

**VETAGRO SUP  
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2014 - Thèse n°

***ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE ET RETROSPECTIVE SUR DES  
CHEVAUX TESTES POSITIFS A LA PIROPLASMOSE A LA  
CLINEQUINE***

**THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 14 Novembre 2014  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*Stéphanie DELATTRE*

Née le 13 juin 1988  
à Villeneuve d'Ascq (59)



VetAgro Sup





**VETAGRO SUP  
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2014 - Thèse n°

***ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE ET RETROSPECTIVE SUR DES  
CHEVAUX TESTES POSITIFS A LA PIROPLASMOSE A LA  
CLINEQUINE***

**THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 14 Novembre 2014  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*Stéphanie DELATTRE*

Née le 13 juin 1988  
à Villeneuve d'Ascq (59)



VetAgro Sup





## Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon

Mise à jour :  
12 mars 2014

Civilité	Nom	Prénom	Unités pédagogiques	Grade
M.	ALOGNINOUIWA	Théodore	Pathologie du bétail	Professeur
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	ARTOIS	Marc	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BARTHELEMY	Anthony	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	BECKER	Claire	Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	BELLI	Patrick	Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	Equine	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	BERNY	Philippe	Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BERTHELET	Marie-Anne	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BOULOCHER	Caroline	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	BOURDOISEAU	Gilles	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	BRUYERE	Pierre	Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences Stagiaire
M.	BUFF	Samuel	Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences
M.	BURONFOSSE	Thierry	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	CACHON	Thibaut	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Stagiaire
M.	CADORE	Jean-Luc	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	CAROZZO	Claude	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	CHABANNE	Luc	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	COMMUN	Loïc	Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	DEMONT	Pierre	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	DESJARDINS PESSON	Isabelle	Equine	Maître de conférences Contractuel
Mme	DJELOUADJI	Zorée	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	ESCRIOU	Catherine	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	FAU	Didier	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	FOURNEL	Corinne	Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
M.	FRANCK	Michel	Gestion des élevages	Professeur
M.	FREYBURGER	Ludovic	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	GRAIN	Françoise	Gestion des élevages	Professeur
M.	GRANCHER	Denis	Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	GUERIN	Pierre	Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Professeur
Mme	HUGONNARD	Marine	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	JUNOT	Stéphane	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	KECK	Gérard	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	KODJO	Angell	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	LACHERETZ	Antoine	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAMBERT	Véronique	Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	LATTARD	Virginie	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	Pathologie du bétail	Professeur
Mme	LEBLOND	Agnès	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	LEPAGE	Olivier	Equine	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	MARCHAL	Thierry	Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
Mme	MIALET	Sylvie	Santé Publique et Vétérinaire	Inspecteur en santé publique vétérinaire (ISPV)
Mme	MICHAUD	Audrey	Gestion des élevages	Maître de conférences
M.	MOUNIER	Luc	Gestion des élevages	Maître de conférences
M.	PEPIN	Michel	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	PIN	Didier	Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PONCE	Frédérique	Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	PORTIER	Karine	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	PROUILLAC	Caroline	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
Mme	REMY	Denise	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	ROGER	Thierry	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	SABATIER	Philippe	Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
Mme	SEGARD	Emilie	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	SERGENTET	Delphine	Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	SONET	Juliette	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
M.	THIEBAULT	Jean-Jacques	Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	VIGUIER	Eric	Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothee	Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
M.	ZENNER	Lionel	Santé Publique et Vétérinaire	Professeur



# **REMERCIEMENTS**

A Monsieur le Professeur Dominique PEYRAMOND,  
De la faculté de Médecine Claude Bernard de Lyon,  
Qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être le président de jury de cette thèse,  
Avec toute ma gratitude et mes hommages respectueux.

A Madame le Docteur Agnès BENAMOU-SMITH,  
Maitre de conférences au sein du campus vétérinaire de VetAgro-Sup de Lyon,  
Qui m'a fait l'honneur d'accepter de m'encadrer, de me guider et de me conseiller tout au long de ce travail,  
Toute ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Marie-Pierre CALLAIT-CARDINAL,  
Maitre de conférences au sein du campus vétérinaire de VetAgro-Sup de Lyon,  
Qui m'a fait l'honneur de participer à mon jury de thèse et pour sa disponibilité,  
Mes plus sincères remerciements.

A Madame le Professeur Emmanuelle GILOT-FROMONT,  
Du campus vétérinaire de VetAgro-Sup de Lyon,  
Pour son aide précieuse lors de la réalisation des statistiques,  
Sincères remerciements.

A Madame le Docteur Estelle DEBERGE,  
Ancienne interne en pathologie équine du campus vétérinaire de VetAgro-Sup,  
Pour son aide précieuse dans la réalisation de ce travail,  
Ma plus profonde amitié.





# TABLE DES MATIERES

---

Liste des figures.....	13
Liste des tableaux.....	15
Lexique des abréviations.....	17
INTRODUCTION.....	19
PREMIERE PARTIE : ASPECTS GENERAUX SUR LA PIROPLASMOSE EQUINE.....	21
I.    Etiologie.....	21
A.    Les parasites : Babesia caballi et Theileria equi.....	21
1.    Classification taxonomique [10 ; 22 ; 23 ; 35 ; 47 ; 98].....	21
2.    Etude en microscopie optique.....	23
B.    Cycle évolutif des parasites.....	25
1.    Cycle évolutif de Babesia caballi [10 ; 35 ; 99 ; 121 ; 122 ; 123 ; 124].....	26
a.    Cycle évolutif chez le cheval : Schizogonie.....	26
b.    Cycle évolutif chez la tique : Gamogonie et Sporogonie.....	26
2.    Cycle évolutif de Theileria equi [10 ; 35 ; 99 ; 121 ; 122 ; 124].....	29
a.    Cycle évolutif chez le cheval : schizogonie.....	29
b.    Cycle évolutif chez la tique : Gamogonie et Sporogonie.....	29
C.    Les vecteurs : les tiques.....	32
1.    Morphologie et taxinomie [125].....	32
2.    Nutrition [125].....	33
3.    Cycle évolutif [125].....	33
4.    Pouvoir pathogène.....	33
D.    Autre modes de transmission.....	35
1.    Transmission transplacentaire.....	35
2.    Transmission iatrogène.....	36
3.    Transmission par des diptères hémathophages ?.....	36
4.    Transmission par le sperme.....	36
5.    Transmission à d'autres espèces.....	36
II.    Epidémiologie.....	37
A.    Régions non endémiques selon l'OIE [10 ; 35].....	37
1.    Pays considérés comme non endémiques :.....	37

2.	Un statut en péril pour certains pays .....	38
a.	Aux Etats-Unis : .....	38
b.	En Australie : .....	39
c.	En Europe : .....	39
d.	Les pays « épargnés » .....	40
B.	Régions endémiques : régions tropicales et subtropicales .....	41
1.	En Amérique Latine : .....	41
2.	En Europe : .....	41
3.	En Afrique et en Asie .....	42
C.	Impact sur les déplacements des équidés. ....	42
III.	Aspects cliniques .....	44
A.	Pathogénie.....	44
1.	Parasitémie.....	44
2.	Incubation.....	44
3.	Mécanisme pathologique.....	44
a.	Mécanisme hémolytique.....	44
b.	Mécanisme de vascularite.....	45
4.	Immunité protectrice .....	45
a.	Généralités .....	45
b.	Immunité humorale.....	45
c.	Immunité cellulaire.....	46
B.	Signes cliniques .....	46
1.	Forme suraigüe : .....	46
2.	Forme aigüe.....	47
3.	Forme subaigüe .....	47
4.	Forme chronique : .....	47
5.	Existence de porteurs sains .....	47
C.	Signes paracliniques : .....	48
1.	Anomalies de la numération formule sanguine .....	48
a.	Modification de la formule rouge .....	48
b.	Modification de la formule blanche .....	48
2.	Anomalies biochimiques .....	49
D.	Lésions.....	49
1.	Lésion macroscopiques .....	49

2.	Lésions histopathologiques .....	49
IV.	Diagnostic différentiel .....	50
A.	Chez le poulain .....	50
B.	Chez les chevaux adultes.....	50
1.	La leptospirose .....	50
2.	L'Erlichiose équine.....	51
3.	La Borreliose (Maladie de Lyme).....	51
4.	L'artérite virale équine (AVE) .....	51
5.	L'anémie infectieuse des équidés (AIE).....	51
V.	Techniques diagnostiques.....	53
A.	Identification de l'agent pathogène .....	53
1.	Observation de l'agent pathogène au microscope [7 ; 8 ; 92] .....	53
2.	Transfusion de sang total [7 ; 92] .....	54
3.	Utilisation d'une tique vectrice [7].....	54
4.	Culture in vitro [7 ; 30 ; 104 ; 105].....	54
B.	Epreuves sérologiques.....	55
1.	Fixation du complément (ancienne méthode prescrite pour les échanges internationaux) 55	
2.	Immunofluorescence indirecte (épreuve prescrite pour les échanges internationaux) [7 ; 39 ; 40 ; 68 ; 80].....	57
a.	Principe du test.....	57
b.	Protocole du LVD du Rhône .....	58
c.	Résultat.....	59
3.	Méthode immuno – enzymatique : ELISA (épreuve prescrite pour les échanges internationaux) [7 ; 24] .....	60
C.	Une technique récente ; la PCR : Polymerase Chain Reaction.....	62
1.	Principe de la PCR simple [4 ; 5 ; 100 ; 103] .....	62
2.	Reverse-Transcriptase PCR [5].....	63
3.	Nested PCR [5 ; 8 ; 9] .....	63
4.	Multiplex PCR [5 ; 12].....	64
5.	PCR en temps réel [5 ; 11 ; 13 ; 14 ; 100].....	64
D.	LAMP : loop-mediated isothermal amplification [18].....	67
VI.	Traitement.....	68
A.	Anciennes molécules.....	68
1.	Le Bleu Trypan .....	68

2.	Chloro-méthylate d'acriflavine.....	68
3.	Diamidines aromatiques [10 ; 24] .....	68
a.	Diamazene diaceturate (BERENIL®).....	69
b.	Amicarbalide.....	69
4.	Parvaquone et buparvaquone [10 ; 33 ; 94].....	69
5.	Tétracyclines : chlortétracycline hydrochloride, oxytétracycline hydrochloride [10 ; 93]	69
B.	Traitement actuel : Imidocarbe dipropionate (CARBESIA®).....	70
1.	Pharmacocinétique [34] .....	70
2.	Traitement d'infections à <i>Babesia caballi</i> [10 ; 24 ; 35 ; 39 ; 41 ; 49] .....	71
3.	Traitement d'infections à <i>Theileria equi</i> [10 ; 24 ; 33 ; 35 ; 39 ; 48 ; 53 ; 55 ; 95 ; 96 ] ....	71
C.	Recherche de nouvelles molécules utilisables .....	72
1.	Le pronazuril [52] .....	72
2.	L'acide fusidique [97] .....	73
D.	Jument gestante et poulain nouveau né [10] .....	73
E.	Traitement de soutien.....	73
1.	Traitement hygiénique et symptomatique .....	73
2.	Précautions à prendre avant un traitement à l'Imidocarbe.....	74
VII.	Prévention et prophylaxie .....	74
A.	Prévention en zone non endémique .....	74
B.	Prévention en zone endémique .....	75
C.	Lutte contre les tiques.....	75
D.	Prophylaxie vaccinale .....	76
E.	Prophylaxie médicale .....	76
DEUXIEME PARTIE : ETUDE RETROSPECTIVE SUR DES CHEVAUX SUSPECTS CLINIQUEMENT ET TESTES POSITIFS A LA PIROPLASMOSE .....		77
I.	Objectifs de l'étude .....	77
II.	Matériels et Méthodes.....	77
A.	Critères d'inclusions dans l'étude .....	77
B.	Réalisation des examens complémentaires .....	78
1.	Prise de sang.....	78
2.	PCR.....	78
C.	Recueil des données.....	79
1.	Etude des dossiers cliniques des chevaux testés positifs à la piroplasmose. ....	79
a.	Sélection des dossiers .....	79

b.	Etude des dossiers cliniques.....	79
c.	Prise de nouvelles.....	80
2.	Réalisation d'un tableau récapitulatif servant de base pour l'étude.....	80
a.	Information propre au cheval.....	80
b.	Paramètres concernant l'anamnèse et l'examen clinique.....	81
c.	Paramètres hémato-biochimiques.....	81
d.	Statut piroplasmosique.....	82
e.	Prise nouvelles.....	82
III.	Analyse statistique.....	82
A.	Analyse univariée des variables qualitatives.....	83
B.	Analyse univariée des variables quantitatives.....	84
C.	Interprétation des tests.....	85
IV.	Resultats.....	86
A.	Statut piroplasmosique.....	86
B.	Informations propre au cheval.....	88
1.	Age.....	88
2.	Sexe.....	89
3.	Race.....	90
4.	Utilisation.....	91
C.	Informations concernant l'examen clinique.....	92
1.	Motif de consultation.....	92
2.	Hospitalisation / Passage en chirurgie.....	93
3.	Couleur des muqueuses.....	94
4.	Œdème.....	95
5.	Température.....	96
D.	Paramètres hématologiques.....	97
1.	Globules rouges.....	97
2.	Hémoglobine.....	99
3.	Hématocrite.....	100
4.	Leucocytes.....	101
5.	Polynucléaires neutrophiles.....	102
6.	Lymphocytes.....	103
E.	Paramètres biochimiques.....	104
1.	Bilirubine totale.....	104

2. Bilirubine directe .....	105
3. Protéines totales .....	106
4. Albumine .....	107
5. Fibrinogène.....	108
6. Urée.....	109
7. Créatinine .....	110
8. ASAT.....	111
9. GGT.....	112
10. GLDH.....	113
11. Créatinine kinase.....	114
12. Substance amyloïde A .....	115
F. Suivi des chevaux positifs.....	116
V. Discussion.....	118
A. Prévalence des parasites observés.....	118
B. Facteurs de risque des infections .....	118
C. Critères cliniques des infections rencontrées .....	118
D. Critères paracliniques des infections rencontrées.....	119
E. Limites de cette étude.....	119
F. Evolution des chevaux piroplamose positifs.....	120
G. Effets secondaires du traitement à l'imidocarbe.....	121
CONCLUSION .....	123
BIBLIOGRAPHIE.....	125

