,68 km<sup>2</sup> et une population avoisinant les 804 697 habitants. Elle dispose de 130 km de côtes qui s'étalent de la Marsa à l'est jusqu'à Oued Z'hour au massif de *Collo* à l'ouest. De part sa situation sur le littoral, elle bénéficie d'un climat sub humide (méditerranéen à sec), avec des étés chauds et secs en raison de la domination des systèmes de haute pression subtropicale et des hivers doux avec des températures modérées, et une pluviométrie importante en raison de front polaire ([https://fr.wikipedia.org/wiki/Wilaya\\_de\\_Skikda](https://fr.wikipedia.org/wiki/Wilaya_de_Skikda)).



**Figure 40** : Localisation géographique de la région de Skikda, Algérie

Les températures moyennes mensuelles sont de 22°C durant le mois le plus chaud et varie entre -3 et 18°C durant le mois le plus froid avec au moins quatre mois avec des températures supérieures à 10 °C (Köppen-Geiger classement: Csa). La température moyenne annuelle est de 17,6°C. La pluviométrie moyenne annuelle est estimée à 728,6 mm.



**Figure 41** : Température et précipitations annuelles dans la région de Skikda (Service Météorologique, 2015)

### 3. MATERIEL ET METHODES

#### 3.1. Choix des animaux et prélèvements

La présente étude a été réalisée dans la wilaya de Skikda (Nord de l'Algérie) durant juillet et août 2015. C'est une région subhumide enzootique pour la theilériose tropicale bovine. Un nombre total de 10 vaches laitières croisées âgées de 3 à 6 ans (âge moyen : 4,3 ans) ont été inclus dans l'enquête, ils ont présenté des symptômes typiques de la theilériose, notamment une hyperthermie entre 40 et 42°C, une hypertrophie des nœuds lymphatiques, une hyporexie voire, une anorexie, et une diminution de la production laitière. Les animaux ont été traités par une injection par la voie intramusculaire de la buparvaquone à la dose classique de 2,5 mg/kg avant la traite durant la première visite

La production laitière de chaque vache malade a été estimée à l'occasion des visites hebdomadaires pendant deux mois.

La variation relative moyenne de la production de lait a été estimée pour chaque visite comme suit:

$$\text{Variation relative (\%)} = 100 \times \frac{(\text{P.L. de la visite (n + 1)} - \text{P.L. de la visite (n)})}{\text{P.L. de la visite (n)}}$$

P.L. : productions de lait

n : numéro de la visite

Les données ont été saisies sur des tableaux Excel.

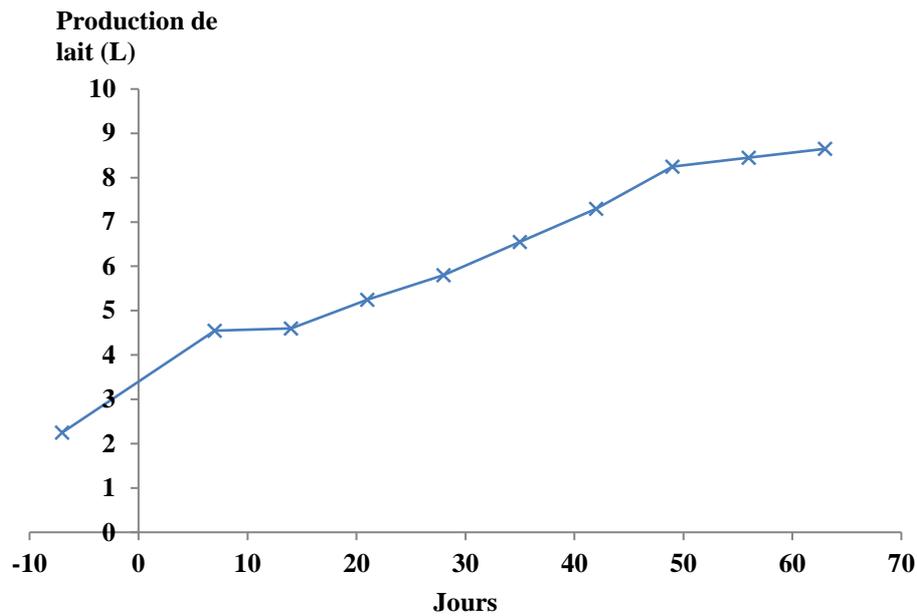
## RESULTATS

L'enquête a révélé que la production laitière a baissé sensiblement chez les dix vaches laitières atteintes de theilériose tropicale. Cependant, après l'instauration de traitement anti-*Theileria annulata*, le rendement laitier moyen augmente progressivement, a passé de 2,2 L au jour -7 à 5,8 L au jour 35 pour atteindre 8,6 L au jour 63 (Figure 41).

**Tableau XXV :** La production laitière durant les deux mois qui suivent l'apparition des symptômes de la theilériose tropicale

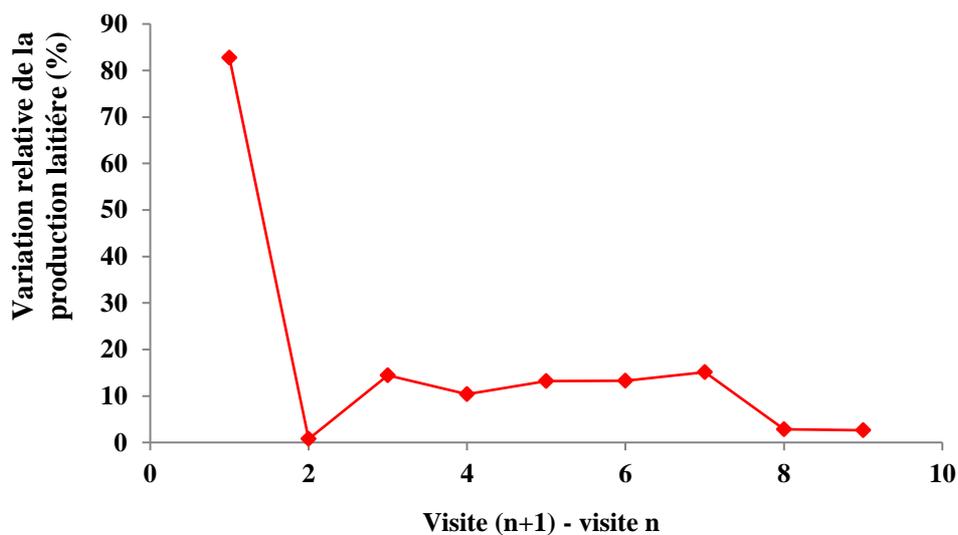
N° de la vache	Production laitière (L)									
	J -7	J+7	J+1 4	J+2 1	J+2 8	J+3 5	J+4 2	J+4 9	J+5 6	J+6 3
1	2	5,5	5,5	6	7	7,5	7,5	8	8	8
2	2,5	4	3,5	4	4	4,5	6	6	6	6
3	3	5	5	6	6	6,5	7	9	9,5	9,5
4	2,5	5	5	5	6,5	6,5	7	7	7	7
5	2	5	5,5	6	8	8,5	9	10	10	10
6	2	6	6	7	7	10	12	12	12	12
7	1,5	5	5,5	7	7,5	8	8	10	10	10,5
8	2	2,5	2,5	3	3,5	4	5	7	7	8
9	2	3	3	3,5	3,5	4	5	7	7	7,5
10	3	4,5	4,5	5	5	6	6,5	6,5	8	8
<b>Moyenne</b>	2,2	4,5	4,6	5,2	5,8	6,5	7,3	8,2	8,4	8,6

J-7 : correspond au jour de l'administration de la buparvaquone.



**Figure 42 :** Production laitière moyenne chez les vaches atteintes de *Theileria annulata*

La variation relative de la production laitière a montré une diminution spectaculaire de 82,72 à 0,76% au jour 21, suivie d'une légère augmentation qui a atteint 14,41% vers le 28<sup>ème</sup> jours puis est redevenue constante (Figure 42).



**Figure 43 :** Variation relative de la production laitière chez les vaches atteintes de theilériose tropicale bovine

La perte du lait chez les 10 vaches représente 31,9% de la production laitière moyenne au jour 63 correspondant à 2,76 L/jour/vache. Ces pertes ont été estimées à 110,5 Dinars algériens (1,02\$)/jour/vache malade. Ces pertes sont sous-estimées puisque nous considérons comme le rendement laitier au jour 63 comme référence, et la production de lait avant l'atteinte des vaches est inconnue, de même la durée entre le début de l'infection et l'apparition des signes cliniques est inconnue. Même si les vaches ont été traitées, elles restent porteuses du parasite et montrent une diminution de la production de lait persistante, ce qui augmente l'impact de cette maladie sur la production laitière.

---

**DISCUSSION**

L'Algérie paye une facture élevée pour importer plus de la moitié de la consommation du lait. Il est le deuxième importateur de lait et dérivés au monde après le Mexique. La consommation annuelle moyenne de lait en Algérie est en augmentation de 57 % entre 1996 et 2004 (Souki, 2009). De ce fait la production de lait doit être augmentée par le biais de plusieurs méthodes : augmentation des effectifs de vaches laitières, amélioration de l'élevage laitier ou par la minimisation des pertes de lait due aux diverses maladies.

Dans le monde, peu d'études ont concerné l'estimation de l'impact de l'infection par *T. annulata* sur la production laitière, ces pertes sont totalement inconnues en Algérie.

