

# Prévalence de l'infection d'*Amblyomma variegatum* par *Ehrlichia ruminantium* dans les élevages extensifs du Bénin

S. FAROUGOU<sup>1\*</sup>, H. ADAKAL<sup>3</sup>, A. S. BIGUEZOTON<sup>2</sup>, C. BOKO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, 01 BP 2009, Cotonou, BENIN.

<sup>2</sup>Laboratoire de Génétique et des Biotechnologies, FAST, Université d'Abomey-Calavi, BP 526, Cotonou, BENIN.

<sup>3</sup>Laboratoire de Biotechnologie (URBIO), Centre International de Recherche-Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES), 559, 3-51 Avenue du Gouverneur Louveau, 01 B.P. 454, Bobo-Dioulasso 01, BURKINA FASO.

\*Auteur chargé de la correspondance : farougou@gmail.com

## RÉSUMÉ

Dans le cadre de l'épidémiologie de la cowdriose due à *Ehrlichia ruminantium* chez les ruminants, la prévalence de l'infection des tiques *Amblyomma variegatum* par *Ehrlichia ruminantium* a été déterminée dans les élevages extensifs issus de 4 localités (Gogounou, Toucountouna, Dassa-Zoumé et Ouidah) situées sur l'ensemble du territoire du Bénin. La présence de l'ADN d'*Ehrlichia ruminantium* a été détectée par nested-PCR pCS20 sur 500 tiques parmi les 2730 récoltées en saison pluvieuse et en saison sèche. La prévalence globale de l'infection des tiques sur l'ensemble des 4 localités a été de 10,8 %, variant de 8,9 % à 15,6 %. Aucune différence significative n'a été mise en évidence en fonction du sexe des tiques, de la période de récolte ou de la localité prospectée. Ces résultats confirment non seulement le caractère endémique de l'infection des tiques mais ouvrent aussi la voie à l'étude de la diversité génétique des souches identifiées et à la mise au point de stratégies de lutte efficaces et adaptées.

**Mots clés :** *Ehrlichia ruminantium*, *Amblyomma variegatum*, cowdriose, nested PCR, prévalence, Bénin.

## SUMMARY

**Prevalence of *Amblyomma variegatum* infection by *Ehrlichia ruminantium* in cattle extensive herds in Benin**

In order to study epidemiology of the heartwater due to *Ehrlichia ruminantium* in cattle, the prevalence of *Amblyomma variegatum* infection by *Ehrlichia ruminantium* was investigated in traditional farming systems from four areas (Gogounou, Toucountouna, Dassa-Zoumé and Ouidah) located throughout Benin. Nested PCR pCS20 was used to identify *Ehrlichia ruminantium* DNA in 500 *Amblyomma variegatum* out of 2730 ticks sampled during rainy and dry seasons. The overall prevalence of tick infection on over the 4 localities was 10.8%, ranging from 8.9% to 15.6%. No significant differences were found according to tick gender, sampling period or area of investigation. These results confirm the endemic character of tick infection and open the way up to study genetic diversity in identified strains and to set up efficient and adapted control strategies.

**Keywords:** *Ehrlichia ruminantium*, *Amblyomma variegatum*, heartwater, nested PCR, prevalence, Benin.

## Introduction

La cowdriose est l'une des plus importantes rickettsioses des ruminants domestiques et sauvages en Afrique tropicale et dans les caraïbes [7]. Elle est due à *Ehrlichia ruminantium* transmise par les tiques du genre *Amblyomma* [3, 24]. Particulièrement connue pour sa morbidité et sa mortalité élevées pour les animaux provenant de zones indemnes et les petits ruminants des zones enzootiques [7, 29], elle constitue une menace sérieuse pour l'amélioration génétique des races locales, car les ruminants importés sont frappés par les formes les plus sévères de la maladie [9, 20, 24, 26]. Une étude conduite au Zimbabwe a montré que la cowdriose est à l'origine d'importantes pertes économiques : les pertes annuelles dues à la maladie sont évaluées à 5,6 millions de dollar US [19]. Toutefois, peu de travaux ont été effectués sur l'épidémiologie de cette maladie dans la plupart des pays concernés surtout ceux de l'Afrique de l'ouest et de l'Afrique centrale. Les enquêtes sur l'incidence et la prévalence de cette pathologie ont été confrontées jusqu'à un passé récent à des problèmes de sensibilité et de spécificité des tests de diagnostic [6]. Le diagnostic de certitude de la cowdriose est fondé sur la mise en évidence d'*Ehrlichia ruminantium* dans les cellules endothéliales