# LISTE DES FIGURES

---

Figure 1 : <i>Babesia caballi</i> [120].....	23
Figure 2: Forme bigémisée de <i>Babesia caballi</i> observable sur un frottis sanguin [122].....	23
Figure 3 : <i>Theileria equi</i> [120] .....	24
Figure 4 : Différentes formes de <i>Theileria equi</i> observables sur un frottis sanguin. (A) Forme en ovale ou anneau. (B) Forme en « croix de malte ». (C) Forme piriforme et infection multiple [58]......	24
Figure 5 : Schizogonie [122] .....	25
Figure 6 : Endodyogénie chez un Sporozoaire [122].....	25
Figure 7 : Cycle évolutif de <i>Babesia Caballi</i> [124] .....	28
Figure 8 : Cycle évolutif de <i>Theileria equi</i> [124] .....	30
Figure 9 : Distribution de la piroplasmose équine entre juillet et décembre 2013 dans le monde [114] .....	37
Figure 10 : Distribution de la piroplasmose équine au mois de Juillet 2008 dans le monde [114] .....	38
Figure 11 : Distribution de la piroplasmose équine au mois de Décembre 2007 (A gauche) et janvier 2008 (A droite) en Europe [114]. .....	39
Figure 12 : Distribution de la piroplasmose équine au mois de Juin 2009 (A gauche) et janvier 2010 (A droite) en Europe [114]......	40
Figure 13 : Distribution de la piroplasmose équine entre le mois de juillet et le mois de décembre 2012 dans le monde [114]......	40
Figure 14 : Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'OIE [119] .....	43
Figure 15 : Interprétation du test d'immunofluorescence indirecte. ....	59
Figure 16: Observation microscopique d'une réaction positive au test d'immunofluorescence indirecte [107] .....	60
Figure 17: Hydrolyses de Sondes (Taqman Assay) [100].....	66
Figure 18 : Démarche statistique pour l'analyse univariée d'une variable qualitative.....	83
Figure 19 : Démarche statistique pour l'analyse univariée d'une variable quantitative .....	84
Figure 20: Résultats des tests PCR pour la piroplasmose sur les 173 chevaux inclus dans l'étude.....	86
Figure 21: Répartition de <i>Babesia cabilli</i> et <i>Theileria equi</i> pour les tests PCR positifs. ....	86
Figure 22 : Résultats des sérologies pour T.equi chez les chevaux PCR T.equi positifs .....	87
Figure 23: Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose + et du groupe témoin en fonction de l'âge .....	88
Figure 24: Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose positif et du groupe témoin en fonction du sexe .....	89
Figure 25: Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose positif et du groupe témoin en fonction de la race .....	90
Figure 26: Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose positif et du groupe témoin en fonction du type d'utilisation .....	91
Figure 27: Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose positif et du groupe témoin en fonction du type d'utilisation .....	92
Figure 28 : Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose + et du groupe témoin en fonction du type de l'hospitalisation et du passage en chirurgie.....	93

Figure 29: Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose + et du groupe témoin en fonction de la couleur des muqueuses. ....	94
Figure 30 : Fréquence des œdèmes en fonction du groupe piroplasmose positif et en fonction du groupe témoin.....	95
Figure 31 : Localisation des oedèmes au sein du groupe piroplasmose positif.....	95
Figure 32 : Température maximale suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non ....	96
Figure 33 : Nombre de globules rouges suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non .....	97
Figure 34 : Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose + et du groupe témoin en fonction du type des classes de globules rouges.....	98
Figure 35 : Hémoglobininémie suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non .....	99
Figure 36 : Taux d'hématocrite suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non .....	100
Figure 37 : Nombre de leucocytes suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non....	101
Figure 38 : Nombre de PNN suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non .....	102
Figure 39 : Nombre de lymphocytes suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non .	103
Figure 40 : Taux de bilirubine totale suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non .	104
Figure 41 : Taux de bilirubine direct suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non..	105
Figure 42 : Taux de protéines totales suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non	106
Figure 43 : Taux d'albumine suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non .....	107
Figure 44 : Taux de fibrinogène suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non.....	108
Figure 45 : Taux d'urée suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non.....	109
Figure 46 : Taux de créatinine suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non .....	110
Figure 47 : Taux d'ASAT suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non.....	111
Figure 48 : Taux de GGT suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non .....	112
Figure 49 : Taux de GLDH suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non .....	113
Figure 50 : Taux de créatinine kinase suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non	114
Figure 51 : Taux de SAA suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non.....	115
Figure 52 : Suivi des 46 chevaux PCR piroplasmose positive .....	116
Figure 53 : Evolution clinique en fonction du nombre de traitements.....	117



# LISTE DES TABLEAUX

---

Tableau 1 : Classification taxonomique des agents de piroplasmose équine.....	22
Tableau 2 : Tableau récapitulatif des différences entre <i>Babesia caballi</i> et <i>Theileria equi</i> .....	31
Tableau 3 : Taxonomie des tiques impliquées dans la transmission des piroplasmes .....	32
Tableau 4 : Tiques vectrices de piroplasmose équine et leur distribution dans le monde [35]. .....	34
Tableau 5 : Tableau récapitulatif du diagnostic différentiel de la piroplasmose .....	52
Tableau 6 : Interprétation du test de fixation du complément .....	56
Tableau 8 : Variables qualitatives et quantitatives analysées dans notre étude.....	82
Tableau 9 : Répartition de l'âge entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif .....	88
Tableau 10: Répartition du sexe entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif .....	89
Tableau 11 : Répartition de la race entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif .....	90
Tableau 12: Répartition de type d'utilisation du cheval entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif.....	91
Tableau 13: Répartition du motif de consultation entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif.....	92
Tableau 14 : Répartition de l'hospitalisation entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif .....	93
Tableau 15 : Répartition du passage en chirurgie entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif.....	93
Tableau 16 : Répartition de la couleur des muqueuses ente le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif.....	94
Tableau 17 : Répartition des œdèmes dans le groupe « témoin » et le groupe « piroplasmose positif » .....	95
Tableau 18 : Distribution la température entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif .	96
Tableau 19 : Distribution des globules rouges (106/mm <sup>3</sup> ) entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif.....	97
Tableau 20 : Répartition du nombre de globules rouges (106/mm <sup>3</sup> ) entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif.....	98
Tableau 21 : Distribution de l'hémoglobine (g/dL) .....	99
Tableau 22 : Distribution de l'hématocrite (%) .....	100
Tableau 23 : Distribution des globules blancs (103/mm <sup>3</sup> ) .....	101
Tableau 24 : Distribution des polynucléaires neutrophiles (103/mm <sup>3</sup> ) .....	102
Tableau 25 : Distribution des lymphocytes (103/mm <sup>3</sup> ).....	103
Tableau 26 : Distribution de la bilirubine totale (mmol/L).....	104
Tableau 27 : Distribution de la bilirubine directe (mmol/L).....	105
Tableau 28 : Distribution des protéines totales (g/L).....	106
Tableau 29 : Distribution de l'albumine (g/L). .....	107
Tableau 30 : Distribution du fibrinogène (g/L).....	108
Tableau 31 : Distribution de l'urée (mmol/L).....	109
Tableau 32 : Distribution de la créatinine (mmol/L) .....	110
Tableau 33 : Distribution des ASAT (UI/L) .....	111
Tableau 34 : Distribution des GGT (UI/L) .....	112

Tableau 35 : Distribution des GLDH (UI/L) .....	113
Tableau 36 : Distribution de la créatinine kinase ( $\mu\text{mol/L}$ ) .....	114
Tableau 37 : Distribution du SAA (mg/L) .....	115

# LEXIQUE DES ABREVIATIONS

---

- ADN : Acide désoxyribo nucléique
- AIE : Anémie infectieuse des équidés
- Alfort : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
- AMM : Autorisation de mise sur le marché
- ARN : Acide ribo nucléique
- ASAT : Aspartate aminotransférase
- AVE : Artérite virale équine
- *B.caballi* : *Babesia caballi*
- cELISA : Competitive enzyme-linked immunosorbent assay
- CIVD : coagulation intra-vasculaire disséminée
- ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay
- FC : Fixation du complément
- GGT : Gamma-Glutamyltranspeptidase
- GLDH : Glutamate désydrégénase
- IFI : Immunofluorescence indirecte
- IgG : Immunoglobulines de type G
- LAMP : Loop mediated isothermal amplification
- LVD : Laboratoire vétérinaire départemental
- MDO : Maladie à déclaration obligatoire
- MRC : Maladie réputée contagieuse
- p. ex. : par exemple
- PBS : Phosphate Buffered Saline
- PCR : Polymerase chain reaction
- OIE : Organisation mondiale de la santé animale
- VMRD : Veterinary Medical Research & Development
- SAA : Substance amyloïde A
- *T.equi* : *Theileria equi*



# INTRODUCTION

---

La piroplasmose équine est une maladie parasitaire pouvant être causée par les deux agents étiologiques : *Babesia caballi* et *Theileria equi*. Ce sont des protozoaires qui infectent les érythrocytes de tous les membres du genre *Equus* : cheval, âne, zèbre, cheval de Przewalski, et les croisements entre ces espèces comme la mule ou le bardot par exemple. C'est une maladie vectorielle transmise par une tique dure de la famille des Ixodidés.

Sous sa forme aigue, la piroplasmose entraîne de la fièvre, de l'anémie, de l'œdème des membres et un ictère franc. La première description d'une maladie équine reportant une « fièvre biliaire » a été faite par Hutcheon en 1885 [54] mais c'est Laveran [22], Nutall et Strickland [23] qui caractériseront les deux agents étiologiques de la maladie.

La piroplasmose équine est largement répandue dans le monde ; il est considéré que 90% des chevaux vivent sur un territoire où la maladie a déjà été rencontrée. L'augmentation des mouvements internationaux de chevaux ces dernières années a exacerbé l'importance de la Piroplasmose et de nombreux contrôles sont exercés dans le cadre du marché économique international.

La maladie peut aussi prendre différentes formes chroniques où les symptômes seront plus frustrés. Il existe aussi des animaux porteurs de ces hémoparasites mais qui sont cliniquement sains. L'objectif de notre étude rétrospective est de caractériser les formes atypiques de la maladie rencontrées chez les animaux vu en consultation ou hospitalisés à la Clinéquine, clinique équine de l'école vétérinaire de Lyon (VetAgro-Sup), en étudiant les paramètres cliniques et hématobiochimiques, et en évaluant les réactions au traitement et l'évolution à long terme.

Nous commencerons dans la première partie de ce manuscrit par une synthèse bibliographique de la piroplasmose équine en s'intéressant à l'étiologie, l'épidémiologie, les aspects cliniques, les techniques diagnostiques, le traitement et la prophylaxie de la maladie.

L'étude rétrospective réalisée sur 173 chevaux à la Clinéquine entre janvier 2011 et décembre 2013 sera présentée dans la deuxième partie.



# PREMIERE PARTIE : ASPECTS GENERAUX SUR LA PIROPLASMOSE EQUINE

---

## I. ETIOLOGIE

### A. Les parasites : *Babesia caballi* et *Theileria equi*

#### 1. Classification taxonomique [10 ; 22 ; 23 ; 35 ; 47 ; 98]

Les agents responsables de piroplasmose équine sont deux hémoparasites, *Babesia caballi* (Nutall and Strickland, 1910 [23]) et *Theileria equi* (Laveran, 1901 [22]). Les deux parasites envahissent les globules rouges à leur stade mérozoite et pour cela ils ont tout deux été classés pendant longtemps dans le genre *Babesia*.

Au début du 20<sup>ème</sup> siècle, en 1901 Laveran [22] met en évidence que la maladie est causée par un parasite protozoaire intra-érythrocytaire qu'il nomme alors *Piroplasma equi*. Le terme de piroplasmes provient de l'aspect en forme de poire qu'ils peuvent prendre dans les érythrocytes. Ensuite en 1904, Koch [98] découvre qu'il existe deux formes morphologiquement différentes chez des chevaux aux Zimbabwe. Ce ne sera que plus tard qu'ils seront nommés *Babesia caballi* (Nutall and Strickland, 1910 [23]) et *Babesia equi* (Laveran, 1901 [22]).

Mais cette classification est encore remise en question par Mehlhorn et Schein [47]. Cette remise en cause est basée sur la clarification des cycles évolutifs des deux parasites qui se révèlent légèrement différents. *Babesia equi* possède un stade de développement pré-érythrocytaire dans les lymphocytes, puis suite à la formation des macro et des microgamètes, la multiplication devient endoérythrocytaire. On peut observer ce phénomène pour d'autres espèces du genre *Theileria*. *Babesia equi* est alors renommé *Theileria equi* (Laveran, 1901). La reclassification de *Babesia equi* en *Theileria equi* était nécessaire puisque le parasite montrait des caractéristiques pertinentes d'appartenance au genre *Theileria* tels que des critères biologiques, des spécificités morphologiques, des propriétés biochimiques et des ressemblances moléculaires.

Actuellement on peut trouver *Babesia equi* ou *Theileria equi* dans la littérature ; le terme *Babesia equi* se retrouve dans les publications anciennes et est de moins en moins présent dans les publications récentes où le terme *Theileria equi* a bien été intégré.

La classification actuelle se résume dans le tableau suivant :

**Tableau 1 : Classification taxonomique des agents de piroplasmose équine**

<b>REGNE</b>	Protistes	
<b>SOUS REGNE</b>	Protozoaires	
<b>PHYLUM</b>	Apicomplexa	
<b>CLASSE</b>	Sporozoea	
<b>SOUS CLASSE</b>	Haemosporidia	
<b>ODRE</b>	Piroplasmida	
<b>FAMILLE</b>	Babesiidés	Theileriidés
<b>GENRE</b>	Babesia	Theileria
<b>ESPECE</b>	<b><i>Babesia caballi</i></b>	<b><i>Theileria equi</i></b>

Un autre hémoparasite beaucoup plus anecdotique à été mis en évidence chez les chevaux : *Babesia canis*. Il est habituellement rencontré chez les chiens. Le diagnostique moléculaire ayant permis de mettre en évidence *Babesia canis* chez des chevaux s'est fait grâce à une amplification partielle et un séquençage du gène 18s rARN. [84]. L'étude de Hornok et al [88] a mis en évidence pour la première fois la présence d'anticorps anti-*Babesia canis* chez des chevaux par un test d'immunofluorescence. Les seuils de détections étaient bas ; de 1/40 à 1/160 et aucun signes cliniques n'ont été développés.

Ces études laissent suggérer que les piroplasmes sont peut être un peu moins hôtes- spécifiques que ce que l'on pensait jusqu'à présent. Mais aucune étude n'a réussi à mettre en évidence pour l'instant des signes cliniques attribuables à *Babesia canis* chez les équidés.



## 2. Etude en microscopie optique

La morphologie des deux parasites tels qu'ils sont observables chez leur hôte vertébré sera décrite. Ils sont repérables dans les hématies à partir d'un frottis sanguin de l'équidé, au microscope optique après coloration au May-Grünwald ou au Giemsa.