La theilériose tropicale est à l'origine d'une chute marquée de la production de lait voire un tarissement lacté, ce qui incite les éleveurs à consulter leurs animaux par le vétérinaire. Cette perte a été estimée dans la présente étude à 31.9% soit une perte journalière de 2,76 L/ jour / vache de la production moyenne pendant les 63 jours qui suivent le début des manifestations cliniques. Merzkani, (2014) a estimé ces pertes à 802 L durant les deux mois qui suivent la phase clinique. Dans le nord de la Tunisie, M'barek, (1994) avait évalué les pertes à 300 L de lait pendant le mois qui suit la maladie. Cet écart trouvé avec nos résultats peut être expliqué par le fait que ces vaches étaient Holstein haute productrice de lait alors que les vaches incluses dans notre étude sont de race locale et ont été traitées avec de la buparvaquone. Des pertes moins importantes (1,4 L/vache/jour) ont été rapportées chez le zébu en Inde (Singh, 1991). Gharbi *et al.*, (2015) estiment le rendement quotidien des pertes de lait du à l'infection à *T. annulata* chez les taurine métis (*Bostaurus*) à 0,77 kg / par vache porteuse. Les différences entre les résultats que nous avons trouvé et ceux rapportés dans ces deux dernières études montrent l'écart entre l'impact du portage asymptomatique et celui de consécutif à la maladie.

Dans la présente étude, les pertes ont été estimées à 110.5 dinars algériens/vache/jour. Gharbi *et al.*, (2011) trouvent que la baisse de la production de lait chez les vaches infectées par *T. annulata* représente la part la plus importante (entre 22 % et 38 %) des pertes totales induites par ce parasite. Les pertes ont été estimées à 81,43 dinars (€ 48,73) par vache malade, correspondant à une chute de 203 L dans la production laitière. L'incidence de la theilériose

tropicale sur la production laitière a été également estimée dans des élevages de bovins laitiers au Soudan. Une perte de 67,5 L/jour a été enregistrée, et la perte totale au cours de deux mois après l'infection a été estimée à 4185 litres soit une perte totale de 4185 dollars (Marcellino *et al.*, 2008).

Les résultats de ce présent travail ont montré l'impact important de la theilériose tropicale bovine sur le rendement laitier en Algérie. Ces pertes sous-estimées dans notre étude doivent motiver la mise en place de mesures de lutte efficaces contre cette maladie, ciblant le pathogène identifié et son vecteur.

Cette étude préliminaire a montré des pertes élevées dans la production laitière chez les vaches de races locales algériennes cliniquement atteintes par *T. annulata*, d'autres études sont nécessaires pour affiner cette estimation afin de classer la theilériose tropicale bovine parmi les autres problèmes de santé du bétail en Algérie.

## **CONCLUSION GENERALE**

## CONCLUSION GENERALE

La theilériose tropicale est une maladie vectorielle dont l'impact économique dans les élevages bovins est considérable. Elle constitue un véritable frein au développement de l'élevage bovin par l'introduction de races exotiques à haut potentiel génétique dans les régions endémiques des pays de l'Afrique du Nord. Après guérison les animaux infectés restent porteurs du parasite et peuvent de ce fait contribuer à la propagation de la maladie. En Algérie peu de travaux récents ont été réalisés malgré l'impact économique et médical de cette infection.

La theilériose tropicale, de part son caractère endémique, représente une menace réelle pour le développement de la production du lait et de la viande. Sergent *et al.*, (1945) ont déclaré dès les années 1920 que la theilériose tropicale a imposé un lourd fardeau économique en Algérie.

Dans le cadre de nos travaux, une première étude épidémiologique conduite dans la région d'El Eulma, située dans l'étage bioclimatique semi-aride, a montré le caractère endémique des piroplasmoses bovines sensu lato avec une prédominance de la theilériose tropicale (81,2%) avec des taux de parasitémie parfois élevés en été correspondant à la période de l'apparition de la maladie. Cette forte endémicité est en relation étroite avec la présence d'un biotope favorable à la tique vectrice, *Hyalomma scupense* et *Hyalomma lusitanicum*. Ces tiques sont bien adaptées aux étages bioclimatiques humide, subhumide et semi-aride.

Dans une deuxième étude, la détection du pathogène, *T. annulata* agent de la theilériose tropicale a été réalisée sur des bovins porteurs asymptomatiques avant et après la saison de la maladie. L'identification précise des bovins porteurs est nécessaire pour mettre en place une stratégie de contrôle afin de limiter la propagation de la maladie. Les bovins porteurs sont la principale source de persistance de la theilériose dans les régions où les tiques vectrices sont présentes. Deux méthodes de diagnostic incluant la technique de l'étalement de sang coloré au Giemsa, et la méthode moléculaire, la PCR, ont été utilisées pour détecter les taux de prévalence des bovins porteurs, parasités par *T. annulata* dans la province d'El Eulma dans le nord-est de l'Algérie. La méthode PCR était plus sensible pour la détection des bovins porteurs de *T.annulata* que l'examen microscopique durant les deux périodes de notre enquête, avant et après

la saison de la theilériose : 38,9% vs 17,8% et 50% vs 16,4% respectivement. Ce test constitue un outil fiable dans les enquêtes épidémiologiques.

L'étude épidémiologique de la theilériose en Algérie, doit prendre en considération la présence de la tique *Hyalomma lusitanicum*, pour pouvoir mettre en place une stratégie de lutte efficace.

Après séquençage, *Theileria annulata* ciblant le gène Tams1 (GenBank Numéro d'accession: (KX196177) a été identifié dans la présente étude. Cet amplicon (KX196177) présente une homologie de 96,9% (AB917290), 98,6%(AF214881) et 98,9% (AF214819) avec ceux isolés en Égypte, en Tunisie et en Mauritanie respectivement. Tous ces isolats ont été regroupés en un seul clade.

L'analyse des paramètres hématologiques a montré une diminution significative des valeurs de l'hémoglobine, des hématies et de l'hématocrite, à l'origine de l'anémie observée lors de l'évolution de la theilériose, celle-ci est attribuée à l'élimination des érythrocytes infectés par des macrophages des organes du système des phagocytes mononuclés.

La leucocytose résulte de la prolifération des lymphocytes dans les organes lymphoïdes comme une réaction de défense à l'invasion et à la multiplication de *T. annulata*, alors que la leucopénie est la conséquence de la destruction des leucocytes par le parasite.

Les modifications observées dans les valeurs hématologiques et biochimiques chez les bovins infectés par *T. annulata* sont les indicateurs de la gravité de la maladie et sont utiles pour le diagnostic, le pronostic et pour la mise en place d'une thérapie efficace. Une variation de ces paramètres est mise en évidence entre les différentes races étudiées.

La theilériose tropicale est à l'origine d'une chute marquée de la production de lait voire un tarissement lacté, ce qui incite les éleveurs à consulter leurs animaux par le vétérinaire. Cette perte a été estimée dans la présente étude à 31,9% de la production moyenne pendant les 63 jours qui suivent le début des manifestations cliniques. Les pertes ont été évaluées à 110,5 dinars algériens/vache/jour.

Les pertes, souvent sous-estimées, induites par la theilériose tropicale bovine sur le rendement laitier en Algérie persistent pendant plusieurs mois après guérison, et doivent motiver la mise en place de mesures de lutte efficaces contre cette maladie, ciblant le pathogène identifié et son vecteur.

La forte endémicité et les pertes induites par la theilériose tropicale et les babésioses à un degré moindre doivent motivées la mise en œuvre d'un programme de lutte à l'encontre de ces maladies dans la région endémiques. Aussi, le programme de lutte anti-vectorielle devra être adapté en fonction de la biologie et de la dynamique saisonnière des tiques vectrices de ces infections.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## A

- Achard Damien Thomas., (2005).** Exploration des affections hépatiques chez la vache laitière. Apport des examens complémentaires Détermination des valeurs usuelles sanguines en ASAT, GDH, \_GT et bilirubine totale Application au diagnostic de l'ehrlichiose bovin. Thèse doct. Sci. Vet., Nante, France, 36 -53 p.
- Ait Hamou S., Rahali T., Sahibi H., Belghyti D., Losson B., Rhalem A., (2012).** Séroprévalences des hémoparasitoses bovines dans deux régions irriguées du Maroc. *Revue Méd. Vét.*, 163, 10, 480-485.
- Aktas M., Altay K., Dumanli N., (2006).** A molecular survey of bovine *Theileria* parasites among apparently healthy cattle and with a note on the distribution of ticks in eastern Turkey. *Vet. Parasitol.*138, 179–185.
- Al-Hosary A.A.T., Ahmed J., Nordengrahn A., Merza M., (2015).** Assessment of the First Commercial ELISA Kit for the Diagnosis of *Theileria annulata*. *J. Parasitol. Res.* 787-812. doi:10.1155/2015/787812.
- Altay K., Aydin M.F., Dumanli N., Aktas M., (2008).** Molecular detection of *Theileria* and *Babesia* infections in cattle. *Veterinary Parasitology*, 158, 295-301.
- Ananda K.J, D'Souza P.E, Puttalakshamma G.C., (2009).** Prevalence of haemoprotozoan diseases in crossbred cattle in Bangalore north. *Veterinary World*, 2(1): 15-16.
- Apanaskevich D.A., Filippova N.A., Horak I.G., (2010).** The genus *Hyalomma* Koch, 1844. X. redescription of all parasitic stages of *H. (Euhyalomma) scupense* Schulze, 1919 (= *H. detritum* Schulze) (Acari: Ixodidae) and notes on its biology. *Folia Parasitol. (Praha)* 57, 69–78.
- Aparna M., Ravindran R., Vimalkumar M.B., Lakshmanan B., Rameshku- mar P., Kumar K.G., Promod K., Ajithkumar S., Ravishankar C., Devada K., Subramanian H., George A.J., Ghosh S., (2011).** Molecu- lar characterization of *Theileria orientalis* causing fatal infection in crossbred adult bovines of South India. *Parasitol. Int.* 60, 524–529.