des capillaires du cerveau [7]. Les symptômes ne sont pas pathognomoniques [31] et les lésions caractéristiques (hydropéricarde et hydrothorax) ne sont pas toujours présentes [7, 25]. En vue de faire face à ces difficultés, d'autres méthodes directes et indirectes d'identification d'*Ehrlichia ruminantium* aussi bien chez le vecteur que chez les hôtes vertébrés ont été mises au point. Il s'agit plus particulièrement du sérodiagnostic utilisant le test PC-ELISA et de la biologie moléculaire utilisant la PCR [2, 5, 16, 23, 30].

Concernant le Bénin, les données sur la cowdriose sont rares. Les dernières notifications à l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) sur la maladie remontent à 2006 [22]. La seule étude réalisée sur l'épidémiologie de la cowdriose dans deux régions du Bénin date de 1998 où une prévalence globale de 8 % a été trouvée chez la tique *Amblyomma variegatum* [10, 12]. Dans le but de mettre en place des mesures appropriées de lutte contre la cowdriose et de faire évoluer la recherche sur cette pathologie au Bénin, il est nécessaire de déterminer la distribution géographique de cette pathologie et la prévalence de l'infection chez le vecteur *Amblyomma variegatum*. A cet effet, la nested PCR se révèle une méthode efficace d'identification de l'ADN d'*Ehrlichia ruminantium* chez la tique vectrice.

L'objectif de ce travail est donc de déterminer la prévalence de l'infection par *Ehrlichia ruminantium* chez la tique *Amblyomma variegatum* et de la comparer avec la fréquence de l'infection dans différentes zones agropastorales du Bénin.

## Matériel et Méthodes

### CARACTÉRISTIQUES PHYSIQUES ET CLIMATIQUES DE LA ZONE D'ÉTUDE

Situé en zone intertropicale entre les parallèles 6°30' et 12°30' de latitude nord d'une part et les méridiens 1° et 3°40' de longitude est d'autre part, le Bénin couvre une superficie de 112 622 km<sup>2</sup>. Le relief est peu accidenté, constitué de plaines et de plateaux dont l'altitude moyenne ne dépasse pas 200 mètres. La région la plus élevée (Atacora) est située au nord-ouest d'où partent la plupart des nombreux cours d'eau qui alimentent le pays. Le Bénin dispose de trois zones climatiques principales :

- la zone Nord caractérisée par un climat soudanien semi-aride au-delà de la latitude 10° N avec un régime climatique uni-modal (900 à 1100 mm de pluie) à deux saisons (une sèche et une pluvieuse) et un début de sahélisation, avec des sols peu profonds, souvent dégradés et peu fertiles ;
- la zone Centre marquée par un climat soudano-guinéen de transition, entre les parallèles 7° et 10° N, à régime climatique à la fois uni-modal et bimodal (1000 à 1200 mm de pluie), des sols pauvres colluviaux au pied des reliefs et au sommet des ondulations, avec une fragilisation de la situation écologique dans certaines localités ;
- la zone Sud à climat subéquatorial (entre les parallèles 6° 30' et 7° N), de régime climatique bimodal à quatre saisons (deux saisons de pluies et deux sèches) avec des sols fertiles et une dégradation des conditions écologiques. La pluviométrie atteint 1500 mm.

Le Bénin compte cinq zones agropastorales : la zone soudanienne sèche à pâturages marginaux, la zone soudanienne continentale à pâturages excédentaires, la zone soudano-guinéenne à ressources fourragères abondantes et la zone forestière [28]. Les principaux phénotypes de ruminants élevés dans ces différentes zones agropastorales sont : le Borgou, le Somba, le Ndama, le Lagunaire, le Mbororo, le White Fulani et différents métis issus de croisements pour les bovins ; le mouton Djallonké, le mouton Peulh, la chèvre naine guinéenne, la chèvre rousse de Maradi et la chèvre Peulh pour les petits ruminants.

Quatre communes du Bénin localisées respectivement dans les zones agro-écologiques cotonnières du Nord-Bénin (Gogounou) et du Centre-Bénin (Dassa-Zoumé), de l'Ouest-Atacora

(Toucountouna) et des pêcheries (Ouidah) ont été retenues pour cette étude (figure 1). Les enquêtes déjà effectuées dans les zones agro-écologiques concernées ont montré la dominance de la tique *Amblyomma variegatum*, vectrice de *Ehrlichia ruminantium* [11, 13-15]. Au niveau de chaque commune, un élevage a été prospecté (tableau I).