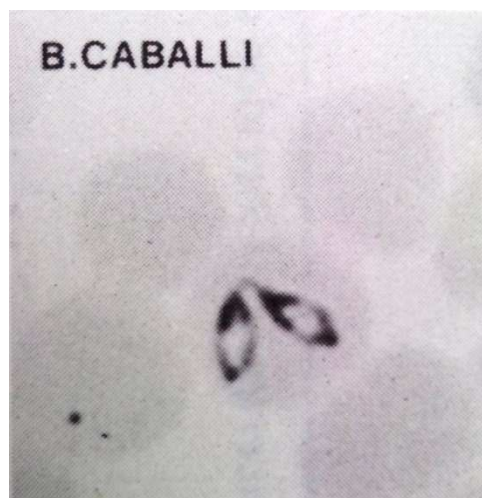
### ➤ *Babesia caballi*

*Babesia caballi* est un protozoaire endo-érythrocytaire strict non pigmenté chez l'hôte vertébré qui peut prendre différentes formes qui ont été décrites par Holbrook et al [59]. On peut le rencontrer le trophozoïte ou le mérozoïte. Le bourgeonnement intra-érythrocytaire du trophozoïte donnera deux mérozoïtes [120,121].

Au microscope on peut observer une forme annulaire ou ovalaire qui mesure entre 1.5 et 3µm de diamètre. On observe aussi des formes piriformes de 2 à 5 µm de longueur. De part sa taille, ce protozoaire est appelé grande Babésie en comparaison avec *Theileria equi* qui est plus petit [121]. La forme caractéristique et diagnostique de *Babesia caballi* comporte deux mérozoïtes piriformes unis par leur extrémité la plus fine appelée aussi forme bigéminée [118 ; 122].



**Figure 1 : Babesia caballi [120]**



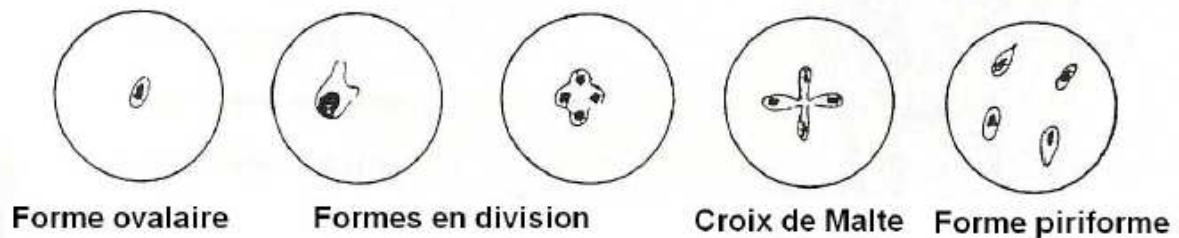
**Figure 2: Forme bigéminée de Babesia caballi observable sur un frottis sanguin [122]**

➤ *Theileria equi*

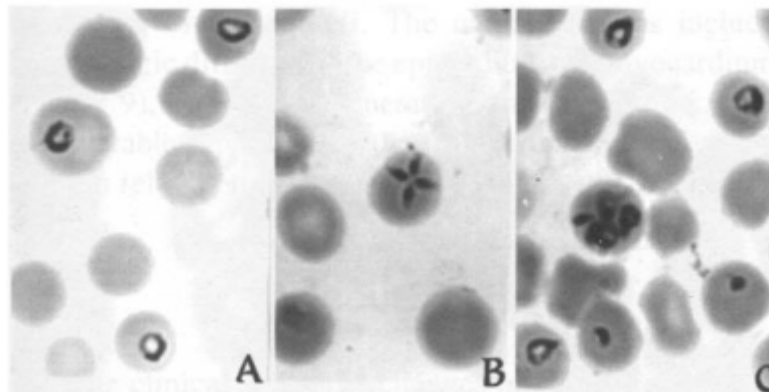
*Theileria equi* est un protozoaire endo-érythrocytaire non pigmenté qui peut prendre différentes formes qui ont été décrites par Holbrook et al [59]. Contrairement à *Babesia caballi*, *Theileria* colonise d'abord les lymphocytes avant d'infecter les hématies [120 ; 121].

Au microscope on peut observer une forme ronde ou ovale qui mesure entre 1 et 2  $\mu\text{m}$  de diamètre. On observe aussi des formes piriformes inférieures à 2-3  $\mu\text{m}$  de longueur. De part sa taille, ce protozoaire est appelé petite Babésie en comparaison avec *Babesia caballi* qui est plus grand [121].

La disposition de quatre mérozoïtes en tétrade ou « croix de Malte » est caractéristique et diagnostique de *Theileria equi* bien que la forme ovale ou annulaire semble plus souvent observée au frottis sanguin [58 ; 60].



**Figure 3 : *Theileria equi* [120]**



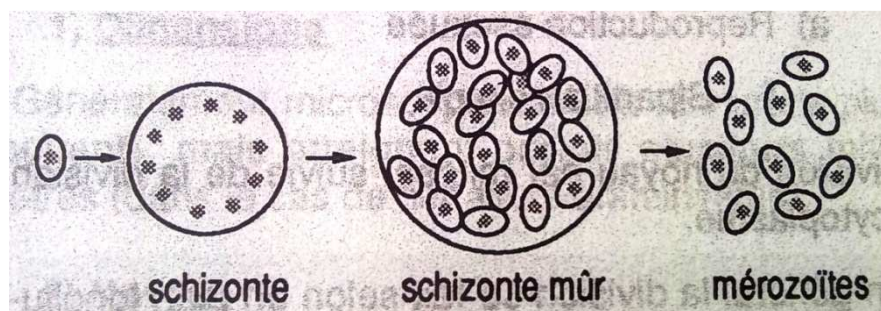
**Figure 4 : Différentes formes de *Theileria equi* observables sur un frottis sanguin. (A) Forme en ovale ou anneau. (B) Forme en « croix de malte ». (C) Forme piriforme et infection multiple [58].**

Dans les lymphocytes ; on peut rencontrer les parasites sous deux formes différentes. On peut voir des macroschizontes qui contiennent 15 à 20 noyaux, entourés de cytoplasme, de 8 à 10  $\mu\text{m}$  de longueur et 4 à 6  $\mu\text{m}$  de largeur. On peut observer aussi des microschantes qui peuvent renfermer jusqu'à 200 micromérozoïtes ; ils remplissent alors entièrement la cellule hôte qui peut alors avoir un aspect hypertrophié [123].

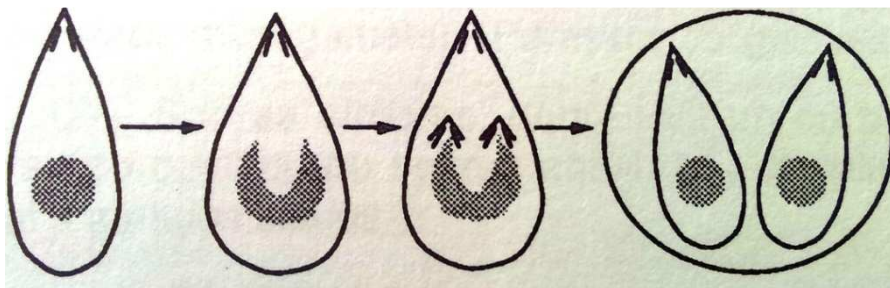
## B. Cycle évolutif des parasites

Les piroplasmes sont des sporozoaires au cycle hétéroxène comportant trois phases. Une phase de reproduction asexuée : la schizogonie, une phase de reproduction sexuée : la gamogonie et une phase de sporogonie.

La schizogonie ou mérogonie consiste en des divisions multiples du noyau transformant le trophozoïte en schizonte suivies de divisions cytoplasmiques et finalement d'endodyogénie. L'endodyogénie consiste en un bourgeonnement de deux cellules filles à partir d'une cellule mère, qui est ensuite détruite.



**Figure 5 : Schizogonie [122]**



**Figure 6 : Endodyogénie chez un Sporozoaire [122]**

La reproduction sexuée ou gamogonie a lieu chez la tique, longtemps méconnue mais qui semble maintenant bien confirmée, elle se fait par copulation. Les deux gamontes vont donner un zygote mobile par fusion appelé ookinète.

La sporogonie a aussi lieu chez l'ixodidé vecteur avec passage des parasites dans les glandes salivaires.

## 1. Cycle évolutif de *Babesia caballi* [10 ; 35 ; 99; 121 ; 122 ; 123 ; 124]

Le cycle de *Babesia caballi* est typique des différentes espèces du genre *Babesia*.

### a. Cycle évolutif chez le cheval : Schizogonie.

L'infection chez le cheval débute lorsque qu'une tique dure Ixodidée, le plus souvent de genre *Dermacentor* se nourrit sur un hôte équin naïf. La tique inocule des sporozoïtes directement dans le sang du cheval lors de son repas sanguin par l'intermédiaire de sa salive. Les sporozoïtes envahissent alors directement les érythrocytes. *Babesia caballi* infecte exclusivement les globules rouges chez l'hôte vertébré.

Dans les hématies, les sporozoïtes grossissent, prennent une forme annulaire et s'entourent de cytoplasme pour former des trophozoïtes.

La multiplication asexuée ou schizogonie a alors lieu. Le trophozoïte se divise par bourgeonnement en deux cellules filles de forme piriforme de 2-5 µm de long, appelées mérozoïtes. Cette multiplication asexuée génère la forme bigéminée observable au microscope sur frottis sanguin qui est la forme caractéristique de *Babesia caballi*. Le plus souvent la bipartition est suivie d'une destruction de l'hématie et de la libération des mérozoïtes dans le plasma sanguin.

Rapidement, le mérozoïte se fixe sur un nouveau globule rouge et crée une profonde invagination de la paroi de l'hématie, le piroplasma se retrouve alors enfermé dans une vacuole parasitophore à l'intérieur de l'érythrocyte et va reconstituer un trophozoïte. La formation de deux nouvelles cellules filles à lieu permettant la multiplication des mérozoïtes. Si le mérozoïte reste libre dans le plasma, il peut dégénérer ou être phagocyté par les leucocytes du cheval.

La multiplication asexuée peut se poursuivre indéfiniment jusqu'à la mort du cheval ou l'élimination du parasite par le système immunitaire. On constate néanmoins que certains trophozoïtes endo-érythrocytaires cessent toute division sans qu'on en connaisse la cause. Il est admis qu'ils constituent alors les gamontes.

Les globules rouges infectés de l'équidé sont ensuite ingérés par une autre tique lors d'un repas sanguin.

### b. Cycle évolutif chez la tique : Gamogonie et Sporogonie.

Lorsque qu'une tique femelle adulte se nourrit sur un équidé infecté, il y a digestion et destruction, dans la lumière intestinale, des globules rouges, des trophozoïtes et des mérozoïtes. La tique peut s'infecter quelque soit son stade (larve, nymphe ou adulte) mais le cycle se poursuivra uniquement chez les femelles adultes.

Les gamontes présumés sont les seuls à survivre et pénètrent alors dans les cellules de l'épithélium intestinal. Ceux-ci se prennent une forme de corps rayonnés appelés gamètes. Il y a ensuite réunion et fusion de deux gamètes, donnant un zygote sphérique. Cette étape est appelée la gamogonie.

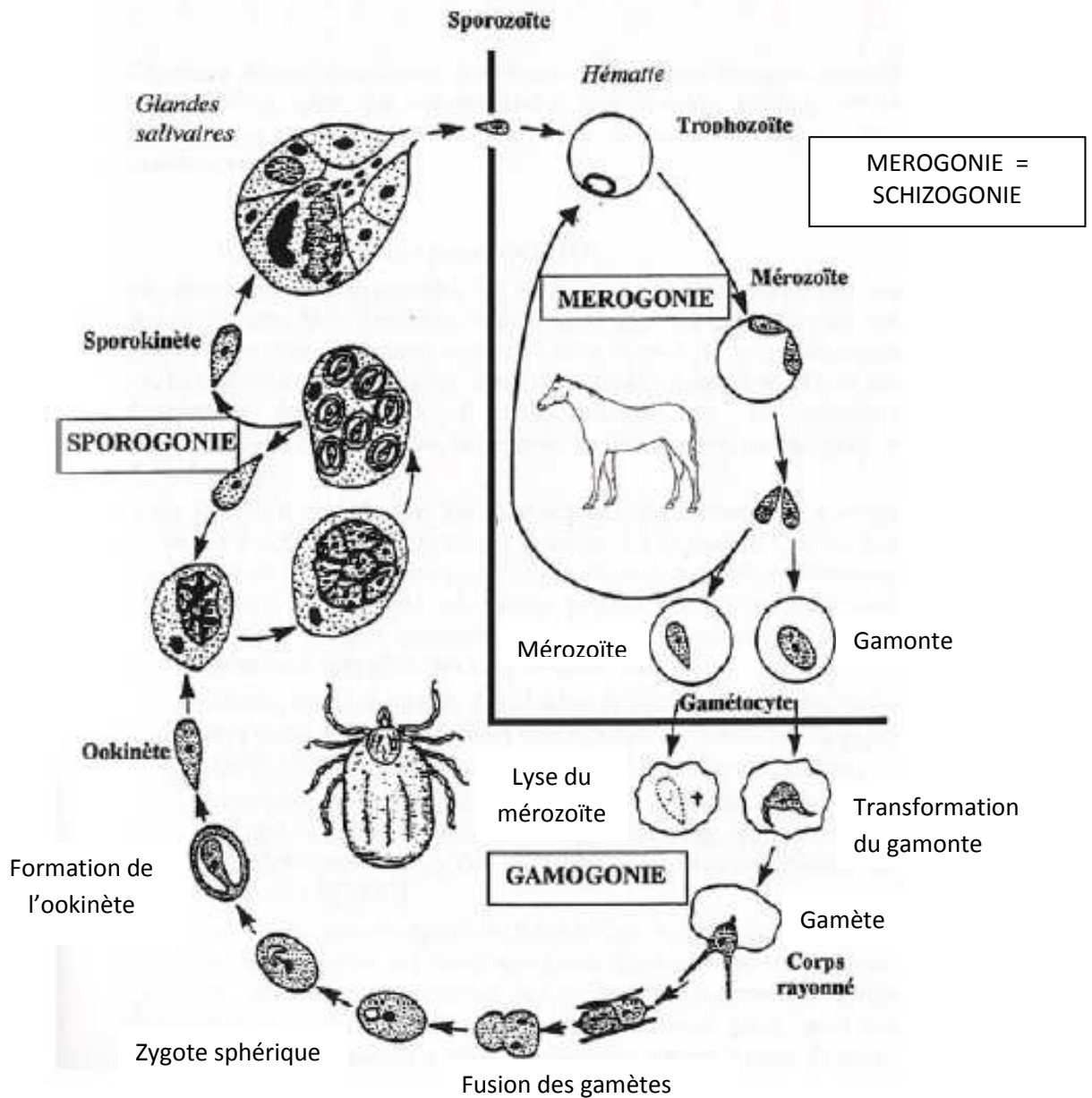
A l'intérieur de ce zygote apparaît une vacuole dans laquelle se forme un élément en massue ou ookinète. Celui-ci quitte alors la cellule épithéliale et va pénétrer dans une nouvelle cellule. L'ookinète peut infecter tous les tissus : hémocyte, hémolymphocyte, cellule de l'épithélium de Malpigi, fibre musculaire, ovocyte notamment à l'exception des cellules dans glandes salivaires. Lorsque

l'ookinète a infecté un nouveau tissu, une phase de multiplication donne naissance à des sporokinètes qui vont rester quiescent. Cette étape est appelée la sporogonie.