**Asri Rezaei S., Dalir-Naghadeh B., (2006).** Evaluation of antioxidant status and oxidative stress in cattle naturally infected with *Theileria annulata*. *Vet. Parasitol.* 142, 179–186. doi:10.1016/j.vetpar.2006.05.033

**Aulakh GS., Singla LD., 2006.** Clinico-hemtbiochemical observations on bovines naturally infected with *Theileria annulata*. *Journal of Veterinary Parasitology.* 20: 49-52.

**Azizi H., Shiran B., Farzaneh Dehkordi A., Salehi F., Taghadosi C., (2008).** Detection of *Theileria annulata* by PCR and its comparison with smear method in native carrier cows. *Biotechnology.* 7, 574–577.

## B

**Bakheit M.A., Schnittger L., Salih D.A., Boguslawski K., Beyer D., Fadl M., Ahmed J.S., (2004).** Application of the recombinant *Theileria annulata* surface protein in an indirect ELISA for the diagnosis of tropical theileriosis. *Parasitol. Res.* 92, 299–302. doi:10.1007/s00436-003-1055-7.

**Bell-Sakyi L., (2004).** *Ehrlichia ruminantium* grows in cell lines from four ixodid tick genera. *J. Comp. Pathol.* 130, 285–293. doi:10.1016/j.jcpa.2003.12.002

**Benchikh-Elfegoun M.C., Benakhla A., Bentounsi B., Bouattour A., Piarroux R., (2007).** Identification et cinétique saisonnière des tiques parasites des bovins dans la région de Taher (Jijel) Algérie. *Ann. Médecine Vét.* 151, 209–214.

**Benchikh Elfegoun M.C., Gharbi M. S. Djebir S., Kohil K., (2013).** Dynamique d'activité saisonnière des tiques ixodidés parasites des bovins dans deux étages bioclimatiques du nord-est algérien. *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux,* 66 (4).

**Ben Miled L., (1994).** Population diversity in *Theileria annulata* in Tunisia. PhD thesis, University of Edinburgh. 252 pp.

- Ben Said Mourad, Galai Yousr, Canales Mario, Nijhof Ard Menzo, Mhadhbi Moez, Jedidi Mohamed, de la Fuente José, Darghouth Mohamed Aziz, (2012).** Hd86, the Bm86 tick protein ortholog in *Hyalomma scupense* (syn. *H. detritum*): Expression in *Pichia pastoris* and analysis of nucleotides and amino acids sequences variations prior to vaccination trials M. Ben Said et al. / *Veterinary Parasitology* 183 215–223.
- Bilgic H.B., Karagenc T., Shiels B., Tait A., Eren H., Weir W., (2010).** Evaluation of cytochrome b as a sensitive target for PCR based detection of *T. annulata* carrier animals. *Vet. Parasitol.* 174, 341–347. doi:10.1016/j.vetpar.2010.08.025.
- Bishop R., Sohanpal B., Kariuki D.P., Young A.S., Nene V., Baylis H., Allsopp B.A., Spooner P.R., Dolan T.T., Morzaria S.P., (1992).** Detection of a carrier state in *Theileria parva*-infected cattle by the polymerase chain reaction. *Parasitology.* 104, 215–232.
- Bouattour A., (1996).** Etude des tiques des bovins dans la région de Sidi Thabet : leur rôle dans la transmission de la theilériose. Diplôme études approf. écol. anim., Faculté des Sciences de Tunis, Tunisie. 62 p.
- Bouattour A., (2001).** Les tiques de Tunisie : role de *Hyalomma detritum* dans la transmission de *Theileria annulata*. These Biologie, faculté des Sciences, Tunis. 247 p.
- Bouattour A., Darghouth M.A., Ben Miled L., (1996).** Cattle infestation by *Hyalomma detritum* ticks and prevalence of *Theileria* in *Hyalomma detritum* species in Tunisia. *Vet. Parasitol.* 65: 256-263.
- Bouattour A., Darghouth M.A., Daoued A., (1999).** Distribution and ecology of ticks (*Acari, Ixodidae*) infesting livestock in Tunisia. An overview of results of 8 years field collection. *Parassitologia*, 41, (suppl. 1), 33-36.
- Boukaboul A., (2003).** Parasitisme des tiques (*Ixodidae*) des bovins à Tiaret. *Rev. Délevage Médecine Vét. Pays Trop.* 56, 157–162.
- Boulter N., Hall R., (2000).** Immunity and vaccine development in the bovine theileriosis. *Advances in Parasitol.*, 44 : 41 – 97.

**Bouslikhane M., (1998).** Tropical theileriosis (*Theileria annulata*) in Morocco: epidemiological and economic investigations. University of Reading.

**Brown C. G. D., (1997).** Dynamics and impact of tick borne diseases of cattle. *Trop. Anim. Health Prod*, 29 (4): 1–3.

**Brown D.J., Campbell J.D.M., Russell G.C., Hopkins J., Glass E.J., (1995).** T cell activation by *Theileria annulata*-infected macrophages correlates with cytokine production. *Clin. Exp. Immunol.* 102, 507–514.

**Burridge M.J., Brown C.G.D., Kimber C.D., (1974).** *Theileria annulata*: cross-reactions between a cell culture schizont antigen and antigens of East African species in the indirect fluorescent antibody test. *Exp. Parasitol.* 35, 374–380.

## C

**Campbel J.D.M., Spooner R.L., (1999).** Macrophages behaving badly: infected cells and subversion of immune responses to *Theileria annulata*. *Parasitol. Today* 15, 10–16.

**Cariello N.F., (1988).** DNA damage produced by ethidium bromide staining and exposure to ultraviolet light. *Nucl. Acids Res.*, 16, 4157.

**Chaisi M.E., Janssens M.E., Vermeiren L., Oosthuizen M.C., Collins N.E., Geysen D., (2013).** Evaluation of a real-time PCR test for the detection and discrimination of *Theileria* species in the African buffalo (*Syncerus caffer*). *PLoS One* 8, e75827.

**Chartier Christophe, Itard Jacques, Morel Pierre-Claude, Troncy Pierre-Maurice (2000).** Précis de parasitologie vétérinaire tropicale. Edition Tec & Doc, p 575-620.

**Claire ISLER, (2007).** Evolution des paramètres biochimiques lors de déplacement à gauche de la caillette chez la vache laitière : Etude de quatre cas, thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire. Université Claude-Bernard - Lyon I (Médecine - Pharmacie), p 41.

**Col R., Uslu U., (2006).** Haematological and coagulation profiles during severe tropical theileriosis in cattle. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 30, 577–582.

**Conrad P.A., Kelly B.G. and Brown C.G.D., (1985).** In- traerythrocyte schizogony of *Theileria annulata*. Parasitology 91, 67-82.

## D

**Darghouth M.A., (2004).** Prévention de la theilériose tropicale en Tunisie : lutte acaricide et vaccination. Comptes rendus des 11 èmes journées de l'institution de la recherche et de l'enseignement supérieur agricoles. 18 et 19 Décembre 2004, Hammamet, Tunisie.

**Darghouth M.A., (2008).** Review on the experience with live attenuated vaccines against tropical theileriosis in Tunisia: Considerations for the present and implications for the future. Vaccine, Attenuated Vaccines for Animal Diseases 26, Supplement 6, G4–G10. doi:10.1016/j.vaccine.2008.09.065

**Darghouth M.A., Bouattour A., Ben Miled L., Sassi L., (1996).** Diagnosis of *Theileria annulata* infection of cattle in Tunisia : comparison of serology and blood smears. Vet. Res., 27 : 613 – 621.

**Darghouth M.A., Bouattour A., Kilani M., (1999).** Tropical theileriosis in Tunisia: epidemiology and control. *Parassitologia*, 41 (suppl. 1): 33-36.

**Darghouth M.A., Sassi L., Gharbi M., Soudani M.C., Karoui M., Krichi A., (2004).** Detection of natural infections with *Theileria annulata* on calves at first theileriosis season: comparison of the Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT) and blood smears. Arch L'Institut Pasteur Tunis, 81, 41–5.

**Dhar S., Gautam O.P., (1979).** Observations on anemia in experimentally induced *Theileria annulata* infection of calves. Indian J. Anim. Sci. 49, 511–516.

**Dickson J., Shiels B.R., (1993).** Antigenic diversity of a major merozoite surface molecule in *Theileria annulata*. Mol. Biochem. Parasitol., 57: 55–64.

**Dmitry A., Apanaskevich N., Filippova Ivan A., Horak G., (2010).** The genus *Hyalomma* Koch, 1844. X. Redescription of all parasitic stages of *H. (Euhyalomma) scupense* Schulze, 1919 (= *H. detritum* Schulze) (Acari: Ixodidae) and notes on its biology. FOIIA PARASITOLOGICA 57[1]: 69–78.

- Dolan T.T., (1989).** La theilériose : rapport de synthèse. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1989, 8 (1), 37-57.
- d'Oliveira C., (1997).** *Theileria annulata* : recombinant vaccine development and molecular identification. Université d'Utrecht. PhD. 120 pp.
- d'Oliveira C., van der Weide M., Habela M.A., Jacquet P., Jongejan F., (1995).** Detection of *Theileria annulata* in blood samples of carrier cattle by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 33, 2665–2669.
- Doxey DL., (1977).** Hematology of the ox. In ARCHER RK, JEFFCOTT LB. And LEHMANN H. *Comparative clinical hematology* 1<sup>st</sup> ed. Blackwell scientific publications : 216-169.
- Drieu Claire, (2009).** Hématologie en médecine bovine et application a la réalisation d'une transfusion, Thèse, doctorat vétérinaire. École nationale vétérinaire D'Alfort. p 37, 47.
- Dumanli N., Aktas M., Cetinkaya B., Cakmak A., Koroglu E., Saki C.E., Erdogmus Z., Nalbantoglu S., Ongor H., Simsek S., Karahan M., Altay K., (2005).** Prevalence and distribution of tropical theileriosis in eastern Turkey. *Vet. Parasitol.* 127: 9–15. doi:10.1016/j.vetpar.2004.08.006
- Durrani A.Z., Mehmood N., Shakoori A.R., (2010).** Comparison of three diagnostic methods for *Theileria annulata* in Sahiwal and Friesian cattle in Pakistan. *Pak. J. Zool.* 42: 467–471.