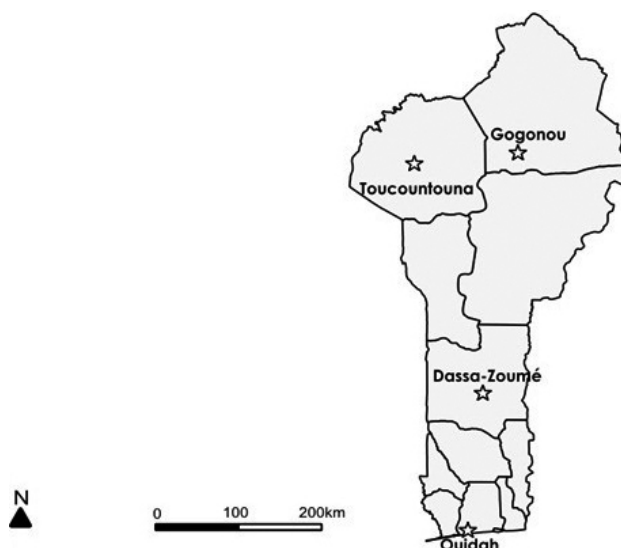


FIGURE 1 : Localisation des sites prospectés en vue de la recherche de la cowdriose (infection par *Ehrlichia ruminantium*) chez les ruminants du Bénin.

### COLLECTE ET ANALYSE DES TIQUES

Sur chacun de ces sites, les bovins (phénotypes Borgou et Somba) et les ovins (phénotypes Djallonké et Peulh) ont partagé les mêmes pâturages et se sont donc infestés par les mêmes populations de tiques.

Comme la saison pluvieuse et le début de la saison sèche correspondent à la période d'activité des adultes et des nymphes *Amblyomma variegatum* qui jouent un rôle essentiel dans la transmission d'*Ehrlichia ruminantium* aux ruminants d'élevage, les tiques du jour *Amblyomma variegatum* adultes mâles et femelles ont été récoltées sur 12 animaux de chaque élevage prospecté en saison pluvieuse (durant les mois de septembre et d'octobre 2009 puis de juin à août 2010) et en saison sèche (durant les mois de décembre 2008 et de novembre 2009) (figure 2A). Au total, 2730 tiques *Amblyomma variegatum* ont été récoltées en 2008, 2009 et 2010 (tableau II).

Commune / Département	Coordonnées géographiques	Bovins (total)	Petits ruminants (total)	Espèce suivie
Gogounou / Alibori	10°50'00,00"N 2°50'00,00"E	123 200	60 400	Bovins
Toucountouna / Atacora	10°29'55,00"N 1°22'32,00"E	5 300	14 000	Bovins
Dassa-Zoumé / Collines	7°46'15,87"N 2°11'48,90"E	18 500	35 300	Ovins
Ouidah /Atlantique	6°23'03,71"N 2°12'58,64"E	9 000	17 500	Ovins

TABLEAU I : Caractéristiques géographiques et pastorales des communes prospectées en vue de la recherche de la cowdriose (infection par *Ehrlichia ruminantium*) chez les ruminants du Bénin.

	Gogounou	Toucountouna	Dassa-Zoumé	Ouidah	Total
Décembre 2008	37	54	15	38	144
Septembre 2009	61	20	32	212	325
Octobre 2009	97	75	44	43	259
Novembre 2009	48	23	194	34	299
Juin 2010	82	66	167	160	475
Juillet 2010	149	109	148	182	588
Août 2010	168	54	218	200	640
<b>Total</b>	<b>642</b>	<b>401</b>	<b>818</b>	<b>869</b>	<b>2730</b>

TABLEAU II : Nombre de tiques *Amblyomma variegatum* récoltées par mois durant la période d'étude dans les 4 communes prospectées en vue de la recherche de la cowdriose (infection par *Ehrlichia ruminantium*) chez les ruminants du Bénin.

Les échantillons de tiques ont été conservés dans l'éthanol à 70° et portaient toutes les mentions d'identification nécessaires. La recherche d'*Ehrlichia ruminantium* a été effectuée au laboratoire d'acarologie et au laboratoire de biotechnologies appliquées au diagnostic des hémoparasitoses, Centre International de Recherche Développement sur l'Élevage en Zone Subhumide (CIRDES) de Bobo Dioulasso sur, au total, 500 tiques choisies au hasard sur la base d'un échantillonnage proportionnel (tableau III).