Les sporokinètes présents dans les ovocytes seront transmis aux larves et nymphes de la génération suivante, c'est la transmission transovarienne de *Babesia caballi*. Battsetseg et al ont démontré la présence d'ADN de *Babesia caballi* dans les œufs et les larves de *Dermacentor nuttali* en Mongolie [79]. La transmission transovarienne ne se réalise pas pour toutes les espèces de tiques. Les sporokinètes se transmettent aussi de la larve à la nymphe et de la nymphe à l'adulte. C'est la transmission transtadiale de *Babesia caballi*.

Lorsqu'une larve, nymphe ou tique de la génération suivante se fixe sur un équidé, les sporokinètes quiescents se réveillent et envahissent des cellules des acini des glandes salivaires. Chaque sporokinète devient un volumineux sporonte dans lequel se forment des milliers de petits sporozoïtes.

Ces sporozoïtes seront infectants pour le cheval après quelques jours de fixation ; ils sont alors inoculés avec la salive.



**Figure 7 : Cycle évolutif de *Babesia Caballi* [124]**

Les deux modes de transmission du parasite chez la tique (transovarienne et transtasiale) permettent au piroplasma de persister chez la tique de génération en génération et toute sa vie avec transmission d'un stade à l'autre (larve, nymphe adulte). La tique est donc le réservoir majeur de *Babesia caballi*. La transmission transovarienne est caractéristique de *Babesia caballi*.

Le cheval peut aussi être un réservoir de *Babesia caballi* dans une moindre mesure. En effet la multiplication asexuée peut se poursuivre indéfiniment jusqu'à la mort de l'hôte ou jusqu'à stérilisation par le système immunitaire. Les chevaux infectés peuvent rester porteurs de *Babesia caballi* jusqu'à 4 ans.

## 2. Cycle évolutif de *Theileria equi* [10 ; 35 ; 99 ; 121 ; 122 ; 124]

### a. Cycle évolutif chez le cheval : schizogonie

#### a.1) Phase lymphocytaire

L'infection chez le cheval débute lorsque qu'une tique dure parasitée de la famille des Ixodidae se nourrit sur un hôte équin naïf. La tique inocule des sporozoïtes directement dans le sang du cheval lors de son repas sanguin par l'intermédiaire de sa salive. Les sporozoïtes pénètrent ensuite très rapidement dans les lymphocytes. *Theileria equi* possède une phase d'infection pré-érythrocytaire dans les lymphocytes contrairement à *Babesia caballi*.

Dans les lymphocytes, le sporozoïte augmente de volume et subit des divisions répétées du noyau donnant un macroschizonte. Les lymphocytes infectés, stimulés par la présence des parasites, entreprennent des divisions ininterrompues (dédiérenciation en cellules « lymphoblastoïdes »), accompagnées de divisions synchrones du schizonte.

Ces lymphocytes vont passer dans les nœuds lymphatiques drainant la région de la morsure environ deux semaines après inoculation, puis dans le foie et la rate.

Les macroschizontes se transforment ensuite en microschantes, ce phénomène provoque la rupture des lymphocytes hyperplasiés qui vont alors libérer des centaines de micromérozoïtes piriformes de 1.5-2 µm de long dans le plasma sanguin.

#### a.2) Phase érythrocytaire

Les micromérozoïtes pénètrent alors dans les hématies du cheval et se multiplient par bourgeonnement en deux cellules filles de forme piriforme de 2-3 µm de long, appelée mérozoïtes. Le plus souvent la bipartition est suivie d'une destruction de l'hématie et de la libération des mérozoïtes dans le plasma sanguin. La multiplication asexuée au sein des érythrocytes donne naissance à quatre mérozoïtes piriformes, d'environ 2µm de long, associés en tétrade ou « croix de malte » ; forme caractéristique de *Theileria equi*.

Suite à cette phase de multiplication asexuée, il y a rupture de la membrane des hématies et les mérozoïtes sont libérés dans la circulation sanguine et infectent d'autres globules rouges ; la réplication se poursuit. Si le mérozoïte reste libre dans le plasma, il peut dégénérer ou être phagocyté par les leucocytes du cheval. Certains mérozoïtes deviennent parfois sphériques et prennent des formes en anneaux ; ils sont considérés comme étant des gamontes (ou gamétocytes).

La multiplication asexuée peut se poursuivre indéfiniment jusqu'à la mort du cheval ou l'élimination du parasite par le système immunitaire.

Les globules rouges infectés de l'équidé sont ensuite ingérés par une autre tique lors d'un repas sanguin.

### b. Cycle évolutif chez la tique : Gamogonie et Sporogonie

Lorsque qu'une larve ou une nymphe se nourrit sur un équidé infecté, il y a digestion et destruction dans la lumière intestinale des globules rouges, des trophozoïtes et des mérozoïtes.

Les gamontes présumés sont les seuls à survivre. Certains se transforment dans la lumière intestinale en corps rayonnés. Chaque corps rayonné donne ensuite plusieurs microgamètes. D'autres gamontes donnent directement un macrogamète chacun.

Il y a ensuite fécondation d'un microgamète avec un macrogamète à l'intérieur d'une cellule de l'épithélium intestinal ce qui forme un zygote. Dans une vacuole du zygote bourgeonne un kinète, en forme de massue.

Après mue de la larve ou de la lympe au stade supérieur et fixation sur un nouvel équidé, les kinètes passent dans l'hémolymphe et migrent exclusivement dans le cytoplasme des cellules des acini de type III des glandes salivaires. Dans ces cellules, ils forment des sporontes puis des sporoblastes qui vont produire une grande quantité de sporozoïtes infectants qui seront inoculés par le biais de la salive de la tique à l'équidé.

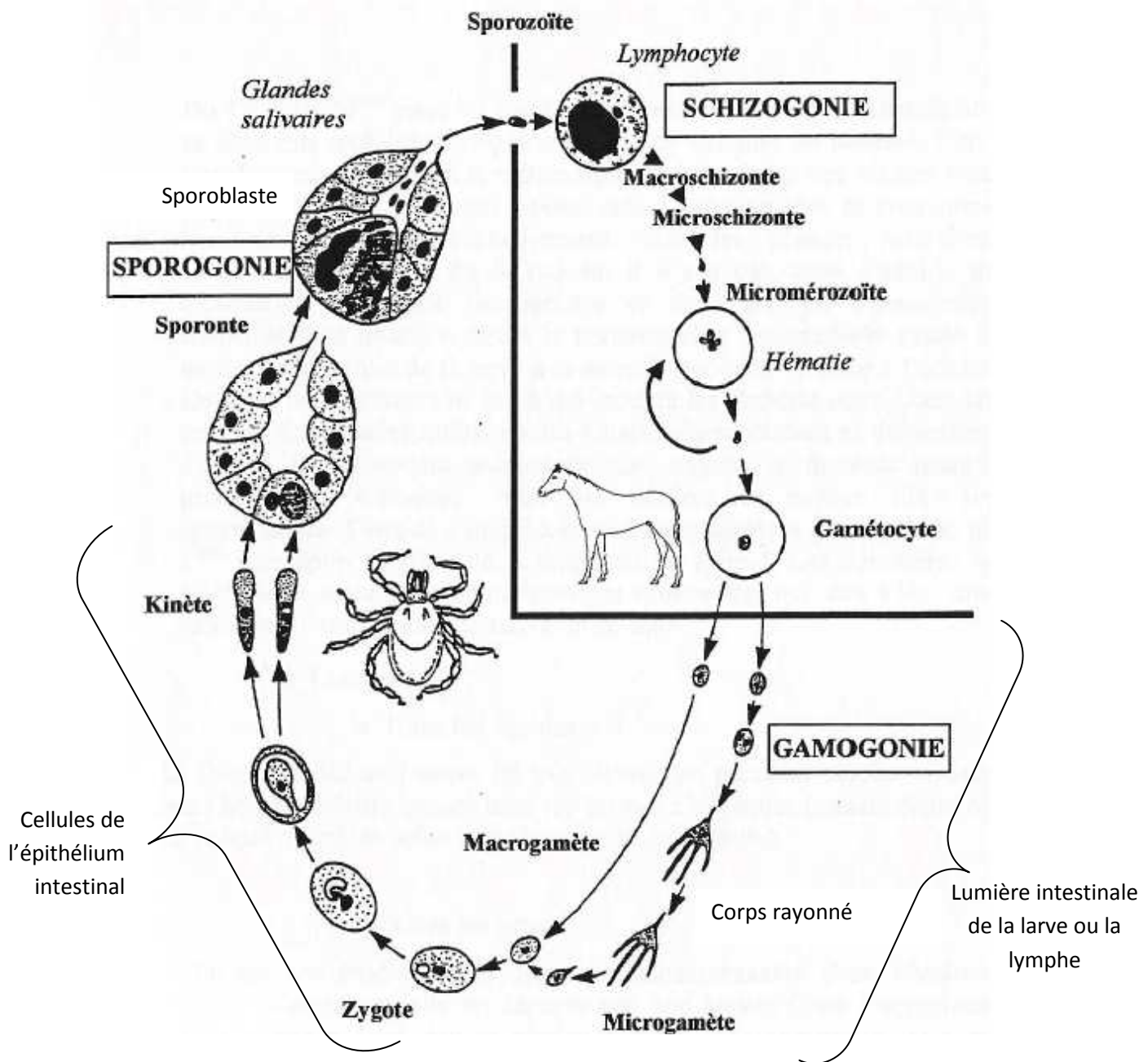


Figure 8 : Cycle évolutif de *Theileria equi* [124]



La transmission de *Theileria equi* est uniquement transtadiale. Il y a transmission des piroplasmies de la larve à la nymphe et de la nymphe à l'adulte. Le parasite n'infecte pas les ovocytes contrairement à *Babesia caballi*. Il n'y a donc pas de transmission d'un adulte de génération n à une larve de génération n + 1. L'infection et la transmission du parasite se font donc au cours d'une même génération mais à des stades différents.

Contrairement à *Babesia caballi*, c'est donc l'équidé qui est le réservoir principal de *Theileria equi*. La longévité des schizontes est très élevée dans les lymphocytes. Ces lymphocytes peuvent migrer vers le foie et la rate ; ils ne sont pas atteints lors des traitements piroplasmicides et se « cachent » du système immunitaire de l'hôte vertébré. On considère qu'un cheval infecté par *Theileria equi*, reste porteur pendant de nombreuses années, voire à vie.

Une étude menée par Pitel et al [11] rapporte la détection par PCR de *Babesia caballi* et *Theileria equi* dans la moelle osseuse de trois chevaux cliniquement sains. Ils suggèrent alors la moelle osseuse comme un site potentiel réservoir des parasites. Par contre on ne sait pas encore expliquer comment les parasites se sont retrouvés dans la moelle osseuse.

Bien que *Babesia caballi* et *Theileria equi* soient des protozoaires très semblables, plusieurs caractéristiques les différencient. Elles sont résumées dans le tableau suivant.

**Tableau 2 : Tableau récapitulatif des différences entre *Babesia caballi* et *Theileria equi*.**

	<b>Babesia caballi</b>	<b>Theileria equi</b>
<b>Taille</b>	Grande Babésie 2-5 µm	Petite Babésie 2-3 µm
<b>Forme Caractéristique</b>	Forme Bigéminée	Forme en « croix de malte »
<b>Site infection chez l'équidé</b>	Exclusivement érythrocytaire	Infection des lymphocytes puis des érythrocytes
<b>Site de migration du kinète chez la tique</b>	Epithélium de Malpigi / fibres musculaires / ovocytes Cellules des glandes salivaires à la génération suivante	Cellules des acini de type III des glandes salivaires exclusivement
<b>Transmission chez la tique</b>	Transmission transovarienne Transmission transtadiale	Transmission uniquement transtadiale
<b>Réservoir du parasite</b>	La tique +++ L'équidé +	L'équidé +++
<b>Persistance de l'infection</b>	Jusqu'à 4 ans	Plusieurs années ou à vie

La transmission de *Babesia caballi* ou *Theileria equi* d'équidé en équidé se fait par l'intermédiaire obligatoire d'une tique de la famille des Ixodidés. Le réservoir de ces parasites est entretenu par le couple tique-équidé.

## C. Les vecteurs : les tiques

Nous nous intéresserons dans cette partie uniquement aux tiques dure de la famille des Ixodidés qui sont les vecteurs impliqués dans la transmission des piroplasmés.

### 1. Morphologie et taxinomie [125]

Les tiques dures sont une famille de grande taille, elles peuvent mesurer jusqu'à 1 cm et sont les seules de l'ordre des acariens étant visible à l'œil nu. Elles possèdent des pattes réunies en un seul groupe antérieur et des stigmates qui sont en arrière des quatre paires de pattes. Leur rostre se situe en position terminale. On les appelle tiques dures par la présence d'un écusson dorsal ou scutum dur, d'origine chitineuse.