## E

- El-Deeb W., Younis E., (2009).** Clinical and biochemical studies on *Theileria annulata* in Egyptian buffaloes (*Bubalus bubalis*) with particular orientation to oxidative stress and ketosis relationship. *Vet. Parasitol.* 164, 301–305.
- El Fourgi M., Sornicle J., (1967).** Epizootologie et prophylaxie de la theilériose bovine en Tunisie. *Bull. Off. Int. Epizoot.*, 58, 151-163.

**El Haj N., Kachani M., Bouslikhane M., Ouhelli H., Ahami A.T., Katende J., (2002).** Séro-épidémiologie de la theilériose à *Theileria annulata* et de la babésiose à *Babesia bigemina* au Maroc. Revue de Médecine Vétérinaire. 153, 189-196.

**El Hussein A.M., Hassan S.M., Salih D.A., (2012).** Current situation of tropical theileriosis in the Sudan. Parasitol. Res. 111: 503–508. doi:10.1007/s00436-012-2951-5

**Euzeby J., (1979).** Les babésioses des bovins. Revue Med. Vét., 130, 5, 685-712.

## F

**Felsenstein J., (1985).** Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution. 783–791.

**Flach E.J., Ouhelli H., Waddington D., Ouddich M., Spooner R.L., (1995).** Factors influencing the transmission and incidence of tropical theileriasis (*Theileria annulata* infection in cattle) in Morocco. Vet. Parasitol. 59, 177-188.

**Forse Bill, Meyer Christian, (2002).** Que faire sans vétérinaire. Cirad / CTA / Karthala. p. 295, 434.

**Forsyth L.M.G., Minns F.C., Kirvar E., Adamson R.E., Hall F.R., Mcorist S., Brown C.G.D., Preston P.M., (1999).** Tissue damage in cattle infected with *Theileria annulata* accompanied by metastasis of cytokine-producing, schizont-infected mononuclear phagocytes. J. Comp. Pathol. 120, 39–57.

**Friedhoff K.T., (1999).** Clinical and hematological infestations of *Theileria annulata* infection in cattle. Tropenmed Parasit. 32: 227-233.

## G

**Gamal A., El Hussein A.M., (2003).** Economic impact of Theileriosis on a dairy farm in Northern Sudan. Sudan J Vet Sci Anim Husb. 42, 272–278.

**Ganguly A., Bhanot V., Bisla R.S., Ganguly I., Singh H., Chaudhri S.S., (2015).** Hematobiochemical alterations and direct blood polymerase chain reaction detection of *Theileria annulata* in naturally infected crossbred cows. Vet. World. 8, 24–28. doi:10.14202/vetworld.2015.24-28

- Ghanem M.M., Abdelhamid O.M., Bakir N.M., (2013).** Clinico-biochemical, serological and molecular study on tropical theileriosis in Egyptian water buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Alex. J. Vet. Sci.* 39, 1–11.
- Gharbi Mohamed (2006).** Vaccination contre la theilériose tropicale en Tunisie (*Theileria annulata*) : analyse économique et essai d’immunisation par ADN. Thèse doctorat. L’institut national polytechnique de toulouse. p 3 – 41.
- Gharbi M., Hayouni M.E., Sassi L., Dridi O., Darghouth M.A., (2013).** *Hyalomma scupense* (Acari, Ixodidae) in Northeast Tunisia: seasonal population dynamics of nymphs and adults on field cattle. *Parasite*, 20: 12. DOI: 10.1051/parasite/2013012.
- Gharbi M., Mhadhbi M., Darghouth M.A., (2012).** Diagnostic de la theilériose tropicale du bœuf (infection par *Theileria annulata*) en Afrique du Nord. *Rev. Méd Vét* 163, 563–571.
- Glass E.J., (2001).** The balance between protective immunity and pathogenesis in tropical theileriosis: what we need to know to design effective vaccines for the future. *Res Vet Sci.*, 70 : 71-5.
- Gharbi M., Darghouth MA., (2014).** A review of *Hyalomma scupense* (Acari, Ixodidae) in the Maghreb region: from biology to control. *Parasite*. 21, 2.
- Gharbi M., Darghouth M.A., (2015).** Control of tropical theileriosis (*Theileria annulata* infection in cattle) in North Africa. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 5, 505–510. doi:10.1016/S2222-1808(15)60825-8
- Gharbi M., Rekik B., Mabrouk M., Hassni M., Zroud W., Mhadhbi M., Sassi L., Jedidi M., Darghouth MA., (2015).** Impact of the carrier state by *Theileria annulata* on milk yield in Tunisian crossbred (*Bos taurus*) cattle. *Asian Pac J Trop Dis.* 5(11): 930-933.
- Gharbi M., Rjeibi M.R., Darghouth M.A., (2014).** Epidémiologie de la theilériose tropicale bovine (infection par *Theileria annulata*) en Tunisie : une synthèse. *Revue d’élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux.* 67 (4) : 241-247.

- Gharbi M., Sassi L., Dorchie P., Darghouth M.A., (2006).** Infection of calves with *Theileria annulata* in Tunisia: Economic analysis and evaluation of the potential benefit of vaccination. *Vet. Parasitol.* 137: 231-241.
- Gharbi M., Touay A., Khayeche M., Laarif J., Jedidi M, Sassi L, Darghouth MA., (2011).** Ranking control options for tropical theileriosis in at-risk dairy cattle in Tunisia, using benefit-cost analysis. *Rev. Sci. Tech. Int. Off. Epizoot.* 30, 763–778.
- Gitau G.K., McDermont J.J., Katende J.M., O’Callaghan C.J., Brown R., Perry B.D., (2000).** Differences in the epidemiology of theileriosis in contrasting agro-ecological and grazing strata of highland Kenya. *Epidemiol. Infect.* 124, 325-335.
- Glascodine Jane, Tetley Laurence, Tait Andrew , Brown Duncan and Shiels Brian, (1990).** Developmental Expression of a *Theileria annulata* merozoite antigen area. *Molecular and Biochemical Parasitology.* 40 105-112. Elsevier 105.
- Glass E.J., (2001).** The balance between protective immunity and pathogenesis in tropical theileriosis: what we need to know to design effective vaccines for the future. *Res. Vet. Sci.* 70, 71–75. doi:10.1053/rvsc.2000.0428
- Glass E.J., Jensen K., (2007).** Resistance and susceptibility to a protozoan parasite of cattle—gene expression differences in macrophages from different breeds of cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 120, 20–30.
- Glass E.J., Preston P.M., Springbett A., Craigmile S., Kirvar E., Wilkie G., Brown C.G.D., (2005).** *Bos taurus* and *Bos indicus* (Sahiwal) calves respond differently to infection with *Theileria annulata* and produce markedly different levels of acute phase proteins. *Int. J. Parasitol.* 35, 337–347. doi:10.1016/j.ijpara.2004.12.006
- Grundemann D., Schomig E., (1996).** Protection of DNA during preparative agarose gel electrophoresis against damage induced by ultraviolet light. *BioTechniques.* 21, 898-903.
- Gubbels J.M., De Vos A.P., Van der Weide M., Viseras J., Schouls L.M., De Vries E., Jongejan F., (1999).** Simultaneous Detection of Bovine *Theileria* and *Babesia* Species by Reverse Line Blot Hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 37, 1782–1789.

**Ganguly A., Bhanot V., Bisla R.S., Ganguly I., Singh H., Chaudhri S.S., (2015).** Hemato-biochemical alterations and direct blood polymerase chain reaction detection of *Theileria annulata* in naturally infected crossbred cows. *Vet. World.* 8, 24–28. doi:10.14202/vetworld.2015.24-28

## H

**Habibi G., (2013).** A comparative phylogenetic analysis of *Theileria* spp. by using two two“ 18S ribosomal RNA” and“ *Theileria annulata* merozoite surface antigen” gene sequences. *Arch. Razi.* 68, 47–52.

**Hamou S., Rahali T., Sahibi H., Belghyti D., Losson B., Rhalem A., (2012).** Séroprévalences des hémoparasitoses bovines dans deux régions irriguées du Maroc. *Rev. Méd. Vét.* 163: 480–485.

**Hashemi-Fesharki R., (1988).** Control of *Theileria annulata* in Iran. *Parasitol. Today.* 4, 36–40.

**Hengen P., (1997).** Methods and reagents. Protecting vector DNA from UV light. *Trends Biochem. Sci.* 22, 182-3.

**Hoghooghi-Rad N., Ghaemi P., Shayan P., Eckert B., Sadr-Shirazi N., (2011).** Detection of native carrier cattle infected with *Theileria annulata* by semi-nested PCR and smear method in Golestan Province of Iran. *World Appl Sci J.* 12, 317–323.

**Hooshmand-Rad P., (1976).** The pathogenesis of anaemia in *Theileria annulata* infection. *Res. Vet. Sci.* 20, 324–329.

**Hubans-Belkilani, V., (2001).** La transfusion sanguine chez les bovins. 68, 74 p.

**Hulliger L., (1965).** Cultivation of three species of *Theileria* in lymphoid cell in vitro. *J. Protozool.* 12, 649-655.