L'ADN d'*Ehrlichia ruminantium* a été extrait des tiques en utilisant le kit d'extraction QiaAmp DNA minikit (Qiagen<sup>ND</sup>) conformément aux instructions du fabricant puis conservé à -20°C. L'identification de l'ADN a été effectuée par nested PCR ciblant un fragment spécifique d'*E. ruminantium*, le gène pCS20, comme décrit par MARTINEZ *et al.* [17]. Les séquences des amorces ont été légèrement modifiées par utilisation des nucléotides universels dans le but d'améliorer la sensibilité du test dans la reconnaissance des souches d'*Ehrlichia ruminantium* [18]. La première PCR a été réalisée avec les amorces AB128' (dont la séquence est : 5'-ACTAGTAGAAATTGCACAATCYAT-3') et AB130' (dont la séquence est : 5'-RCTDGCWGCTTTTGTGTCAGCTAK-3') pour une température d'hybridation de 50°C. Pour la seconde

PCR, les amorces AB128' et AB129' (dont la séquence est : 5'-TGATAACTTGGWGCRRGDARTCCTT-3') ont été utilisées avec une température d'hybridation de 55°C. Pour un volume réactionnel de 25 µL, 1 µL d'échantillon d'ADN a été mélangé à 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl (pH 8,3), 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µmol dNTP, 0,2 U de Taq polymérase et 2 ng de chaque amorce. Après la phase de dénaturation de l'ADN à 94°C pendant 3 minutes, la première amplification a été effectuée dans les conditions suivantes : 34 cycles de dénaturation de 30 secondes à 94°C, 45 secondes d'hybridation à 50°C et 1 minute d'extension à 72°C suivie d'une extension finale de 10 minutes à 72°C. Puis, 1 µL de chaque produit issue de la première amplification PCR a été transféré pour une seconde amplification de 40 cycles dans les mêmes conditions hormis la température d'hybridation qui a été de 55°C.

Les produits de l'amplification ont été visualisés après électrophorèse sur un gel d'agarose à 1,5 %. Les échantillons ont été considérés comme positifs lorsqu'un fragment d'ADN de 278 pb a été obtenu. Un témoin positif (ADN génomique d'*E. ruminantium* extrait d'une culture de cellules endothéliales infectées avec la souche Gardel provenant des Antilles françaises) et un témoin négatif (eau bidistillée stérile) ont été systématiquement introduits dans chaque PCR.

	Gogounou	Toucountouna	Dassa-Zoumé	Ouidah	Total
Décembre 2008	9	13	4	9	35
Septembre 2009	17	6	46	52	121
Octobre 2009	26	18	7	8	59
Novembre 2009	10	6	11	8	35
Juin 2010	12	10	24	23	69
Juillet 2010	22	16	22	27	87
Août 2010	25	8	32	29	94
<b>Total</b>	<b>121</b>	<b>77</b>	<b>146</b>	<b>156</b>	<b>500</b>

TABLEAU III : Nombre de tiques *Amblyomma variegatum* analysées par mois durant la période d'étude dans les 4 communes prospectées en vue de la recherche de la cowdriose (infection par *Ehrlichia ruminantium*) chez les ruminants du Bénin.

## ANALYSES STATISTIQUES

Les prévalences de l'infection des tiques par *E. ruminantium* ont été comparées par le test bilatéral de Z en utilisant le logiciel STATISTICA 6.0, version monoposte [27]. La différence a été jugée significative à  $P < 0,05$ .

## Résultats

Au total, 54 tiques sur les 500 analysées étaient porteuses d'*Ehrlichia ruminantium*, soit une prévalence globale de 10,8 %. Les tiques récoltées dans les 4 localités examinées ont été infectées avec des prévalences variant entre 8,9 % (Dassa-Zoumé) et 15,6 % (Toucountouna). Aucune différence significative n'a été enregistrée entre les prévalences obtenues dans les quatre localités ( $P > 0,05$ ). Aussi bien les tiques mâles que les femelles ont été infectées (tableau IV, figures 2B et 2C).

Les prévalences de l'infection des tiques *Amblyomma variegatum* par *Ehrlichia ruminantium* déterminées chez les ovins et les bovins étaient respectivement de 9,6 % et 12,6 % (Tableau V). Aucune différence significative n'a été observée en fonction de l'espèce animale dans la zone d'étude considérée.