L'écusson dorsal permet de différencier les mâles et les femelles. Chez le mâle, il recouvre la totalité de l'idiosome. Chez la femelle il ne recouvre qu'une partie de l'idiosome ; le corps de la femelle est très extensible et permet le stockage des œufs ou de sang lors d'un repas sanguin. On a un dimorphisme marqué chez les Ixodidés

Pour différencier les différents genres de tiques dures, de nombreux critères d'identification morphologique existent :

- Forme et longueur du rostre
- Position du sillon anal par rapport à l'anus
- Forme du capitulum : hexagonal ou rectangulaire
- Forme des stigmates
- Présence de soies sensorielles
- Présence d'ocelle

La taxonomie des tiques dures impliquées dans la transmission de *Babesia caballi* et *Theileria equi* est résumée dans le tableau suivant :

**Tableau 3 : Taxonomie des tiques impliquées dans la transmission des piroplasmés**

<b>EMBRANCHEMENT</b>	Arthropodes		
<b>SOUS EMBRANCHEMENT</b>	Chélicérates		
<b>CLASSE</b>	Arachnides		
<b>SOUS CLASSE</b>	Hologastres		
<b>SOUS ORDRE</b>	Ixodoïdea		
<b>ORDRE</b>	Acariens		
<b>FAMILLE</b>	Ixodidés		
<b>GENRE (impliqué dans la transmission des piroplasmés)</b>	<i>Hyalomma</i> <i>Amblyomma</i>	<i>Dermacentor</i>	<i>Rhipicephalus</i> <i>Boophilus</i>

## 2. Nutrition [125].

Les tiques dures sont des parasites hématophages ; il y a un seul repas sanguin par stade (nymphe, larve, adulte). La femelle fécondée est très hématophage ; un repas important est nécessaire pour la ponte. La larve, la nymphe, les mâles et les femelles non fécondées sont peu hématophage et ont un gonflement réduit de leur abdomen.

Une fois sur la peau ; la tique sécrète de la salive qui va permettre la digestion des tissus et l'enfoncement de ses chélicères. Lorsque la tique est parasitée par *Theileria equi* ou *Babesia caballi*, c'est par sa salive qu'elle contamine le sang de l'équidé car celle-ci contient la forme sporozoïte des piroplasmes.

On a d'abord une phase d'ingestion lente de sang puis une phase rapide. Le gorgement de la tique est progressif sur plusieurs jours, avec formation d'un lac sanguin, où la tique pompe du sang mêlé de lymphe.

Lorsque que la tique a terminé son repas, elle se détache et retourne dans le milieu extérieur.

## 3. Cycle évolutif [125].

Une tique dure possède 4 stades de développement successifs : œuf, larve, nymphe et adulte. On a en général chez les tiques qui transmettent la piroplasmose, un cycle diphasique ou triphasique.

Un cycle triphasique signifie que chaque stade de développement est réalisé sur un hôte différent ; la tique retourne dans le milieu extérieur entre chaque stade et un repas de sang est nécessaire pour passer au stade supérieur. Lors d'un cycle diphasique, la larve et la nymphe se développent sur un premier hôte et l'adulte se développe sur un deuxième hôte avec un retour dans le milieu extérieur entre le stade nymphe et adulte.

Une tique adulte femelle est fécondée par une tique adulte mâle soit sur l'hôte soit dans le milieu extérieur. La femelle peut alors produire des œufs qu'elle stocke dans son abdomen. Elle va ensuite pondre sur le sol et un nouveau cycle peut recommencer. La ponte entraîne la mort de la femelle.

La durée des cycles est variable selon le genre de la tique. Par exemple *Boophilus* a un cycle très court de quelques semaines et *Dermacentor* a un cycle plus long, de plusieurs mois.

## 4. Pouvoir pathogène

La tique possède un pouvoir pathogène direct. Elle provoque des plaies, de la douleur, du prurit, peuvent favoriser d'autres infection, il y a une spoliation sanguine et elle possède une action toxique (paralyse à tiques et dyshidrose tropicale).

La tique possède aussi un pouvoir pathogène indirect sur lequel on va s'attarder un peu plus ; c'est de loin le pouvoir pathogène le plus important de la tique et celui impliqué lors de piroplasmose. La tique ingère puis transmet des agents pathogènes d'un sujet malade ou porteur à un sujet sain de la même espèce ou non.

Les tiques sont les vecteurs biologiques les plus efficaces des pathogènes des vertébrés. Aucun autre groupe d'arthropodes n'a montré un potentiel comparable dans la dissémination et le maintien d'un agent pathogène [124]. Une longue association évolutive est soupçonnée entre la tique vectrice, le parasite protozoaire et le mammifère hôte.

Nous nous intéresserons par la suite au pouvoir pathogène indirect de la tique en ce qui concerne la piroplasmose équine. La tique dure est impliquée dans la multiplication, le transport, la transmission et le maintien de *Babesia caballi* et *Theileria equi*. On retrouve dans le monde plus de quinze espèces de tiques impliquées dans la transmission des piroplasmes équins dans le monde (tableau 4) [35].

**Tableau 4 : Tiques vectrices de piroplasmose équine et leur distribution dans le monde [35].**

Tick Vector	Country	Pathogen(s)
<i>Boophilus microplus</i>	Caribbean, Central and South America, Africa, Australia, Asia	<i>T. equi</i>
<i>Dermacentor albipictus</i> (experimental)	United States	<i>B. caballi</i>
<i>D. marginatus</i>	Russia, Germany	<i>B. caballi</i> , <i>T. equi</i>
<i>D. nitens</i>	North, Central, and South America	<i>B. caballi</i>
<i>D. nuttalli</i>	Mongolia, China	<i>B. caballi</i> , <i>T. equi</i>
<i>D. pictus</i>	Russia	<i>B. caballi</i> , <i>T. equi</i>
<i>D. silvarum</i>	Russia, Ukraine	<i>B. caballi</i>
<i>D. variabilis</i> (experimental)	United States	<i>B. caballi</i> , <i>T. equi</i>
<i>D. reticulatus</i>	Europe	<i>B. caballi</i>
<i>Hyalomma anatolicum</i>	Greece	<i>B. caballi</i> , <i>B. equi</i>
<i>H. dromedarii</i>	Africa	<i>B. caballi</i> , <i>T. equi</i>
<i>H. longicornis</i> (experimental)	Asia, Australia	<i>B. caballi</i> (experimental)
<i>H. marginatum</i>	Greece	<i>B. caballi</i> , <i>T. equi</i>
<i>H. truncatum</i>	Africa, Asia, Saudi Arabia, Yemen	<i>B. caballi</i>
<i>H. uralense</i>	Asia	<i>T. equi</i>
<i>H. volgense</i>	Ukraine	<i>B. caballi</i>
<i>Rhipicephalus bursa</i>	Bulgaria	<i>B. caballi</i> , <i>T. equi</i>
<i>R. evertsi evertsi</i>	Africa	<i>B. caballi</i> , <i>T. equi</i>
<i>R. evertsi mimeticus</i>	Africa	<i>T. equi</i>
<i>R. pulchellus</i>	Africa	<i>T. equi</i>
<i>R. sanguineus</i> or <i>turanicus</i>	Greece, Asia, Africa	<i>B. caballi</i> , <i>B. equi</i>

*Babesia* et *Theileria* partagent plusieurs tiques vectrices. On retrouve cinq genres pouvant transmettre *Theileria equi* et trois genres pouvant transmettre *Babesia caballi*. *Dermacentor*, *Hyalomma* et *Rhipicephalus* transmettent *Babesia* et *Theileria* [35 ; 124]. On a en plus les espèces *Boophilus microplus* [19 ; 36 ; 64 ; 67] et *Amblyomma cajenense* [45] qui peuvent transmettre *Theileria equi*.

De part la transmission transovarienne et le rôle de réservoir des tiques transmettant *Babesia caballi*, la séroprévalence de ce protozoaire est un bon indicateur de la répartition de ses tiques vectrice dans une région donnée. Grâce à la succession de la transmission transovarienne et transtadiale, au bout de n générations, le nombre de parasites produit est astronomique. Il n'est pas rare de rencontrer des foyers d'agents pathogènes à côtés de zones exemptes. On parle de fôret ou de pâture à piroplasmes. Par exemple on peut rencontrer une pâture où les chevaux introduits déclarent souvent une piroplasmose à proximité d'une deuxième pâture ou les chevaux introduits n'ont jamais déclaré de piroplasmose.

La tique *Rhipicephalus sanguineus* est généralement monoxène pour les chiens, c'est-à-dire que le chien est son hôte préférentiel. Mais il arrive que cette tique soit rencontrée chez des chevaux et elle a été impliquée dans la transmission des piroplasmes en Grèce [75]. Il faut donc faire attention aux chiens dans les structures équestres qui peuvent amener des tiques capables de transmettre *Babesia caballi* et *Theileria equi* mais aussi *Babesia canis* (importance moindre) aux équidés.

Bien que les tiques jouent un rôle indispensable dans la transmission et le maintien des parasites, il a été reporté d'autres modes de transmission des piroplasmes qui sont pour certains beaucoup plus anecdotiques.

## **D. Autre modes de transmission**

### **1. Transmission transplacentaire**

L'infection chronique chez les juments gestantes présente un risque d'infection transplacentaire au fœtus. Cette infection intra-utérine du fœtus peut entraîner des avortements, des poulains morts nés ou la naissance de poulains malades qui développent une piroplasmose néonatale [10]. Une étude d'Allsopp et al [44] a montré que la naissance de poulains porteurs de *Theileria equi* et cliniquement sains existait aussi. L'issue d'une transmission transplacentaire dépend du nombre de parasites infectant le fœtus. Dans les cas d'avortements et de poulains mort nés, une parasitémie de plus de 50% est fréquemment observée [42 ; 55].

Bien qu'il ait été prouvé que *Theileria equi* peut subir une transmission transplacentaire chez la jument gestante, aucune preuve fiable ou étude n'a permis à ce jour de confirmer la possibilité de passage de *Babesia caballi* de cette façon [44].

La gestation de juments positives à la PCR et à un test d'immunofluorescence indirecte pour *Theileria equi* a été suivie par Allsopp et al. Ils ont réalisés des PCR sur le fœtus après des avortements induits par des prostaglandines. La PCR *Theileria equi* est revenue positive sur les avortons ; ce qui prouve le passage transplacentaire au fœtus du parasite [44].

Il avait été suggéré que la transmission transplacentaire avait lieu lorsque la placentation était anormale [56 ; 57] mais Allsopp et al émettent une autre hypothèse fortement plausible dans leur étude [44]. L'infection aurait lieu précocement au cours du développement fœtal entre le 40<sup>ème</sup> et le 150<sup>ème</sup> jour de gestation à travers un placenta normal. En effet, à ce moment là l'embryon se nourrit de sécrétions des glandes utérines, de cellules épithéliales desquamées et de globules rouges provenant du sang de la mère. Les érythrocytes maternels servent alors de chemin de passage pour *Theileria equi* à travers le placenta. Un passage transplacentaire de *Babesia caballi* pourrait logiquement avoir lieu de la même manière.

Si le mécanisme suggéré est correct il serait alors impossible d'empêcher l'infection *in utero*.

Le fœtus ne produit pas d'anticorps anti-*Theileria equi in utero* malgré la présence du parasite dans son sang. Le sang du poulain nouveau né devient sérologiquement positif aux anticorps anti-*Theileria equi* uniquement après l'ingestion de colostrum maternel. Ce dernier ne permet pas d'éliminer complètement le parasite du sang du poulain mais permet par contre de limiter le niveau de parasitémie du poulain ce qui permet le développement d'un état stable entre l'hôte et le parasite.

De plus, l'infection précoce du parasite au cours du développement fœtal a lieu bien avant que le système immunitaire du poulain n'ait la capacité de reconnaître le parasite comme faisant partie du non soi et ce dernier va donc être reconnu comme du soi [44].

La transmission transplacentaire du parasite et la naissance de poulains porteurs sains jouent un rôle dans le maintien et la transmission de *Theileria equi*. Ces poulains jouent le rôle de nouveaux réservoirs pour *Theileria equi*.

## 2. Transmission iatrogène

*Theileria equi* ou *Babesia caballi* peuvent être transmis iatrogéniquement par le biais d'aiguilles ou d'instruments de chirurgie contaminés. Une transfusion avec du sang contaminé par un des deux hémoparasites peut aussi être à l'origine de l'infection d'un cheval sain. L'utilisation d'objets qui ont été en contact avec le sang du cheval et qui n'ont pas été correctement stérilisés derrière peuvent aussi être une source de contamination (p. ex., tubes naso gastriques et instruments dentaires) [35].

En Australie, des chevaux infectés ont été importés d'Espagne en 1976. Il n'existe pas en Australie de tique vectrice compatible avec le parasite. Pourtant des chevaux australiens non importés ont développé des signes cliniques de la maladie. Après une enquête épidémiologique, l'utilisation d'aiguilles contaminées sur les chevaux importés puis sur les chevaux australiens a été mise en cause [25 ; 26].

La résurgence de la piroplasmose en Floride en 2008 a aussi été attribuée à l'utilisation de seringues et d'aiguilles contaminées [37 ; 43].

## 3. Transmission par des diptères hémathophages ?

Il n'existe pas de preuves concernant la capacité de diptères hémathophages tel que les tabanidés ou *Stomoxys calcitrans* (mouche d'écurie) à transmettre *Babesia caballi* ou *Theileria equi* [35 ; 124]. Une transmission mécanique a été envisagée par les biais de l'appareil piqueur de ces diptères.

## 4. Transmission par le sperme

Il n'existe aucune preuve à ce jour de la transmission du parasite par le sperme [10]. Un risque de transmission vénérienne a été évoqué si le sperme est contaminé par du sang d'un cheval porteur de piroplasmes. C'est là que le manipulateur joue un rôle important lors de la préparation et la réception du sperme [90].

Le risque de contamination est augmenté avec la multiplication du transport du sperme internationalement ces dernières années.

## 5. Transmission à d'autres espèces

Bien que certaines souches de *Theileria equi* ont été impliqués dans de rare cas humain, il n'y a aucune étude qui confirme une possible infection humaine avec *Babesia caballi* ou *Theileria equi*.

Les espèces de Babésies qui sont connues pour être transmissibles chez l'humain sont *Babesia bovis*, *Babesia divergens* (provoquant une forme très agressive de la maladie), *Babesia canis* et *Babesia microti*.