**Hunter Archite., (2006).** La santé animale. Volume 2. Principales maladies. Editions Quæ , Paris, 290 p.

## I

**Ilhan T., Williamson S., Kirvar E., Shiels B., Brown C.G.D., (1998).** *Theileria annulata*: Carrier State and Immunity. Ann. N. Y. Acad. Sci. 849, 109–125.

**Inci Abdullah, Iça Anil, Yildirim Alparslan , Vatansver Zati, Çakmak Ayşe , Albasan Hasan, Çam Yücel, Atasever Ayhan, Düzlü Önder, (2008).** Epidemiology of Tropical Theileriosis in the Cappadocia Region . Turk. J. Vet. Anim. Sci. 32(1): 57-64.

**Islam M.K., Jabbar A., Campbell B.E., Cantacessi C., Gasser R.B., (2011).** Bovine theileriosis-an emerging problem in south-eastern Australia? Infect. Genet. Evol. 11, 2095–2097.

**Isler C., (2007).** Intoxication a l'if dans un élevage bovin. Bull.-GTV. 39, 75.

**Izzo M.M., Poe I., Horadagoda N., De Vos A.J., House J.K., (2010).** Haemolytic anaemia in cattle in NSW associated with *Theileria* infections. Aust. Vet. J. 88, 45–51.

## J

**Jacquet P., Colas F., Cheikh D., Thiam E., Ly B., (1994).** Epidémiologie descriptive de la theilériose bovine à *Theileria annulata* en Mauritanie, Afrique de l'Ouest subsaharienne. Méd Vét Pays Trop. 147–155.

**Jain N.C., (1993).** Essentials of Veterinary Hematology. Lea & Febiger Publication, Philadelphia. 389 pp.

**Jensen K., Paxton E., Waddington D., Talbot R., Darghouth M.A., Glass E.J., (2008).** Differences in the transcriptional responses induced by *Theileria annulata* infection in bovine monocytes derived from resistant and susceptible cattle breeds. Int. J. Parasitol. 38, 313–325. doi:10.1016/j.ijpara.2007.08.007

**Jongejan F., Muisi F.L., Moorhouse P.D., Snacken M., Uilenberg G., (1986).** *Theileria taurotragi* in Zambia. Vet. Q. 8, 261–263.

**Jura W.G.Z.O., Brown C.G.D., Kelly B., (1983).** Fine structure of the early developmental stages of *Theileria annulata* in vitro. Vet. Parasitol. 12, 31 to -44.

## K

- Kaneko J.J, Harvey J.W, Bruss M.L., (2008).** Clinical biochemistry of domestic animals, 6th Edition. Academic Press, London. p 882.
- Karagenç T., (2002).** Development of ELISA test in tropical theileriosis. Atelier sur l'optimisation et la standardisation du diagnostic et du dépistage des maladies transmises par les tiques dans la Région du Maghreb. 11 - 14 Décembre, Gammarth, Tunisie.
- Karoui M., (2002).** Suivi de l'infection sur les veaux en première saison de theilériose tropicale dans l'état d'endémie stable : application à l'évaluation de l'intérêt de la vaccination contre la theilériose tropicale. Thèse Doct. Méd. Vét., Ecole nationale de médecine vétérinaire, Sidi Thabet, Tunisie. 68 p.
- Khattak R.M., Rabib M., Khan Z., Ishaq M., Hameed H., Taqddus A., Faryal M., Durranis S., Gillani Q.U.A., Allahyar R., (2012).** A comparison of two different techniques for the detection of blood parasite, *Theileria annulata*, in cattle from two districts in Khyber Pukhtoon Khwa Province (Pakistan). Parasite. 19: 91–95.
- Katzer F., McKellar S., Kirvar E., Shiels B., (1998).** Phylogenetic analysis of *Theileria* and *Babesia equi* in relation to the establishment of parasite populations within novel host species and the development of diagnostic tests. Mol. Biochem. Parasitol. 95, 33–44.
- Keles I., Alptekin I., Atasoy N., Çinar A., Dönmez N., Ceylan E., (2003).** Pseudopericarditis in a cow caused by theileriosis - acase report. Veterin. Arhiv. 2, 111-117.
- Kilani M., Bouattour A., (1984).** Essai préliminaire de traitement de la theilériose bovine en Tunisie par la parvaquone. Revue Méd. Vét. 135 : 289-296.
- Kirvar E., Ilhan T., Katzer F., Hooshmand-Rad P., Zwegarth E., Gerstenberg C., Phipps P., Brown C.G.D., (2000).** Detection of *Theileria annulata* in cattle and vector ticks by PCR using the Tams1 gene sequences. Parasitology. 120, 245–254.
- Krieger N., (1999).** Intérêt des outils moléculaires dans le diagnostic des maladies tropicales transmises par les tiques. Thèse Méd. Vét. Lyon. 34,158 p.

## L

- Lamia Abo-EL-Hassan M., (1997).** Clinico-pathological study of Theileriosis in New valley. M.V.Sc. Thesis, Department of Animal Pathology and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Assiut University, Egypt.
- Leemans I., Brown D., Fossum C., Hooshmand-Rad P., Kirvar E., Wilkie G., Uggla A., (1999).** Infectivity and cross-immunity studies of *Theileria lestoquardi* and *Theileria annulata* in sheep and cattle: II. In vitro studies. Vet. Parasitol. 82, 193–204.
- Levine N.D., Corliss J.O., Cox F.E.G., Deroux G., Grain J., Honigberg B.M., Leedale G.F., Loeblich A.R.III, Lom J., Lynn D., Merinfeld E.G., Page F.C., Poljansky G., Sprague V., Vavra J., Wallace F.G., (1980).** A newly revised classification of the Protozoa. Journal of Protozoology. 27(1) : 37-58.

## M

- Mahmmod Y.S., Elbalkemy F.A., Klaas I.C., Elmekawy M.F., Monazie A.M., (2011).** Clinical and haematological study on water buffaloes (*Bubalus bubalis*) and crossbred cattle naturally infected with *Theileria annulata* in Sharkia province, Egypt. Ticks Tick-Borne Dis. 2, 168–171. doi:10.1016/j.ttbdis.2011.05.001
- Maloo S.H., Rowlands G.J., Thorpe W., Gettinby G., Perry B.D., (2001).** A longitudinal study of disease incidence and case-fatality on small-holder dairy farms in coastal Kenya. Prev. Vet. Med. 52, 17-29.
- Marcellino W.L., (2008).** Prevalence and Economic Impact of East Coast fever in Central Equatoria State, Southern Sudan. M.V.Sc. Thesis, Sudan Academy of Science. p76
- Masare PS, Bhikhane AU, Syed AM, Ghoke SS, Awaz KB., (2009).** Epidemiological and clinico-therapeutic studies on theileriosis in calves. Intas Polivet. 10 (1): 289-292.
- Maslin J., Beugnet F., Davoust B., Klotz F., (2004).** Babésioses. EMC - Mal. Infect. 1, 281–292. doi:10.1016/j.emcmi.2004.07.003
- M'Barek M., (1994).** Impact of tropical theileriosis on milk yield: preliminary estimation in the lower valley of Medjerda, Tunisia. DVM thesis, National School of Veterinary Medicine, Sidi Thabet, Tunisia. p 62.

- Mcfadden A.M., Rawdon T.G., Meyer J., Makin J., Morley C.M., Clough R.R., Tham K., Mullner P., Geysen D., (2011).** An outbreak of haemolytic anaemia associated with infection of *Theileria orientalis* in naive cattle. *N. Z. Vet. J.* 59, 79–85.
- Mehlhorn H., Schein E., (1984).** The piroplasm: life exchange and sexual cycle. *Adv. Parasitol.* 23, 37-103.
- Mehta H.K., Sisodia R.S., Misraula R.S., (1988).** Clinical and haematological observations in experimentally induced cases of bovine theileriosis. *Indian J. Anim. Sci.* 58, 584–587.
- Merzkani Z., (2014).** Les piroplasmoses bovines (sensu lato) dans les wilayas de Skikda et Oum El Bouaghi : Etude épidémiologique transversale et impact sur la production laitière. Mémoire de Magistère en Sciences Vétérinaires. Institut des Sciences Vétérinaires, Université d'El Tarf. p 82.
- M'Ghirbi Y., et Bouattour A., (2009).** Séroprévalences de *Babesia bovis* et de *Babesia bigemina* chez les bovins en Tunisie, *Revue de Médecine Vétérinaire.* 160, (4) : 209-214.
- M'ghirbi Y., Hurtado A., Bouattour A., (2010).** *Theileria* and *Babesia* Parasites in Ticks in Tunisia: Piroplasms and Ticks in Tunisia. *Transbound. Emerg. Dis.* 57, 49–51. doi:10.1111/j.1865-1682.2010.01110.x
- Mhadhbi Moez, Chaouch Melek, Ajroud Kaouthar, Darghouth Mohamed Aziz, BenAbderrazak Souha, (2015).** Sequence Polymorphism of Cytochrome b Gene in *Theileria annulata* Tunisian Isolates and Its Association with Buparvaquone Treatment Failure. *PLOS ONE* | DOI:10.1371/journal.pone.0129678
- Mhadhbi M., Naouach A., Boumiza A., Chaabani M.F., BenAbderazzak S., Darghouth M.A., (2010).** In vivo evidence for the resistance of *Theileria annulata* to buparvaquone. *Vet. Parasitol.* 169, 241–247. doi:10.1016/j.vetpar.2010.01.013
- Michell A.R., Bywater R.J., Clarke K.W., Hall L.W., Waterman A.E., (1989).** Blood transfusion In: *Veterinary fluid therapy.* 1<sup>st</sup> ed., Oxford, Blackwell Scientific Publications LTD. 149-165