En saison pluvieuse, la prévalence de l'infection des tiques *Amblyomma variegatum* par *Ehrlichia ruminantium* déterminée était de 11,2 % (48 tiques positives sur 430) alors qu'en saison sèche, 6 tiques sur les 70 récoltées étaient porteuses d'*Ehrlichia ruminantium* soit une prévalence de 8,6 % (Tableau VI). Néanmoins, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les fréquences de contamination des tiques récoltées en saison pluvieuse ou en saison sèche.

## Discussion

La nested PCR a permis de déterminer une prévalence globale d'infection des tiques *Amblyomma variegatum* par *E. ruminantium* de 10,8 % au Bénin avec des variations allant de 8,9 % à 15,6 % en fonction des localités prospectées. Cette prévalence est supérieure à celle de 8 % déjà déterminée en 1998 [10] par la PCR pCS20 classique. Cette différence peut s'expliquer par l'utilisation dans cette étude de la nested PCR, qui est une technique d'identification plus sensible que la PCR pCS20 classique. En effet, la nested PCR a été développée pour permettre la détection chez *Amblyomma* spp de l'ADN d'*Ehrlichia ruminantium* même en cas de faible rickettsémie [17]. La conséquence directe est l'augmentation du niveau de

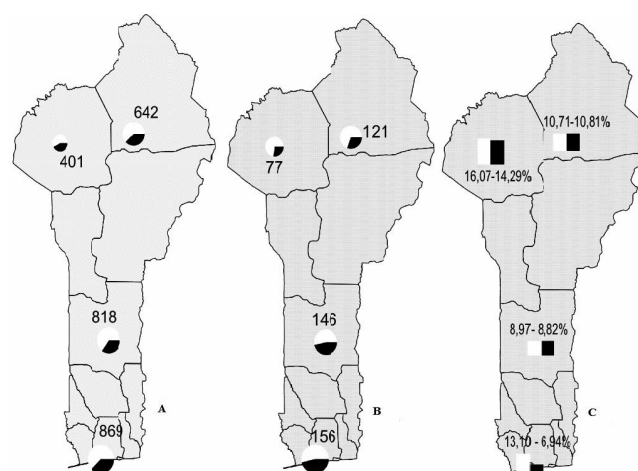


FIGURE 2 : Proportion des tiques et prévalence d'*Ehrlichia ruminantium*.

A. Les camemberts représentent le nombre total de tiques récoltées par commune durant la saison des pluies (en blanc) et durant la saison sèche (en noir). B. Les camemberts représentent le nombre total de tiques mâles (en blanc) et femelles (en noir) sur lesquelles la recherche d'*Ehrlichia ruminantium* par PCR pCS20, a été effectuée. C. Les diagrammes en barre représentent la prévalence d'*Ehrlichia ruminantium* chez les tiques testées mâles (en blanc) et femelles (en noir).

	Ovins	Bovins	Total
<b>Tiques infectées</b>			
Mâles	18/162	18/140	36/302
Femelles	11/140	7/58	18/198
Total	29/302	25/198	54/500
<b>Prévalence</b>	<b>9,6 %</b>	<b>12,6 %</b>	<b>10,8 %</b>

TABLEAU V : Prévalence de l'infection des tiques *Amblyomma variegatum* par *Ehrlichia ruminantium* en fonction des espèces de ruminants (bovins et ovins) dans les 4 zones prospectées du Bénin.

	Saison sèche	Saison humide	Total
<b>Tiques infectées</b>			
Mâles	6/51	30/249	36/300
Femelles	0/19	18/181	18/200
Total	6/70	48/430	54/500
<b>Prévalence</b>	<b>8,6 %</b>	<b>11,2 %</b>	<b>10,8 %</b>

TABLEAU VI : Prévalence de l'infection des tiques *Amblyomma variegatum* par *Ehrlichia ruminantium* en fonction de la saison dans les 4 zones prospectées du Bénin.