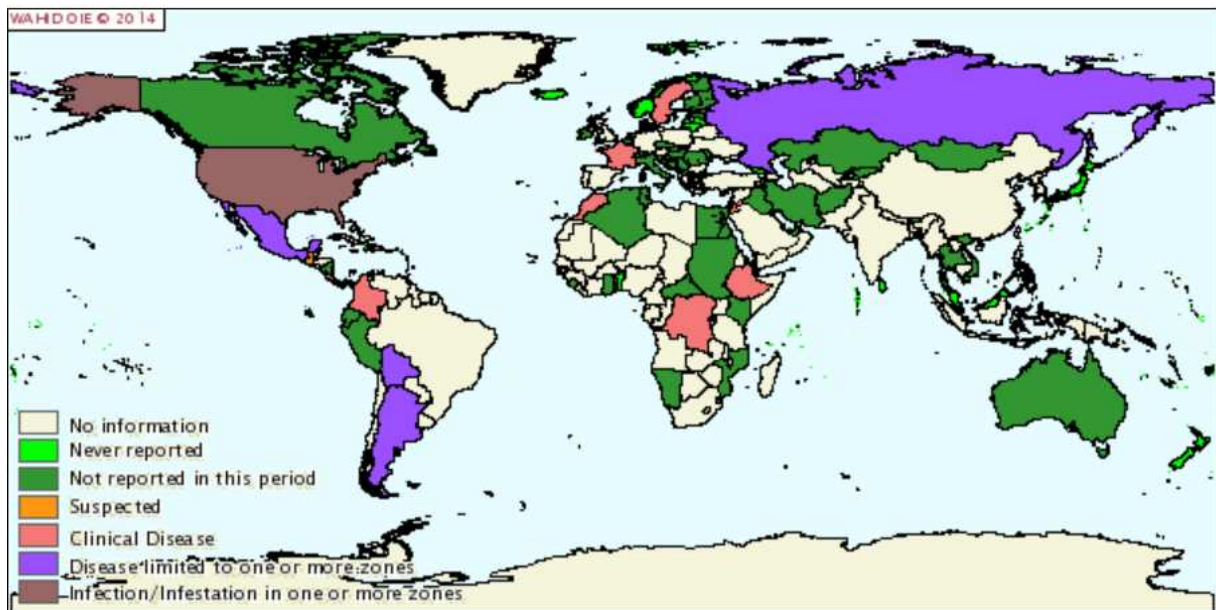
La transmission entre espèces peut se faire soit par le biais de matériel souillé, tel que des aiguilles ou des poches de transfusions contaminées ; soit par l'intermédiaire de tiques Ixodidés [35].

Après s'être attardé sur l'étiologie de cette maladie aux nombreuses répercussions médicales et économiques, nous allons maintenant nous intéresser à l'épidémiologie de la piroplasmose équine en étudiant la répartition et la fréquence de cette pathologie en France et dans le monde.

## II. EPIDEMIOLOGIE

La piroplasmose est présente dans la plupart des pays du monde. Peu de pays sont indemnes d'infection autochtone. Il a été estimé que seulement 10% des chevaux du monde vivent dans des régions considérées comme indemnes de piroplasmose [35]. La piroplasmose appartient aux maladies notifiables à l'OIE.

La prévalence mondiale des piroplasmoses équine est plutôt en accord avec la distribution mondiale des tiques vectrices de la maladie. La plupart des pays du monde sont endémiques pour la piroplasmose même si certains pays restent encore aujourd'hui considérés comme non endémiques. La figure 9 représente la dernière mise à jour de l'OIE (Organisation Mondiale de la Santé Animale) sur le statut de la piroplasmose dans le monde.



**Figure 9 :** Distribution de la piroplasmose équine entre juillet et décembre 2013 dans le monde [114]

### A. Régions non endémiques selon l'OIE [10 ; 35]

#### 1. Pays considérés comme non endémiques :

Parmi les pays ou régions considérés comme non endémiques pour la piroplasmose selon l'OIE, on retrouve : les Etats-Unis, le Canada, l'Islande, la Grande Bretagne, le Groenland, le nord de l'Europe, l'Irlande, la région de Singapour, le Japon, la Nouvelle-Zélande et l'Australie [10 ; 35].

Plusieurs régions actuellement non endémiques de piroplasmose sont compatibles climatiquement avec le développement de tiques vectrices ou possèdent déjà des tiques vectrices. Il y a par conséquent un risque d'introduction de *Theileria equi* et *Babesia caballi* par le biais de chevaux ou de tiques infectés.

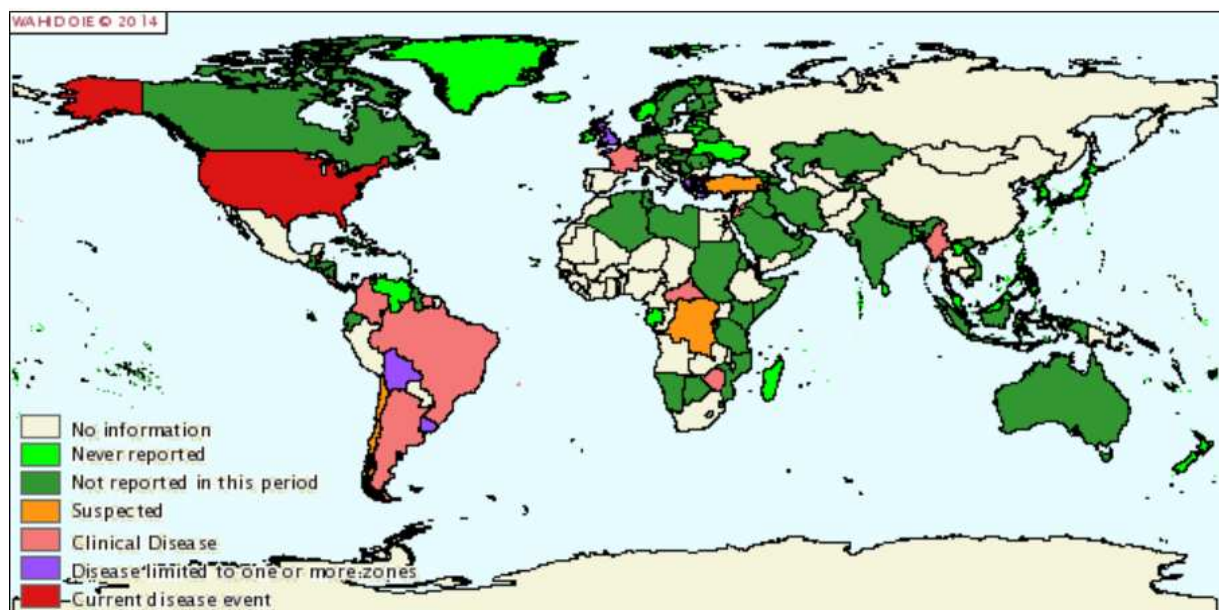
L'évolution de la maladie étant très dynamique, des mises à jour sont disponibles sur le site internet de l'OIE. [<http://www.oie.int/wahis/public.php?page=home> ; 114]

## 2. Un statut en péril pour certains pays

Les statuts de ces pays considérés comme indemnes sont remis en question lors d'apparition d'épisodes de la maladie.

### a. Aux Etats-Unis :

En ce qui concerne les Etats-Unis, *Theileria equi* a été introduit aux Etats Unis en 1959 via des chevaux importés de Cuba [35]. Des épisodes rapidement circonscrits ont eu lieu en Floride en 1961 pour *Babesia caballi* et en 1965 pour *Theileria equi* [24]. La maladie n'a ensuite plus été reportée selon l'OIE jusqu'en juillet 2008 (figure 10) [114]. Mais depuis l'infection reste présente et son statut de pays indemne risque d'être remis en question.



**Figure 10 : Distribution de la piroplasmose équine au mois de Juillet 2008 dans le monde [114]**

En 2008, un Quarter Horse développa les signes cliniques de la maladie en Floride et une enquête épidémiologique fut mise en place [37]. En 2009, un jument développa aussi des signes cliniques dans un ranch au sud du Texas, une étude épidémiologique a permis de mettre en cause la tique *Amblyomma cajennense* [45].

Malgré ces épisodes, les Etats Unis considèrent la piroplasmose comme une maladie exotique chez eux et des mesures de précautions importantes sont mises en place. Chaque cheval entrant aux Etats-Unis doit subir un test sérologique (cELISA ou IFI) pour les deux agents étiologiques de la piroplasmose avant son entrée sur le territoire américain.

Quand des chevaux infectés sont détectés, c'est l'élimination de l'infection qui prime. Les services vétérinaires américains préconisent des mesures à mettre en place lors de la découverte d'un cheval infecté aux Etats-Unis. Il y a trois mesures possibles : (1) Quarantaine permanente (pour des études) (2) Exportation de l'équidé atteint ou (3) euthanasie [48]. Les moyens importants mis en œuvre permettent sûrement de limiter la propagation de la maladie et de la contenir au Sud du pays, où des réémergences sont possibles en vu notamment de la proximité avec le Mexique qui est un pays endémique.



b. En Australie :

En ce qui concerne l'Australie, *Theileria equi* a été introduit en 1976 lors de l'importation de chevaux en provenance d'Espagne. Le parasite ne s'est pas répandu et aucun autre épisode de piroplasmose n'a été reporté depuis dans le pays. L'absence de tique vectrice en Australie n'a pas permis la propagation du parasite [24 ; 25 ; 26 ; 114].

c. En Europe :

En ce qui concerne la Grande Bretagne, selon les données de l'OIE de 2005 à fin 2013, la maladie n'a pas été reportée de 2005 à janvier 2008. Elle est ensuite restée présente ou suspecte de janvier 2008 à Décembre 2009 (figure 11). De janvier 2010 à fin juin 2011, la maladie n'a plus été reportée. En juillet 2011, des formes cliniques de la maladie sont réapparues [114].

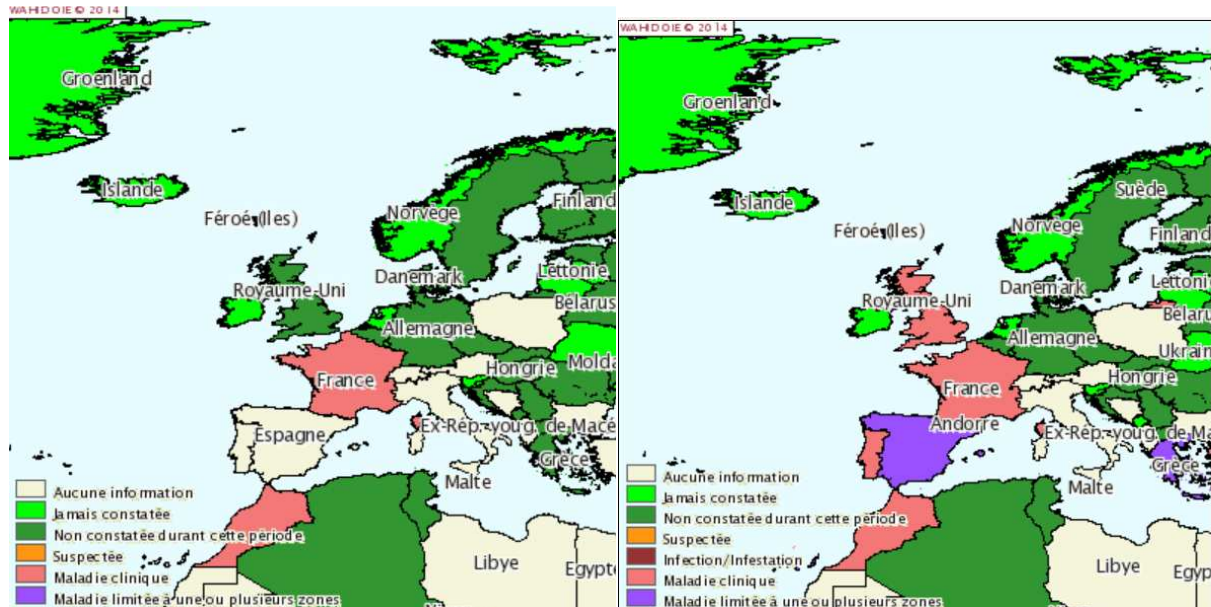


Figure 11 : Distribution de la piroplasmose équine au mois de Décembre 2007 (A gauche) et janvier 2008 (A droite) en Europe [114].

En ce qui concerne l'Irlande, la maladie n'avait jamais été reportée jusque fin mai 2009. La forme clinique de la maladie est apparue en juin 2009 et elle est restée présente ou suspectée jusque fin décembre 2009. Depuis janvier 2010, elle n'a plus été constatée en Irlande (figure 12) [114].

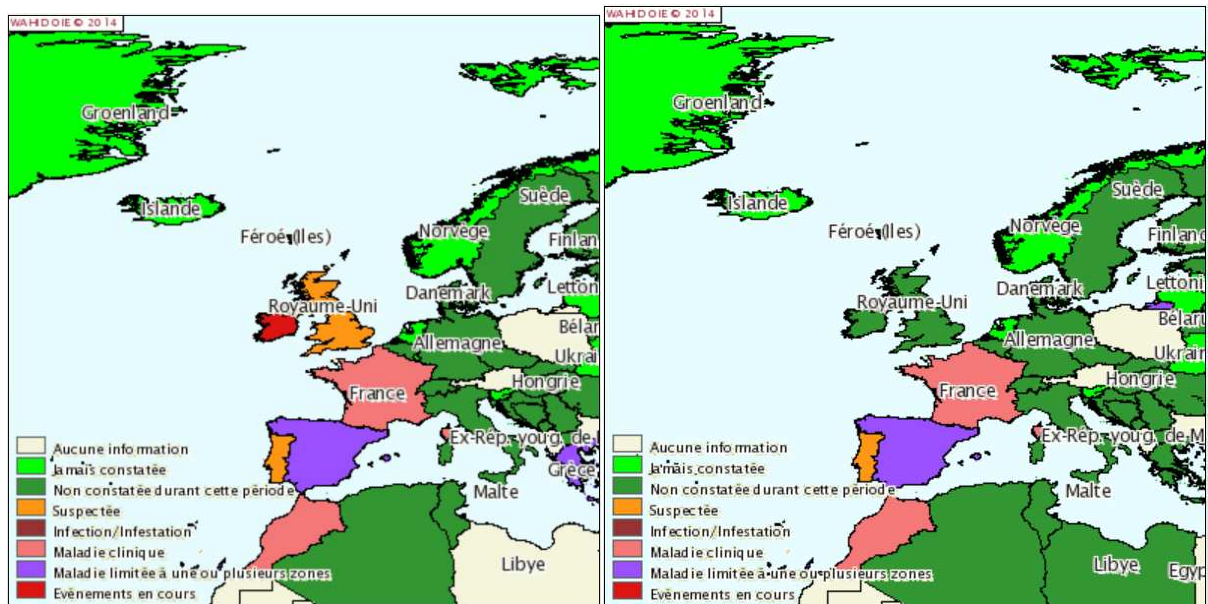


Figure 12 : Distribution de la piroplasmose équine au mois de Juin 2009 (A gauche) et janvier 2010 (A droite) en Europe [114].

d. Les pays « épargnés »

En ce qui concerne le Groenland, l'Islande, la région de Singapour, le Japon et la Nouvelle Zélande, la présence de piroplasmose n'a jamais été constatée (figure 13) [114].