- Miladi N., (2005).** Diagnostic microscopique de la theilériose tropicale : effet de la conservation des prélèvements sanguins au réfrigérateur et à température ambiante. Thèse en médecine vétérinaire. École Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet, Tunisie. 34 p.
- Minjauw B., McLeod A., (2003).** Tick-borne diseases and poverty: the impact of ticks and tick-borne diseases on the livelihoods of small-scale and marginal livestock owners in India and eastern and southern Africa. Tick-Borne Dis. Poverty Impact Ticks Tick-Borne Dis. Live lihoods Small-Scale Marg. Livest. Own. India East. South. Afr.
- Modi D.V., Bhadesiya C.M., Mandali G.C., (2015).** Hematobiochemical Changes in Crossbred Cattle Infected with *Theileria annulata* in Banaskantha District of Gujarat. Int. J. Sci. Res. Publ. 5.
- Morel P.C., (1995).** Les tiques d’Afrique et du Bassin Méditerranéen. CD ROM édité par le CIRAD EMVT, France.
- Morrison W.I., Goddeeris B.M., Brown W.C., Baldwin C.L., Teale A.J. (1989).** *Theileria parva* in cattle: Characterization of infected lymphocytes and the immune response they provoke. Vet. Immunol. Immunopathol. 20: 213-237.
- Mortelmans J., kageruka P., (1986).** L’histoire de 80 années d’observations et de recherches sur les Theilerioses au Zaire, Rwanda et Burundi. Ann. Soc. belge Méd. trop. 66,199-212.
- Muraleedharan K., Ziauddin KS., Hussain PM., Puttabyattappa R., Seshadri SJ., (2005).** Hematological observation on *Theileria annulata* infection in cattle and buffaloes. J. Vet. Parasitol. 19: 71-72.

## N

- Nazifi S., Razavi S.M., Kianiamin P., Rakhshandehroo E., (2011).** Evaluation of erythrocyte antioxidant mechanisms: antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and serum trace elements associated with progressive anemia in ovine malignant theileriosis. Parasitol. Res. 109, 275–281. doi:10.1007/s00436-010-2248-5

**Neitz W.O., (1953).** Aureomycin in *Theileria parva* infection. Nature. 171, 34-35.

**Nicolas L., Milon G., Prina E., (2002).** Rapid differentiation of Old World *Leishmania* species by LightCycler polymerase chain reaction and melting curve analysis. J. Microbiol. Methods. 51, 295–299.

**Norval R.A.I., Perry B.D., Young A.S., (1992).** The Epidemiology of Theileriosis in Africa. ILRI (aka ILCA and ILRAD).

## O

**Omer O.H., El-Malik K.H., Mahmoud O.M., Haroun E.M., Hawas A., Sweeney D., Magzoub M., (2002).** Haematological profiles in pure breed cattle naturally infected with *Theileria annulata* in Saudi Arabia. Vet. Parasitol. 107, 161–168.

**Omer O.H., El-Malik K.H., Magzoub M., Mahmoud O.M., Haroun E.M., Hawas A., Omar H.M., (2003).** Biochemical profiles in Friesian cattle naturally infected with *Theileria annulata* in Saudi Arabia. Vet. Res. Commun. 27, 15–25.

**Osman S.A., Al-Gaabary M.H., (2007).** Clinical, haematological and therapeutic studies on tropical theileriosis in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Egypt. Vet. Parasitol. 146, 337–340. doi:10.1016/j.vetpar.2007.03.012

## P

**Perera P.K., Gasser R.B., Anderson G.A., Jeffers M., Bell C.M., Jabbar A., (2013).** Epidemiological survey following oriental theileriosis outbreaks in Victoria, Australia, on selected cattle farms. Vet. Parasitol. 197, 509–521. doi:10.1016/j.vetpar.2013.06.023

**Pipano E., (1977).** Basic principles of *Theileria annulata* control. In: J.B. Hensen and M.Campbell (Editors), Theileriosis. Report of a workshop, 7-9 December 1986, Nairobi, Kenya. IDRC, Ottawa. pp 55-65.

**Preston P. M. (2001).** The Encyclopedia of Arthropod transmitted infections, 1st Ed. CABI Publishing, Wallingford (UK). pp 487– 504.

**Preston P.M., Bell-Sakyi G.I.W., Sanderson A., (1992).** Tropical theileriosis in *Bos taurus* and *Bos indicus* calves. Response to infection with graded doses of sporozoites. *Res. Vet.Sci.* 53, 230–243.

**Preston P.M., Brown C.G.D., Entrican G., Richardson W., Boid R., (1993).** Synthesis of tumour necrosis factor-alpha and interferons by mononuclear cells from *Theileria annulata*-infected cattle. *Parasite Immunol.* 15, 525–534.

**Preston P.M., Hall F.R., Glass E.J., Campel J.D.M., Darghouth M.A., Ahmed J.D., Shiels B.R., Spooner R.L., Jongejan F., Brown C.G.D. (1999).** Innate and adoptive immune response cooperate to protect cattle against *Theileria annulata*. *Parasitol. Today*, 15, 7 : 268 – 274.

## Q

**Qayyum M., Farooq U., Samad H.A., Chauhdry H.R., (2010).** Prevalence, clinicotherapeutic and prophylactic studies on theileriosis in district Sahiwal (Pakistan). *J Anim Plant Sci.* 20: 266–70.

## R

**Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C., Hinchcliff K.W., (2000).** *Veterinary Medicine.* 9th Ed., W. B. Saunders Company, London (UK). 1011, 1877 p.

**Rahali T., Sahibi H., Sadak A., Ait Hamou S., Losson B., Goff W.L., Rhalem A., (2014).** Séroprévalence et facteurs de risque des hémoparasitoses (theilériose, babésiose et anaplasmose) chez les bovins dans quatre grandes régions d'élevage du Maroc. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux.* 67 (4) : 235-240.

**Razavi S.M., Nazifi S., Bateni M., Rakhshandehroo E., (2011).** Alterations of erythrocyte antioxidant mechanisms: Antioxidant enzymes, lipid peroxidation and serum trace elements associated with anemia in bovine tropical theileriosis. *Vet. Parasitol.* 180, 209–214. doi:10.1016/j.vetpar.2011.03.011

**Rasulov I., Fish L., Shkap V., (2008).** Vaccination of cattle against tropical theileriosis in Uzbekistan using autochthonous live vaccine. *Vaccine* 26 Suppl. 6, 14–16. doi:10.1016/j.vaccine.2008.10.001

- Rayula V., Hafeez M.D., (1995).** Haematological values in cattle infected with *Theileria annulata*. Indian J. Anim. Sci. 65, 1202–1203.
- Renneker S., Abdo J., Ahmed J.S., Seitzer U., (2009).** Field validation of a competitive ELISA for detection of *Theileria annulata* infection. Parasitol. Res. 106, 47–53. doi:10.1007/s00436-009-1625-4
- Rejeb A., Gharbi M., Amara A., Ben Mrad M., Darghouth M.A., (2004).** Etude nécropsique de la theilériose tropicale chez les veaux infectés expérimentalement par une souche parasitaire tunisienne de *Theileria annulata*. Poster présenté au congrès vétérinaire Maghrébin. Alger, Algérie.
- Rjeibi Mohamed Ridha, (2015).** Identification moléculaire et étude phylogénétique des piroplasmés des petits ruminants en Tunisie. Thèse de doctorat en biologie. Université de Carthage, Faculté des Sciences de Bizerte, Département des Sciences Biologiques. p 109.
- Robinson P. M., (1982).** *Theileria annulata* and its transmission-- a review trop. Anita Hlth Prod. 14, 3-12.
- Rouina n.d., (1984).** Clinical study of bovine theileriosis based on 327 cases in Algeria (north-west region, Mascara). Maghreb Vét. 3, 23-27.

## S

- Safarpour Dehkordi F., Parsaei P., Saberian S., Moshke S., Lani P., Hajshafiei S., Hoseini R., Babaei M., Ghorban M. N., (2012).** Prevalence study of *Theileria annulata* by comparison of four diagnostic techniques in southwest Iran. Bulg. J. Vet. Med. 15: 123–130.
- Saitou N., Nei M., (1987).** The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4: 406–425.
- Saleem M.I., Tariq A., Shazad A., Mahfooz S.A., (2014).** Clinical, epidemiological and therapeutic studies on bovine tropical theileriosis in Faisalabad, Pakistan. Iraqi J. Vet. Sci. 28: 87–93.

- Salih D.E.A., Ahmed J.S., Bakheit M.A., Ali E.B., Hussein A.M.E., Hassan S.M., Shariff, O.E., Fadl M., Jongejan F., (2005).** Validation of the indirect TaSP enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Theileria annulata* infection in cattle. Parasitol. Res. 97, 302–308. doi:10.1007/s00436-005-1431-6
- Samish M., Pipano E., (1981).** Prepration and application of *Theileria annulata* infected stabilate. In Irvin A.D., Cunningham M.P., Young A.S. Advances in the control theileriosis. Ed. Martinus Nijhof Publishers. pp. 253-255.
- Sandhu G.S., Grewal A.S., Singh A., Kondal J.K., Singh J., Brar R.S., (1998).** Haematological and biochemical studies on experimental *Theileria annulata* infection in crossbred calves. Vet. Res. Commun. 22, 347–354.
- Schein E., 1975.** On the life cycle of *Theileria annulata* (Dschunkowsky and Luhs, 1904) in the midgut and hemolymph of *Hyalomma anatolicum excavatum* (Koch, 1844). Parasitol. Res. 47, 165–167.
- Schein E., bursher G., Fridhoff K.T., (1975).** Zeitschrift für Parasitenkunde. 48,123-136.
- Seitzer U., Bakheit M.A., Salih D.E.A., Ali A., Haller D., Yin H., Schnittger L., Ahmed J., (2007).** From molecule to diagnostic tool: *Theileria annulata* surface protein TaSP. Parasitol. Res. 101, 217–223. doi:10.1007/s00436-007-0685-6
- Sergent E., Donatien A., Parrot L., et Lestoquard F., (1945).** Etudes sur les Piroplasmoses bovines, Institut Pasteur d'Algérie, Alger. 816 p.
- Sergent E., Donatien A., Parrot L., Lestoquard F., Plantureux E., (1927).** Les piroplasmoses bovines d'Algérie. Deuxième mémoire. Méthodes de prémuniton. Arch Inst Pasteur d'Algérie . 5, 245-468.
- Sharma N.N., (1979).** Haematological observations in bovine theileriosis, anaplasmosis and in mixed infections. Indian J. Parasitol. 3, 153–156.
- Sharma N.N., Mishra A.K., (1990).** Treatment of bovine tropical theileriosis with buparvaquone. Trop. Anim. Health Prod. 22, 63–65.