	Gogounou	Toucountouna	Dassa-Zoumé	Ouidah	Total
<b>Tiques infectées</b>					
Mâles	9/84	9/56	7/78	11/84	36/302
Femelles	4/37	3/21	6/68	5/72	18/198
Total	13/121	12/77	13/146	16/156	54/500
<b>Prévalence</b>	<b>10,7 %</b>	<b>15,6 %</b>	<b>8,9 %</b>	<b>10,3 %</b>	<b>10,8 %</b>

TABLEAU IV : Prévalence globale de l'infection des tiques par *Ehrlichia ruminantium* dans les 4 zones prospectées du Bénin.



détection de cette rickettsie chez des tiques sauvages de 1,7 % à 36 % lors d'une étude épidémiologique dans les Caraïbes [21].

En utilisant la nested PCR pCS20, FABRUARY [9] a obtenu une prévalence de l'infection des tiques en Gambie de 16,6 %, qui est supérieure à celle obtenue dans cette étude. De même, MOLIA *et al.* [18] ont déterminé dans trois localités de Marie Galante (Antilles françaises), une prévalence de 19,1 % en utilisant la nested PCR. En Zambie et au Zimbabwe, des prévalences variant entre 6,25 % et 25,0 % chez les mâles et entre 2,1 et 14,3 % chez les femelles ont été obtenues par PETER *et al.* [23] en utilisant la PCR pCS20 classique. Au travers de ces études, il apparaît comme ici que les tiques femelles sont moins souvent infectées que les mâles même si la différence n'est pas significative. Cette observation est en accord avec les conclusions d'Andrew et Norval [4] qui insistent sur le rôle important d'*Amblyomma hebraeum* mâle dans la transmission de la cowdriose. Selon ces auteurs, la fixation des tiques mâles sur les ruminants se déroule sur une longue période, ce qui leur permet de s'infecter par *Ehrlichia ruminantium* pendant la période d'incubation ou pendant la phase subclinique de la cowdriose dans les zones de stabilité enzootique.

Au Burkina Faso, ADAKAL [1] a déterminé une prévalence de 3,65 % qui est inférieure à celle obtenue dans la présente étude. L'auteur justifie cette faible prévalence par une meilleure connaissance de la cowdriose par les éleveurs des zones enquêtées qui traitent systématiquement les ruminants présentant des signes d'hyperthermie, de fatigue et de nonchalance. En effet, dans une étude précédente, l'auteur mettait en évidence une prévalence plus élevée d'*E. ruminantium* chez des tiques récoltées dans différentes régions du Burkina Faso. Le taux d'infection moyen des tiques était de 9 %, mais atteignait 20 % pour certaines zones de collecte [1].

En considérant la saison, aucune différence significative n'a été trouvée concernant la prévalence de l'infection des tiques *Amblyomma variegatum*. La période de récolte a coïncidé avec l'activité des adultes (juin à octobre) et celle des nymphes en décembre [11, 13, 14]. Comme ces deux phases jouant un rôle important dans l'épidémiologie de la cowdriose [8], il est logique que la prévalence des infections par *Ehrlichia ruminantium* soit similaire. Par ailleurs, les prévalences des infections des tiques recueillies chez les bovins et les ovins ne présentaient aucune différence significative. En réalité, dans les localités prospectées, les bovins et les ovins partagent les mêmes pâturages. Les tiques recueillies peuvent donc s'être infectées par *E. ruminantium* chez l'une ou l'autre des deux espèces lors d'une phase antérieure. D'autre part, la plus forte prévalence de l'infection des tiques par *E. ruminantium* (15,6 %) a été observée dans la localité de Toucountouna dans laquelle les tiques ont été prélevées sur des bovins de race Somba. Même si les prévalences obtenues dans les 4 localités étudiées ici n'ont pas varié de façon significative, il est nécessaire de déterminer s'il existe un lien entre cette prévalence élevée de l'infection des tiques, la contamination des bovins et une sensibilité particulière de la race Somba. En revanche, dans une étude réalisée à Marie Galante, MOLIA *et al.* [18] n'ont trouvé aucune différence significative entre les trois localités prospectées.

En conclusion, cette étude a permis d'obtenir une prévalence d'infection par *E. ruminantium* des tiques *Amblyomma variegatum* prélevées sur des bovins et des ovins de 10,8 % dans différentes zones agropastorales du Bénin. La présence d'*Ehrlichia ruminantium* dans les élevages de ruminants a été ainsi confirmée dans toutes les localités concernées. Il est nécessaire que des stratégies de lutte intégrée contre la cowdriose soient envisagées surtout dans zones où les races bovines importées sont utilisées pour l'amélioration génétique des races locales. Il est également important de poursuivre les travaux par la caractérisation génétique des différentes souches identifiées afin de les situer par rapport à celles déjà étudiées dans les pays voisins du Bénin en particulier le Burkina Faso. Ceci permettra par la suite d'orienter les recherches vers la mise au point d'un vaccin régional.