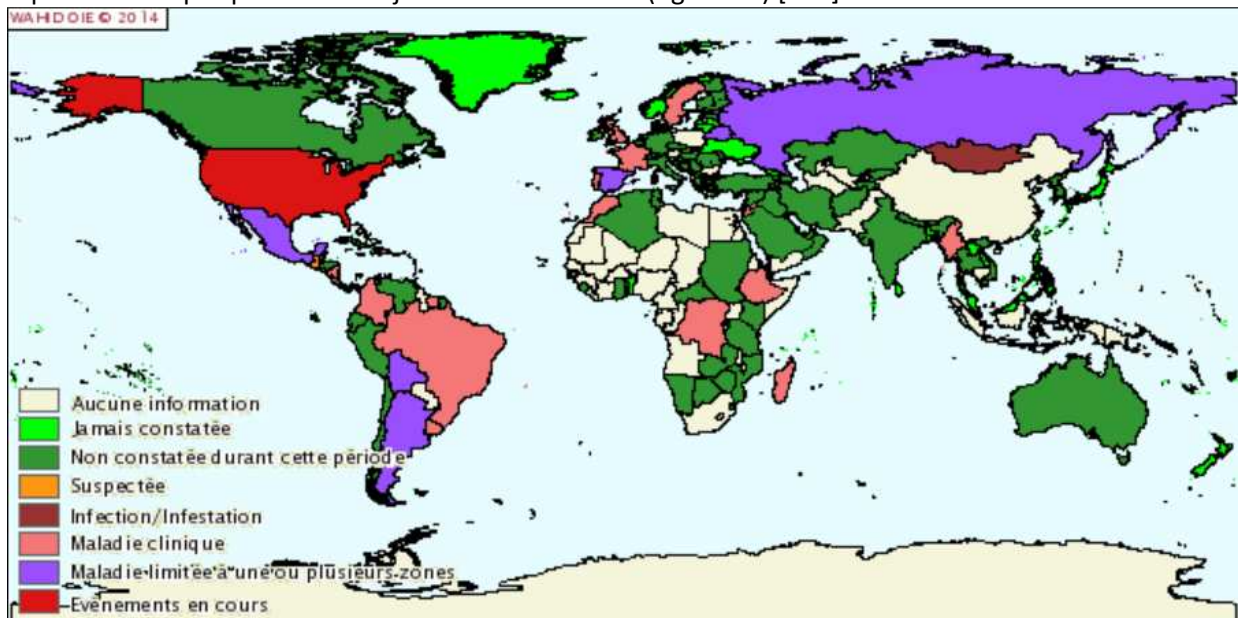


Figure 13 : Distribution de la piroplasmose équine entre le mois de juillet et le mois de décembre 2012 dans le monde [114]

## **B. Régions endémiques : régions tropicales et subtropicales**

*Theileria equi* et *Babesia caballi* sont endémiques dans les régions tropicales et subtropicales. On constate aussi que ces dernières années des régions avec un climat plus modéré peuvent être atteintes en concordance avec l'extension de tiques vectrices dans ces zones. La piroplasmose est endémique dans la plupart des pays d'Asie, d'Arabie, d'Amérique Latine, d'Afrique et d'Europe.

Les deux hémoparasites partagent dans certaines régions le même vecteur et sont étroitement associés. Cependant, les infections à *Theileria equi* prédominent la plupart du temps par rapport à *Babesia caballi*.

L'apparition de la maladie sous sa forme clinique aigüe est plus rare en région endémique. Elle est généralement observée lors d'introduction d'un équidé n'ayant jamais rencontré le parasite dans une zone endémique.

### **1. En Amérique Latine :**

*Theileria equi* et *Babesia caballi* sont fortement endémiques dans presque toute l'Amérique Latine à part le sud du Chili et de l'Argentine.

Au Brésil, presque tous les chevaux sont séropositifs à *Theileria equi* et/ou *Babesia caballi* et la prévalence peut atteindre 91% selon les études [16 ; 115]. A Trinidad, la prévalence est de 82.8% [17]. Au Venezuela, la prévalence est de 50.2% et *Babesia caballi* est plus présent que *Theileria equi*. Des études ont aussi montré une séroprévalence élevée pour la Colombie [116], le Mexique et Porto Rico [35].

### **2. En Europe :**

En Europe, on constate dans les différentes études que la prévalence de *Theileria equi* est supérieure à celle de *Babesia caballi* [2 ; 69 ; 73 ; 75 ; 76 ; 85] sauf pour les Pays Bas où la prévalence de *Babesia caballi* était supérieure dans l'étude de Butler *et al* [71].

Le sud de l'Europe a une prévalence élevée notamment en Espagne, au Portugal, en Italie et dans le sud de la France. En Italie, sur 44 chevaux suspectés de piroplasmose, 38 se révélèrent PCR positive pour un des deux hémoparasites [2]. La prévalence en Espagne est de 53.3% [76].

En France, une thèse réalisée par Le Matayer [135] rapporte une prévalence de 18.92 % dont 13,78% de sérums équins positifs envers *Theileria equi* et 9,24 % de positifs envers *Babesia caballi*. L'étude a été réalisée sur 18 464 sérums envoyés à l'AFSSA d'Alfort entre 1997 et 2005 pour recherche de piroplasmose par la technique de fixation du complément. Cette thèse rapporte aussi une prévalence supérieure à 20 % dans le sud de la France ce qui est en accord avec l'étude de A. Leblond [85] qui a mis en évidence, dans la région de la Camargue, une prévalence de 64.4% pour *Theileria equi* et une prévalence de 19.7% pour *Babesia caballi*. Une étude encore plus récente réalisée par C. Daix en collaboration avec le RESPE et le laboratoire Frank Duncombe sur des chevaux présentant des signes cliniques de piroplasmose rapporte une séroprévalence (recherche d'anticorps) de 34.19% et une prévalence (analyse PCR) de 33.9% sur les prélèvements envoyés au Laboratoire Frank Duncombe entre 2011 et 2012 [136].

Le Nord et l'Est de l'Europe présentent des prévalences plus faibles pour la piroplasmose. La Grèce a une prévalence de 11.6% d'après l'étude de Kouam *et al* [75] et la séroprévalence est plus

importante chez les chevaux autochtones que chez les chevaux importés, la piroplasmose est une épizootie en Grèce. En Suisse, la prévalence est de 7.3% d'après l'étude de Sigg *et al* [73] et la piroplasmose est surtout détectée chez des chevaux importés de France, d'Espagne et du Portugal. En Belgique une étude rétrospective réalisée à la faculté de médecine vétérinaire de Liège entre 1999 et 2004 a permis de répertorier 16 cas de piroplasmose en Belgique [69]. Aux Pays Bas la prévalence est faible (4%) [71].

### 3. En Afrique et en Asie

En Afrique et en Asie on trouve moins d'études épidémiologiques, probablement du au coût engendré par ces études. Il ne semble pas y avoir dans ces régions, un protozoaire majoritaire mais la prévalence de la piroplasmose semble globalement assez élevée.

Le Maroc, l'Afrique du Sud et Madagascar et la majorité des autres pays du continent Africain sont considéré comme endémiques [35].

Au moyen orient, des taux d'infections élevés ont été constatés, notamment au Koweït et en Oman [35]. Une étude de Salim *et al* [72] met en évidence la présence de la piroplasmose dans toutes les régions du Soudan avec une prévalence de 35.95% et une absence de *Babesia caballi*. La piroplasmose a entraîné aussi la mort de deux juments de course en Jordanie [1].

En Turquie dans la région de la mer noire, la prévalence est de 67.85% pour la piroplasmose mais c'est *Babesia caballi* qui est le plus présent.

En Chine et en Mongolie, la piroplasmose est largement répandue avec des séroprévalences respectives de 48.57% et 82.28% *B. caballi* et *T. equi* [74 ; 70].

L'étude de Seo *et al* [77] a permis de mettre en évidence pour la première fois la présence de la piroplasmose en Corée du sud. Il n'y a pas eu de forme clinique déclarée mais la tique vectrice existe. La séroprévalence est de 1.1% et il n'a pas été détecté de *Babesia caballi*.

L'existence de zones endémiques avec des prévalences parfois très élevées et de zones non endémiques qui souhaitent garder leur statut pose un problème certain vis-à-vis du libre mouvement de chevaux dans le monde.

### C. Impact sur les déplacements des équidés.

La majorité des pays du monde sont endémiques pour la piroplasmose. Il est très difficile de savoir quel est le statut exact des pays dans le monde, car c'est en constante évolution et les études épidémiologiques coutent cher et sont difficiles à mettre en œuvre.

La piroplasmose a un impact important sur le mouvement des chevaux et provoque des pertes économiques importantes au sein de la filière équestre [84]. L'entrée des chevaux est interdite dans certains pays si le cheval est porteur d'anticorps contre *Theileria equi* ou *Babesia caballi*. Or le nombre de mouvements de chevaux a considérablement augmenté ces dernières années ce qui augmente le risque de propagation de la piroplasmose.

Lors de compétitions ou d'exportation de chevaux, les animaux les plus dangereux sont les porteurs sains car ils sont une source potentielle de parasites et peuvent alors propager la maladie dans le pays d'accueil surtout si celui ci est indemne de piroplasmose ou possède une faible prévalence.

L'OIE a publié dans son Code sanitaire pour les animaux terrestres des recommandations relatives à la piroplasmose concernant l'importation permanente ou à titre temporaire (lors de compétitions) d'équidés :

#### **Figure 14 : Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'OIE [119]**

##### **Chapitre 12.7 : Piroplasmose équine**

###### *Article 12.7.1.*

Considérations générales

Les normes pour les épreuves de diagnostic sont décrites dans le Manuel Terrestre de l'OIE [7 ; 118].

###### *Article 12.7.2.*

##### **Recommandations relatives à l'importation d'équidés**

Les Autorités vétérinaires des pays importateurs doivent exiger la présentation d'un certificat vétérinaire international attestant que les animaux :

1. ne présentaient aucun signe clinique de piroplasmose équine le jour de leur chargement ;
2. ont fait l'objet d'une recherche de la piroplasmose équine (*Theileria equi* et *Babesia caballi*) au moyen d'épreuves de diagnostic réalisées pendant les 30 jours ayant précédé leur chargement dont les résultats se sont révélés négatifs ;
3. ont été maintenus exempts de tiques, par traitement préventif au besoin, pendant les 30 jours ayant précédé leur chargement.

###### *Article 12.7.3.*

##### **Recommandations relatives à l'importation de chevaux de compétition à titre temporaire**

Les Autorités vétérinaires des pays importateurs doivent considérer la possibilité d'importer à titre temporaire des chevaux de compétition qui présentent un résultat positif à la procédure de dépistage décrite au point 2 de l'article 12.7.2. en prenant les précautions suivantes :

1. les chevaux sont accompagnés d'un passeport conforme au modèle figurant au chapitre 5.12.
2. les Autorités vétérinaires des pays importateurs doivent exiger la présentation d'un certificat vétérinaire international attestant que les animaux :
  - a. ne présentaient aucun signe clinique de piroplasmose équine le jour de leur chargement
  - b. ont été traités contre les tiques pendant les sept jours ayant précédé leur chargement
3. les chevaux sont maintenus dans un périmètre dans lequel les précautions nécessaires sont prises pour contrôler les tiques et où ils sont placés sous la supervision directe de l'Autorité vétérinaire
4. les chevaux sont examinés régulièrement sous la supervision directe de l'Autorité vétérinaire pour déceler la présence de tiques.

La connaissance du statut épidémiologique d'un pays pour la piroplasmose est importante lors des échanges internationaux de chevaux. Ceux-ci ont considérablement augmentés ces dernières années avec le commerce des chevaux mais aussi avec les compétitions majeures telles que les Jeux Olympiques ou les Jeux Equestres Mondiaux.

En plus du statut épidémiologique du pays dans lequel on se trouve, il est important de connaître les manifestations cliniques de la maladie pour tenter de la détecter au plus tôt lorsque qu'elle se déclare.

### **III. ASPECTS CLINIQUES**

#### ***A. Pathogénie***

##### **1. Parasitémie.**

Lors d'infection à *Babesia caballi*, la parasitémie n'excède en général pas 1%. Parfois malgré la présence de signes cliniques, elle reste très basse à 0.1% [127]. La parasitémie maximum constatée est de 10% [127]. Les chevaux restent en général porteurs de 1 à 4 ans suite à une infection par ce parasite.

Lors d'infection à *Theileria equi* on trouve en général une parasitémie entre 1 et 7%. La parasitémie maximum reportée est de 95 % [127]. Les chevaux restent en général porteurs à vie de ce protozoaire suite à l'infection.

Dans les régions endémiques, la plupart des chevaux s'infectent au cours de leur première année de vie et acquièrent une immunité en présence du parasite. L'introduction de chevaux adultes n'ayant jamais rencontré le parasite dans le sud de la France a provoqué une mortalité de 69 % chez ces animaux [128].

##### **2. Incubation**

L'incubation dure de 12 à 19 jours pour *Theileria equi* et de 10 à 30 jours pour *Babesia caballi* [92 ; 126]. La fin de la période d'incubation coïncide avec le pic d'hyperthermie ainsi qu'avec l'érythrolyse [93].

##### **3. Mécanisme pathologique**

Lors de sévère parasitémie, il y a une modification dans la composition des protéines et des lipides de la membrane érythrocytaire qui peuvent conduire à l'apparition de deux mécanismes pathologiques : un mécanisme hémolytique ou un mécanisme de vascularite.

###### *a. Mécanisme hémolytique*

Souvent présent lors d'infection aiguë à *Theileria equi*. L'hémolyse des globules rouges est provoquée par l'altération de leur membrane suite à la présence du parasite chez l'équidé [129].

Cette hémolyse entraîne une hémoglobinurie dont l'importance est corrélée à la sévérité de l'anémie. Elle cause aussi un ictère suite à l'augmentation de bilirubine non conjuguée qui va se déposer sur les muqueuses principalement, entraînant la couleur jaune de ces tissus.

#### *b. Mécanisme de vascularite*

Ce mécanisme est le plus souvent rencontré lors d'infection à *Babesia caballi*. La modification de la composition de la membrane érythrocytaire en présence du parasite entraîne sa rigidification et donc une baisse de la déformabilité des globules rouges. Il y a alors une stase dans les capillaires avec une possibilité d'occlusions de ces derniers ce qui entraîne une réponse inflammatoire systémique, une augmentation de la perméabilité de l'endothélium et dans les cas sévères cela peut aussi provoquer une CIVD (coagulation intra-vasculaire disséminée) [128].

Lors d'épisodes cliniques sévères, des œdèmes, des hémorragies, une ischémie, une anoxie et des dysfonctionnements organiques peuvent avoir lieu [93].