- Shayan, P., Rahbari, S., (2005).** Simultaneous differentiation between *Theileria spp.* and *Babesia spp.* on stained blood smear using PCR. *Parasitol. Res.* 97, 281–286. doi:10.1007/s00436-005-1434-3
- Shiono H., Yagi Y., Thongnoona P., Kurabayashi N., Chikayama Y., Miyazaki S., Nakamura I., (2001).** Acquired methemoglobinemia in anemic cattle infected with *Theileria sergenti*. *Vet. Parasit.* 102, 45–51.
- Sibeko K.P., Oosthuizen M.C., Collins N.E., Geysen D., Rambritch N.E., Latif A.A., Groeneveld H.T., Potgieter F.T., Coetzer J.A.W., (2008).** Development and evaluation of a real-time polymerase chain reaction test for the detection of *Theileria parva* infections in Cape buffalo (*Syncerus caffer*) and cattle. *Vet. Parasitol.* 155, 37–48. doi:10.1016/j.vetpar.2008.03.033
- Silvestre B.T., Silveira J.A.G., Meneses R.M., Facury-Filho E.J., Carvalho A.U., Ribeiro M.F.B., (2016).** Identification of a vertically transmitted strain from *Anaplasma marginale* (UFMG3): Molecular and phylogenetic characterization, and evaluation of virulence. *Ticks Tick-Borne Dis.* 7, 80–84. doi:10.1016/j.ttbdis.2015.09.001
- Singh A., Singh J., Grewal A.S., Brar R.S., (2001).** Studies on some blood parameters of crossbred calves with experimental *Theileria annulata* infection. *Vet. Res. Commun.* 25, 289–300.
- Singh DK., (1991).** Theileriosis in India, *In:* Singh, D.K. and Varshney, B.C. (Eds), Proc. second EEC workshop on orientation and co-ordination of research on tropical theileriosis, national dairy development board, Anand, India, pp. 23-28.
- Singh J., Gill J.S., Kwatra M.S., Sharma K.K., (1993).** Treatment of theileriosis in crossbred cattle in the Punjab. *Trop. Anim. Health Prod.* 25, 75–78.
- Soudani M.C., (1995).** Contribution à l'étude épidémiologique de la theilériose bovine à *Theileria annulata* : analyse clinique, parasitologique et sérologique de l'infection naturelle des veaux en première saison estivale. Thèse Doct. Méd. Vét., Ecole nationale de médecine vétérinaire, Sidi Thabet, Tunisie. 68 p.
- Souki, H., (2009).** Les stratégies industrielles et la construction de la filière lait en Algérie: portée et limites. *Rev. Campus* 3–15.

**Soulsby E.J.L., (1982).** Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. Bailliere Tindall.

**Sparagano O., Jongejan F., (1999).** Molecular characterization of ticks and tick-borne pathogens. *Parassitologia*. 41, 101–105.

**Spooner R.L., Innes E.A., Glass E.J., Brown C.G.D., (1989).** *Theileria annulata* and *Theileria parva* infect and transform different bovine mononuclear cells. *Immunol.* 66 : 284-288.

**Stockham S., Kjemtrup A., Conrad P., Schmit D., Scott M., Robinson T., Tyler J., Jonson G., Carson C. and Cuddihee P., (2000).** Theileriosis in a Missouri beef herd caused by *Theileria buffeli*: case report, herd investigation, ultrastructure, phylogenetic analysis, and experimental transmission. *Vet. Path.* 37: 11-21.

**Sugimoto C., Fujisaki K., (2002).** Non-transforming *Theileria* parasites of ruminants. In: Dobbelaere, D.A.E., McKeever, D.J. (Eds.), *Theileria*. Kluwer Academic Publishers Group, Dordrecht, The Netherlands. pp 93–106.

## T

**Tajima, F., Nei, M., (1984).** Estimation of evolutionary distance between nucleotide sequences. *Mol. Biol. Evol.* 1: 269–285.

**Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S., (2013).** MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30, 2725–2729. doi:10.1093/molbev/mst197

## V

**Verriéle M., Bedouet J., (1999).** Les examens sanguins chez les bovins. I. Des clés pour utiliser la biochimie clinique. *Point Vét.* 30, 25–29.

**Viseras J., Hueli L.E., Adroher F.J., García-Fernández P., (1999).** Studies on the transmission of *Theileria annulata* to cattle by the tick *Hyalomma lusitanicum*. *J. Vet. Med. Ser. B.* 46, 505–509.

## U

- Ugalmugle SS., Jayraw AK., Gatne ML., (2010).** Prevalence and clinical pathology of bovine tropical theileriosis in crossbred population of Ahmednagar district of Maharashtra. *Journal of Veterinary Parasitology*. 24 (2): 141-145.
- Uilenberg G., (1981).** Theilerial species of domestic livestock. In: Irvin, A.D., Cunninham, M.P., Young, A.S. (Eds.), *Advances in the Control of Theileriosis*. Martinus Nijhoff Publishers, Hage, The Netherlands. pp. 4–37.
- Uilenberg G., (2004).** Diagnostic microscopique des maladies transmises par les tiques au Maghreb. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*. 81, 35–40.
- Uilenberg G., Mpangala C., McGregor W., Callow L.L., (1977).** Biological differences between African *Theileria mutans* (Theiler 1906) and two benign species of *Theileria* of cattle in Australia and Britain. *Aust. Vet. J.* 53, 271–273.

## W

- Walker A.R., Bouattour A., Camicas J.L., Estrada-Pena A., Horak I.G., Latif R.G., Pegram R.G., Preston P.M. (2003).** *Ticks of domestic animals in Africa*. Ed. Bioscience Reports, Edinburgh. 221 pp.
- Weir W., Karagenc T., Gharbi M., Simuunza M., Aypak S., Aysul N., Darghouth M.A., Shiels B., Tait A., (2011).** Population diversity and multiplicity of infection in *Theileria annulata*. *Int. J. Parasitol*, 41: 193-203.
- Weiss DJ., Wardrop KJ., Schalm OW., (2010).** *Schalm's veterinary hematology*, 6th ed. ed. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa. pp. 155-833.

## Y

- Yadav C.K., Sharma N.N., (1986).** Changes in blood chemical components during experimentally induced *Theileria annulata* infections in cattle. *Vet. Parasitol*. 21, 91–98.

**Yousfi-Monod, R., Aeschlimann, A., (1985).** Studies on ticks (Acarina, Ixodidae), parasites of cattle in West Algeria. I. Systematic survey and seasonal activity. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 61, 341–358.

## Z

**Ziam H., Benaouf H., (2004).** Prevalence of blood parasites in cattle from wilayates of Annaba and El Tarf east Algeria. *Archives de L'Institut Pasteur de Tunis.* 81(1-4): 27-30

**Ziam H., Kelanamer R., Aissi M., Ababou A., Berkvens D., Geysen D., (2015).** Prevalence of bovine theileriosis in North Central region of Algeria by real-time polymerase chain reaction with a note on its distribution. *Trop. Anim. Health Prod.* 47, 787–796. doi:10.1007/s11250-015-0772-0

**Zimmermann M., Veeck J., Wolf K., (1998).** Minimizing the exposure to UV light when extracting DNA from agarose gels. *BioTechniques.* 25, 586.

**Zwart D., (1985).** Hémoparasitoses bovines. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 4 (3), 459 - 468

**Annexe 1 : Taille des élevages bovins (première partie expérimentale)**

<b>Ferme</b>	<b>Taille de l'élevage</b>
1	22
2	7
3	35
4	12
5	60
6	40
7	6
8	25
9	123
10	60
11	7
12	8
13	23
14	35
15	50
16	47
17	15
18	53
19	20
20	17
21	11
22	16
23	12
24	10
25	19
26	11
27	80
28	63
29	37
30	72
31	39
<b>Total</b>	<b>1035</b>

## **Annexe 2 : Composition du tampon TBE (1x)**

Pour la préparation d'un tampon TBE (1x) pH 8,0 peser :

10,78 g (89 mM)	TRIS
5,50 g (89 mM)	Acide borique
0,58 g (2 mM)	EDTA disodium salt

Mettre dans une fiole jaugée et mettre la quantité suffisante pour 1000 ml d'eau distillée. Pour une concentration 10x, multiplier les quantités par 10.

## ملخص

هذه الدراسة تبين أن الحمى القراذية التيليرية تمثل أعلى نسبة انتشار (81.9%) وجدت بين داء البابسيات، مع حالات عدوى ثنائية بين الحمى القراذية التيليرية و البابسيزيا (14.9%). عدد أعلى حالات الحمى (45) لها نسبة الطفيليات في الدم بين 0.1-4.99%.