## Bibliographie

1. - ADAKAL H. : Etude intégrative de la structuration des populations d'*Ehrlichia ruminantium* dans la zone de Békuy, Burkina Faso : application à la formulation d'un vaccin efficace contre la cowdriose, Thèse de doctorat, Université de Montpellier II, France, 2009, 111 pages.
2. - ADAKAL H. : Utilisation des techniques nested PCR et RFLP pour la détection et la caractérisation génétique d'*Ehrlichia ruminantium* au Burkina Faso, Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies de Biologie Animale, UCAD, Dakar, 2004, 60 pages.
3. - ALLSOPP B.A.: Natural history of *Ehrlichia ruminantium*. *Vet. Parasitol.*, 2010, **167**, 123-135.
4. - ANDREW H.R., NORVAL R.A.I.: The role of males of the borne tick (*Amblyomma hebraeum*) in the transmission of *Cowdria ruminantium* (Heartwater). *Vet. Parasitol.*, 1989, **34**, 15-23.
5. - BELL-SAKYI L., KONEY E.B.M., DOGBEY O., WALKER A.R.: *Ehrlichia ruminantium* seroprevalence in domestic ruminants in Ghana I. Longitudinal survey in the Greater Accra Region. *Vet. Microbiol.*, 2004, **100**, 175-188.
6. - BELL-SAKYI L., KONEY E.B.M., DOGBEY O., SUMPTION K.J., WALKER A.R., BATH A., JONGEJAN F.: Detection by two enzyme-linked immunosorbent assays of antibodies to *Ehrlichia ruminantium* in field sera collected from sheep and cattle in Ghana. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2003, **10**, 917-925.
7. - CAMUS E., BARRE N., MARTINEZ D., UILENBERG G.: Heartwater (cowdriosis) a review, OIE, 2<sup>nd</sup> edition, OIE, Paris, 1996, 177 pages.
8. - DEEM S.L., NORVAL R.A.I., YONOW T., PETER T.E., MAHAN S.M., BURRIDGE M.J. Establishment and maintenance of endemic stability. *Parasitol. Today*, 1996, **12**, 402-405.
9. - FABURAY B., GEYSEN D., MUNSTERMANN S., TAOUFIK A., POSTIGO M., JONGEJAN F.: Molecular detection of *Ehrlichia ruminantium* infection in *Amblyomma variegatum* ticks in The Gambia. *Exp. Appl. Acarol.*, 2007, **42**, 61-74.
10. - FAROUGOU S., TOGUEBAYE B.S., TOUNKARA K., SY D., AKAKPO A.J. : Epidémiologie de la cowdriose au Bénin. 1 – Etude préliminaire sur la présence du germe chez les tiques vectrices. *Rev. Méd. Vét.*, 1998, **149**, 953-958.
11. - FAROUGOU S., KPODEKON M., TCHABODE D.M., YOUSSEAO A.K.I., BOKO C. : Abondance saisonnière des tiques (Acari : Ixodidae) parasites des bovins dans la zone soudanienne du Bénin : cas des départements de l'Atacora et de la Donga. *Ann. Méd. Vét.*, 2006, **150**, 145-152.
12. - FAROUGOU S. : Les tiques et les maladies transmises au bétail en Afrique tropicale : les hémaparasitoses et la cowdriose, Thèse de doctorat, Université d'Abomey-Calavi, Bénin, 2007, 278 pages.
13. - FAROUGOU S., KPODEKON M., ADAKAL H., SAGBO P., BOKO P. : Abondance saisonnière des tiques (Acari : Ixodidae) parasites des ovins dans la région méridionale du Bénin. *Rev. Méd. Vét.*, 2007, **158**, 627-632.
14. - FAROUGOU S., KPODEKON M., TASSOU A.W.Y.: Abondance saisonnière des tiques (Acari : Ixodidae) parasites des bovins dans la

- zone soudanienne du Bénin : cas des départements du Borgou et de l'Alibori. *Rev. Afr. Santé Prod. Anim.*, 2007, **5**, 61-67.
15. - FAROUGOU S., TASSOU A.W., TCHABODE D.M., KPODEKON M., BOKO C., YOUSAO A.K.I. : Tiques et hémoparasites du bétail dans le nord-Bénin. *Rev. Méd. Vét.*, 2007, **158**, 463-467.
  16. - KONEY E.B.M., DOGBEY O., WALKER A.R., BELL-SAKYI L.: *Ehrlichia ruminantium* seroprevalence in domestic ruminants in Ghana. II. Point prevalence survey. *Vet. Microbiol.*, 2004, **103**, 183-193.
  17. - MARTINEZ D., VACHIÉRY N., STACHURSKI F., KANDAS-SAMY Y., RALINIAINA M., APRELON R., GUYED A.: Nested PCR for detection and genotyping of *Ehrlichia ruminantium*: use in genetic diversity analysis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2004, **1026**, 106-113.
  18. - MOLIA S., FREBLING M., VACHIÉRY N., PINARELLO V., PETITCLERC M., ROUSTEAU A., MARTINEZ D., LEFRANÇOIS T.: *Amblyomma variegatum* in cattle in Marie Galante, French Antilles: Prevalence, control measures, and infection by *Ehrlichia ruminantium*. *Vet. Parasitol.*, 2008, **153**, 338-346.
  19. - MUKHEBI A.W., CHAMBOKO T., O'CALLAGHAN C.J., PETER T.F., KRUSKA R.L., MEDLEY G.F., MAHAN S.M., PERRY B.D.: An assessment of the economic impact of heartwater (*Cowdria ruminantium* infection) and its control in Zimbabwe. *Prev. Vet. Med.*, 1999, **39**, 173-189.
  20. - NORVAL R.A.I., MELTZER M.I., BURRIDJE M.J.: Distribution, economic importance and control measures for *Cowdria ruminantium*. Proceedings of a workshop held at ILRAD, Nairobi, 1991, pp.: 12-27.
  21. - OIE: Heartwater. In OIE trimestriel manual, 2008, pp.: 217-230.
  22. - OIE: [http://www.oie.int/wahis/public.php?page=country\\_timelines&public\\_country\\_code=BEN&disease\\_id=20&disease\\_type=Terrestrial&selected\\_analysis=1&firstyear=2005&lastyear=2010](http://www.oie.int/wahis/public.php?page=country_timelines&public_country_code=BEN&disease_id=20&disease_type=Terrestrial&selected_analysis=1&firstyear=2005&lastyear=2010), En ligne, consulté le 2 décembre 2010.
  23. - PETER T.F., BARBET A.F., ALLEMAN A.R., SIMBI B.H., BURRIDGE M.J., MAHAN S.M.: Detection of the Agent of Heartwater, *Cowdria ruminantium*, in *Amblyomma* Ticks by PCR: Validation and Application of the Assay to Field Ticks. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, **38**, 1539-1544.
  24. - PROVOST A., BEZUIDENHOUT J.D.: The historical background and global importance of heartwater. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1987, **54**, 165-169.
  25. - PROZESKY Y.: The pathology of heartwater. III. A review. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1987, **54**, 281-286.
  26. - STACHURSKI F., MUSONGE E.N., ACHU-KWI M.D., SALIKI J.T.: Impact of natural infestation of *Amblyomma variegatum* on the liveweight gain of male Gudali cattle in Adamawa (Cameroon). *Vet. Parasitol.*, 1993, **49**, 299-311.
  27. - STATISTICA : version 6.0, StatSoft, France.
  28. - TONOUHEWA A. : Projet de renforcement des capacités nationales de suivi des ressources en eau axe sur la gestion de l'eau agricole. Profil Bénin, Rapport FAO, 2009, 75 pages.
  29. - UILENBERG G.: International collaborative research: significance of tick-borne hemoparasitic diseases to world animal health. *Vet. Parasitol.*, 1995, **57**, 19-41.
  30. - VACHIERY N., MAGANGA G., LEFRANÇOIS T., KANDAS-SAMY Y., STACHURSKI F., ADA KAL H., FERRAZ C., MORGAT A., BENSAD A., COISSAC E., BOYER F., DEMAÏLLE J., VIARI A., MARTINEZ D., FRUTOS R.: Differential strain-specific diagnosis of the heartwater agent: *Ehrlichia ruminantium*. *Infect. Genet. Evol.*, 2008, **8**, 459-466.
  31. - VAN DE PYPEKAMP H.E., PROZESKY L.: Heartwater. An overview on the clinical signs, susceptibility and differential diagnosis of the disease in domestic animals. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 1987, **54**, 263-266.