الدراسة التي أنجزت على 180 و 134 عينة دم تم جمعها من 21 مزرعة في أفريل و نوفمبر 2015 (قبل و بعد موسم الحمى القراذية الاستوائية على التوالي) في منطقة العلمة ولاية (سطيف) أثبتت أن الانتشار الجزئي للحمى القراذية التيليرية عن طريق التفاعل البوليميراز المتسلسل (38.9 و 50% في أفريل و نوفمبر على التوالي) أعلى منه بالمجهر الضوئي (17 و 16.4% قبل و بعد موسم الحمى القراذية الاستوائية، على التوالي) ( $P > 0.001$ ). كانت إصابة سلالات البقر الغربية أعلى من السلالات المحلية ( $P > 0.003$ ) اثناء الزيارة الاولى و لكن اثناء الزيارة الثانية لم يكن هنالك اي فرق بين السلالتين ( $P = 0.226$ ). وكان هذا الانتشار منخفضا عند الأبقار التي كان عمرها اقل من سنة ( $P = 0.177$ ) و 0.270 قبل و بعد موسم الحمى القراذية الاستوائية على التوالي) و أعلى عند الإناث (44.7% منه عند الذكور (22.9%) ( $P < 0.008$ )، اثناء الزيارة الاولى و لكن اثناء الزيارة الثانية لم يكن هنالك اي فرق بين الجنسين. لم تلاحظ أي فروق محسوسة اعتمادا على نمط تربية الماشية او على حالة جدران المزارع اثناء الزيارتين. وكان تسلسل الجينات Tams1 الجزائري متنوعا نسبيا (قيم الهوية % 96.1 إلى % 98.9)، و لها علاقة مع تسلسل الجينات الموريتانية و التونسية و المصرية.

أظهرت دراسة الكيمياء الحيوية و الدموية التي أجريت على 40 ماشية غير مصابة و 40 مصابة سريريا انخفاضا في عدد الكريات البيضاء، كريات الدم الحمراء، الهيموجلوبين، الجلوكوز، الألبومين، و البروتين الكلي ( $p =$  ; 0.008، 0.005، 0.03، 0.048، 0.002، 0.027 و 0.018 على التوالي) عند سلالة المونيلليار المصابة سريريا بالتيليريا.

جميع الأبقار المصابة، لها زيادة في تركيز البيليروبين الكلي و المباشر بشك ملحوظ ( $P > 0.001$ ). عند السلالة الهجينة ينخفض عدد الكريات الحمراء و الهيموجلوبين، و الهيماتوكريت ( $P = 0.027$ ، 0.003 و  $> 0.001$  على التوالي). تم الكشف عن نوعين من فقر الدم: فقر الدم ميكروسيتار ايبوكروم عند المونونيلليار المصابة سريريا و فقر الدم نورموسيتار نورموكروم عند السلالات المحلية و الهجينة.

أظهرت دراسة تأثير الحمى القراذية الاستوائية في إنتاج الحليب في منطقة سكيكدة (شمال الجزائر) انخفاض في إنتاج الحليب عند عشرة أبقار من السلالة المحلية المصابة في فصل الصيف 2015 وكان الانخفاض في إنتاج الحليب يقدر ب 2.76 لتر / يوم / بقرة لمدة شهرين الموافق لـ 31.92% من إجمالي إنتاج الحليب. هذا الانخفاض يتوافق مع 110.5 دج ، (1.02 \$) أظهر التباين النسبي للإنتاج الحليب انخفاضا كبيرا من 82.72 % الى 76 % في اليوم 21.

**كلمات البحث:** الحمى القراذية الاستوائية، الأبقار، التفاعل البوليميراز المتسلسل، المجهر الضوئي، الكيمياء الحيوية، الكيمياء الدموية، الحليب، الجزائر.

## ABSTRACT

The present study carried out in the region of El Eulma (North-eastern Algeria) showed a highest prevalence (81.9%) of theileriosis (*Theileria. annulata* infection) among the piroplasmosis, the coinfection between theileriosis and babesiosis (*B. bovis*) are frequent (14.9%). The number of the highest cases (45) has parasitemia between 0.1- 4.99%.

A total of 180 and 134 blood samples from 21 farms were collected in April and November 2015 (before and after the tropical theileriosis season; respectively) in the region of El Eulma (Sétif). Molecular prevalence (38.9 and 50% in April and November; respectively) was higher than those by Giemsa stained blood smear (17 and 16.4%, before and after tropical theileriosis season; respectively) ( $p < 0.001$ ). Exotic breeds were more infected than local breeds in the first visit ( $p = 0.003$ ), while during the second visit no significant difference was detected ( $p = 0.226$ ). This prevalence is lower in cattle less than one year ( $p = 0.117$ ; 0,270 in April and November; respectively). Molecular prevalence was significantly higher in females (44.7%) than in males (22.9%) ( $p < 0.008$ ) during the first visit. No influence of type of livestock or the walls statements was detected. The sequences of genes Algerian Tams1 (96.1 to 98.9%, identity values) have a relationship with the Mauritanian, Tunisian and Egyptian sequences.

The biochemical and haematological study conducted on 40 healthy cattle and 40 clinically infected showed that the number of leukocytes, erythrocytes, haemoglobin, haematocrit, glucose, albumin, and total protein decrease significantly ( $p = 0.005$ ; 0.008, 0.03, 0.048, 0.002, 0.027 and 0.018; respectively) in clinically infected Montbeliard breed with *Theileria annulata*. All infected animals have a total and direct bilirubin concentration increase significantly ( $p < 0.001$ ). The erythrocytes, haemoglobin, and haematocrit crossbreed cattle concentration decrease significantly ( $p = 0.027$ ; 0.003 and  $< 0.001$ ; respectively). Two types of anaemia were detected: hypochromic microcytic anaemia in Montbeliard clinically infected cattle and normochromic normocytic anaemia in infected local and cross breed cattle.

The tropical theileriosis impact study in Skikda region (northern Algeria) showed a decrease in milk production in 10 local breed cattle infected with *Theileria annulata* in summer 2015. The decrease in weekly milk production estimated for two months was 2.76 L / day / cow corresponding to 31.92% of the total milk production. This decrease corresponds to 110.5 AD (US \$ 1.02) / day / sick cow. The relative variation of milk production showed a dramatic decrease from 82.72 to 0.76% on day 21.

**Keywords:** Tropical theileriosis, cattle, PCR, blood smear, biochemistry, haematology, milk, Algeria.

## RESUME

L'étude réalisée dans la région d'El Eulma (Nord-est algérien) a montré que la theilériose à *Theileria annulata* représente la plus grande prévalence (81,9%) parmi les piroplasmoses retrouvées durant l'été, avec des cas de coïnfection plus fréquentes entre la theilériose et la babésiose (*B. bovis*) (14,9%). Le nombre de cas le plus élevé (45) à une parasitémie comprise entre 0,1- 4,99 %.

Un nombre total de 180 et 134 échantillons de sang provenant de 21 fermes ont été recueillis en avril et novembre 2015 (avant et après la saison de la theilériose tropicale respectivement) dans la région d'El Eulma (Sétif). Les prévalences moléculaires (38,9 et 50% en avril et novembre respectivement) étaient plus élevées que celles par frottis sanguin colorés au Giemsa (17 et 16,4% respectivement avant et après la saison de la theilériose tropicale, respectivement) ( $p < 0,001$ ). Les races exotiques étaient plus infectées que les races locales durant la première visite ( $p = 0,003$ ), alors que durant la deuxième visite aucune différence significative n'a été détectée ( $p = 0,226$ ). Cette prévalence est moins élevée chez les bovins moins d'un an ( $p = 0,117$ ; 0,270 durant avril et novembre respectivement). La prévalence moléculaire était significativement plus élevée chez les femelles (44,7%) que chez les mâles (22,9%) ( $p < 0,008$ ) durant la première visite, aucune influence du type d'élevage ni de l'état des murs n'a été détectée. Les séquences de gènes algériennes Tams1 (valeurs d'identité de 96,1 à 98,9%), ont une relation avec les séquences mauritaniennes, tunisiennes et égyptiennes.

L'étude biochimique et hématologique réalisée sur 40 bovins malades de la theilériose et 40 autres non malades a montré que le nombre de leucocytes, érythrocytes, hémoglobine, hématocrite, le glucose, l'albumine, les protéines totales ont diminué de façon significative ( $p = 0,005$ ; 0,008; 0,03 0,048; 0,002; 0,027 et 0,018; respectivement) chez la race Montbéliarde cliniquement infecté par *T. annulata*. Chez tous les animaux malades, la concentration de la bilirubine totale et directe a augmenté de façon significative ( $p < 0,001$ ). Chez les bovins de race croisée, les moyennes du nombre d'érythrocytes, d'hémoglobine, et d'hématocrite ont diminué de façon significative ( $p = 0,027$ ; 0,003 et  $< 0,001$ , respectivement). Deux types d'anémie ont été détectés: une anémie microcytaire hypochrome chez les bovins malades de la race Montbéliarde et l'anémie normocytaire normochrome chez les bovins malades de la race locale et croisée.

L'étude de l'impact de la theilériose tropicale sur la production laitière dans la région de Skikda (Nord-est de l'Algérie) a montré une chute de la production laitière chez 10 vaches de race locale infectées par *Theileria annulata* durant l'été 2015. La diminution de la production laitière hebdomadaire estimée pendant deux mois était de 2,76 L / jour / vache correspondant à 31,92% de la production laitière totale. Cette diminution correspond à 110,5 AD (1,02 US \$) / jour / vache malade. La variation relative de la production de lait a montré une diminution spectaculaire de 82,72 à 0,76% au jour 21.

**Mots clés :** Theilériose tropicale, Bovins, PCR, étalement sanguin, biochimie, hématologie, lait, Algérie.