### **4. Immunité protectrice**

#### *a. Généralités*

L'immunité est de courte durée, elle est présente tant que le parasite est présent chez l'équidé. En effet la persistance du parasite stimule en continu l'immunité de l'hôte. Il n'y a pas d'immunité croisée entre *Babesia caballi* et *Theileria equi* [128].

Bien que le mécanisme exact impliqué ne soit pas connu, il a été montré que le foie joue un rôle important dans l'élimination du parasite. En effet des chevaux avec un foie sain arrivent à contrôler une infection par des hémoparasites alors que des chevaux splénectomisés présentent une parasitémie sévère et succombent à l'infection [20 ; 61].

Knowles et al ont ensuite démontré que l'immunité innée et le foie n'étaient pas suffisants pour contrôler une infection à *Theileria equi* [58 ; 61]. Des poulains déficients en lymphocytes T et B matures avec un foie sain et une immunité innée compétente étaient incapables de produire une réponse immunitaire spécifique aux antigènes. L'association de l'immunité acquise est donc nécessaire.

#### *b. Immunité humorale*

Des titres élevés en anticorps sont corrélés avec un contrôle du parasite chez le cheval. Lors de la phase aiguë de l'infection on retrouve des immunoglobulines Ga (IgGa) et des IgGb. Lors de la phase chronique de l'infection, se sont les IgG(T) qui augmentent.

Après une primo-infection, le cheval développe une réponse immunitaire humorale. Les anticorps spécifiques sont produits à partir du 7<sup>ème</sup> jour post infection et le taux augmente jusqu'à atteindre un pic 30 à 45 jours post-inoculation [35]. Le taux d'anticorps diminue ensuite progressivement et persiste à un faible niveau tant que l'animal reste porteur du parasite.

Des anticorps contre *Babesia caballi* et *Theileria equi* peuvent persister chez un poulain jusqu'à cinq mois suite au transfert d'immunité passive par le colostrum [108].

### c. Immunité cellulaire

Elle est supposée comme jouant un rôle clé contre *Babesia caballi* et *Theileria equi* mais elle n'est pas encore clairement démontrée [35].

## B. Signes cliniques

Les signes cliniques sont variables d'un individu à l'autre et sont la plupart du temps peu spécifiques. On n'a pas de critères pathognomoniques de la maladie ; c'est la réunion d'un certain nombre de signes cliniques qui va éveiller une suspicion chez le clinicien.

La piroplasmose peut se manifester sous différentes formes cliniques : forme suraigüe, aigüe, subaigüe et chronique. Il n'est pas possible de différencier les deux hémoparasites simplement par les signes cliniques même si les infections à *Babesia caballi* ont tendance à être moins sévères que celles à *Theileria equi* [126].

Il existe aussi des équidés qui ne présentent pas de signes cliniques mais qui sont porteurs du parasite.

### 1. Forme suraigüe :

La forme suraigüe de la piroplasmose peut survenir chez les poulains à la naissance [42 ; 126], sur des adultes n'ayant jamais rencontré le piroplasme et étant introduits en zone endémique [128] ou sur des chevaux adultes infectés suite à un exercice intense [1].

La piroplasmose néonatale provoque chez le poulain une faiblesse, de l'anémie, un ictère important à la naissance ou deux trois jours après. La fièvre est aussi généralement présente et des pétéchies sur les muqueuses peuvent parfois être observées [42 ; 126]. Il ne faut pas confondre cette forme chez les poulains avec l'isoérythrolyse néonatale. Souvent quand un poulain présente un ictère à la naissance, on pense à cette pathologie en premier ; il est important de faire la différence entre les deux maladies pour mettre en place le traitement adéquat le plus rapidement possible [42].

La forme suraigüe est rare chez les chevaux adultes mais peut survenir occasionnellement sur des chevaux n'ayant jamais rencontré le parasite et étant introduits en zone endémique. L'évolution est brutale et rapide et les chevaux sont retrouvés mourants ou morts [2 ; 128].

Hailat et al [1] rapportent la mort de deux juments suite à un exercice intense. Ces deux juments présentaient des signes cliniques de piroplasmose et étaient fortement parasitées par *Theileria equi*

La forme suraigüe est rare mais d'évolution très rapide et le plus souvent fatale.  
Le plus souvent, on rencontre la forme aigüe de la piroplasmose.



## 2. Forme aiguë

C'est la forme que l'on rencontre le plus souvent.

La forme aiguë de la piroplasmose est caractérisée par de multiples signes cliniques. Les symptômes les plus souvent rencontrés lors de piroplasmose aiguë sont : une hyperthermie dépassant en général les 40 °C, une faiblesse générale de l'équidé, une anorexie et une inappétence, la présence d'ictère et l'apparition d'œdème supra orbital ou sur les membres [1 ; 2 ; 10 ; 35 ; 126].

D'autres signes cliniques additionnels sont rapportés plus occasionnellement: un décubitus, une déshydratation, des urines foncées traduisant une hémoglobinurie, des muqueuses congestives ou pâles, une tachycardie, une tachypnée, de la transpiration ou l'apparition de pétéchies [2 ; 35 ; 126 ; 128].

Lors d'infections aiguës, on peut avoir une obstruction des capillaires et des petits vaisseaux par les globules rouges parasités. En fonction de la localisation de ces obstructions, des dysfonctionnements organiques peuvent survenir et une variété de formes atypiques de piroplasmose peut apparaître. C'est pour cela qu'on observe aussi parfois des symptômes de colique, de l'ataxie, une déficience hépatique ou une déficience rénale lors de piroplasmose [2 ; 35 ; 128].

## 3. Forme subaiguë

On constate que le tableau clinique de la piroplasmose équine est très diversifié. Une forme subaiguë de piroplasmose est aussi décrite. On a en général les mêmes signes cliniques que décrit précédemment mais leur intensité peut varier en fonction des chevaux. Par exemple l'ictère peut aller du jaune pâle au jaune-orangé intense [35].

## 4. Forme chronique :

Lors d'infections chroniques, les signes cliniques sont très peu spécifiques et peuvent évoluer depuis plusieurs semaines. Cette forme se caractérise en général par une baisse de performance, une perte de poids, un appétit capricieux, un mauvais état général ou une baisse de forme. Un subictère ou une hépatomégalie peuvent aussi être présent dans certains cas [2 ; 35 ; 126]. D'après Ueti et al [67] la parasitémie fluctue pour la forme chronique entre  $10^{3.3}$  et  $10^{6.0}$  parasites par mL de sang.

Chez les ânes c'est cette forme clinique de la maladie qui semble être la plus souvent rencontrée [46 ; 51].

## 5. Existence de porteurs sains

La majorité des chevaux séropositifs ou PCR positifs à *Theileria equi* ou *Babesia caballi* ne présentent pas de forme clinique de la maladie malgré la présence du parasite ; la parasitémie est très faible. On appelle ces équidés des porteurs sains [10].

Rubino et al [3] trouvent en effet dans leur étude épidémiologique que 86,8% des chevaux chez qui ils ont trouvé un des hémoparasites ne présentent pas de signes cliniques contre 13.2 % qui en présentent.

Les équidés porteurs sains sont des animaux à risque de développer une forme clinique lors d'un stress ou suite à un effort intense [1]. Ce sont aussi des réservoirs des deux parasites impliqués et des disséminateurs potentiels de piroplasmose surtout dans les endroits où les tiques vectrices sont

présentes [35]. Des juments gestantes porteuses saines peuvent aussi transmettre *Theileria equi* par voie intra-utérine avec un impact économique non négligeable pour les éleveurs [10 ; 44].

Le mécanisme de survie et la localisation de ces protozoaires persistant au sein de l'organisme de l'équidé n'est pas encore bien élucidé. Une étude réalisée par Pitel et al [11] reporte la détection de *Theileria equi* et *Babesia caballi* par analyse PCR dans la moelle osseuse de chevaux cliniquement sains et suggère la considération de cette trouvaille dans de futures études.

Les signes cliniques de la piroplasmose sont très variés et peu spécifiques, ils permettent une suspicion de la maladie mais pas de diagnostic de certitude. Pour étayer ses suspicions cliniques, le clinicien peut aussi faire appel à des signes paracliniques en réalisant une prise de sang.

### ***C. Signes paracliniques :***

Lors de piroplasmose équine, les signes paracliniques se trouvent souvent modifiés surtout lors de forme clinique de la maladie [1 ; 3].

On peut observer des modifications de la formule rouge ou blanche et des modifications des paramètres biochimiques.

#### **1. Anomalies de la numération formule sanguine**

##### *a. Modification de la formule rouge*

Chez les équidés atteints de piroplasmose, la formule rouge est très souvent modifiée et se caractérise par une anémie plus ou moins sévère.

On retrouve le plus souvent dans la littérature une diminution du nombre de globules rouges, une diminution de l'hémoglobine ; une thrombocytopénie [2 ; 3 ; 35 ; 42 ; 46] mais aussi une diminution de l'hématocrite [3 ; 46].

Les anémies très sévères et la présence d'une thrombopénie sont plutôt rencontrées dans les formes aiguës de la maladie alors que les anémies modérées sont plutôt rencontrées dans les formes chroniques de la pathologie [2 ; 35].

##### *b. Modification de la formule blanche*

On peut observer différentes modifications de la formule blanche lors de piroplasmose équine. Lors de formes aiguës, une neutropénie et une lymphopénie peuvent être constatées alors que lors de forme chronique de piroplasmose, on peut parfois objectiver une lymphocytose [2 ; 35 ; 42].

Une étude de Rubino et al [3] rapporte une différence significative de la formule blanche entre les porteurs sains (infectés sans signes cliniques) et les autres groupes (non infectés ou infectés avec signes cliniques). Les porteurs sains présentent une neutropénie et une lymphocytose significative.

## 2. Anomalies biochimiques

Les modifications biochimiques les plus fréquentes lors de piroplasmose sont une hyperbilirubinémie et une hémoglobinurie. Lors de formes cliniques aiguës, une diminution des protéines totales [1], une augmentation des enzymes hépatiques avec une augmentation des ASAT, des GGT [1 ; 2 ; 3] et une augmentation de la créatinine kinase [1] peuvent être observées. D'autres modifications du profil biochimique ont été décrites tel que la diminution du fibrinogène, de l'albumine du phosphore et du fer [2 ; 35].

## D. Lésions

### 1. Lésion macroscopiques

Des autopsies de chevaux adultes ou de jeunes d'environ 15 mois présentant une forme aiguë de piroplasmose révèlent un œdème sous-cutané, une pâleur généralisée des muqueuses et un ictère généralisé, un épanchement de type séreux dans les cavités péritonéale, pleurale et péricardique, une congestion des viscères avec la présence d'une hépatomégalie, d'une vessie remplie d'urine rouge foncée, d'un rein avec une médulla de couleur jaune-brun et des poumons congestionnés et œdématisés [1 ; 58].

Meynard et Goudichaud [91] rapporte le cas de l'avortement d'un fœtus atteint de piroplasmose au 216<sup>ème</sup> jour de gestation. Le fœtus était bien développé, mais très ictérique et présentait de nombreuses pétéchies sur les muqueuses et les séreuses visibles. L'analyse de sang du fœtus a révélé la présence de *Theleiria equi* à plusieurs stades de développement.

### 2. Lésions histopathologiques

Les lésions décrites sont faites à partir des autopsies des mêmes chevaux que dans le paragraphe précédent.

Le foie présente une dégénérescence et une nécrose centro-lobulaire massive ainsi qu'une congestion dans les vaisseaux portaux, il y a une accumulation de globules rouges sains et parasités dans la lumière des veines. On observe aussi des modifications du parenchyme avec des hépatocytes hyperplasiés au cytoplasme granuleux possédant des corps éosinophiliques foncés de taille et de forme différente [1 ; 58].

Le rein est l'organe le plus sévèrement atteint, il y a une importante congestion médullaire et les veines sont remplies d'hématies parasitées mais aussi une perte presque complète de la structure morphologique des tubules distaux avec une nécrose partielle [58].

Les poumons présentent une congestion aiguë avec un œdème alvéolaire et une thrombose des veines pulmonaires ; les capillaires alvéolaires sont congestionnés et dilatés par des érythrocytes déformés ou normaux fortement parasités [1 ; 58].

Les lésions cardiaques incluent une diffusion hémorragique dans l'épicarde et le myocarde, une congestion et une dégénérescence vacuolaire avec une désolidarisation des fibres striées du myocarde de ses veines associées [58].

Les signes cliniques et paracliniques sont très variés et peu spécifiques. Suite à un tableau clinique évocateur on peut avoir de fortes suspicions cliniques mais pas de certitudes. La combinaison de certains de ces signes cliniques et paracliniques peut aussi être évocatrice de maladies similaires. Il est donc important de connaître le diagnostic différentiel de la piroplasmose équine.

## IV. DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

Plusieurs pathologies infectieuses retrouvées chez les équidés présentent un tableau clinique similaire avec une fièvre récurrente d'origine inconnue, de l'abattement, des ictères, des œdèmes et de l'anémie. On retrouve dans le diagnostic différentiel : l'isoérythrolyse néonatale, la Borreliose, la Leptospirose, l'Erichiose équine, l'anémie infectieuse des équidés (MRC) et l'artérite virale équine(MDO).

Il est d'autant plus important de faire un diagnostic différentiel lors de suspicion de piroplasmose car ce dernier comporte des Maladies Réputées Contagieuses (MRC), des Maladies à Déclaration Obligatoire (MDO) et des zoonoses.

### A. Chez le poulain

Il ne faut pas confondre l'isoérythrolyse néonatale, qui provoque aussi des ictères importants et qui se manifeste dans les premiers jours après la naissance, avec la forme néonatale de la piroplasmose. Lors d'isoérythrolyse néonatale, le poulain ne présente pas de fièvre et les urines sont plus foncées rouge ou marron-noire que lors de piroplasmose néonatale [91].

### B. Chez les chevaux adultes

#### 1. La leptospirose

La Leptospirose est une zoonose à répartition mondiale. Elle est causée par des spirochètes comportant deux espèces principales qui comportent-elles même plusieurs sérovars :

- *Leptospira interrogans* dont les souches ont un rôle pathogène.
- *Leptospira biflexa* dont les souches ont un rôle saprophyte.

Elle est transmise par l'urine contaminée des petits mammifères sauvages et plus particulièrement des rongeurs.

La symptomatologie de la leptospirose est similaire à celle de la piroplasmose bien que moins intense. L'hyperthermie n'est pas intermittente, il n'y pas d'ataxie et la présence d'œdèmes est moins fréquente. L'urine est généralement noire et très visqueuse. On trouve aussi des uvéites aiguës ou récurrentes et des avortements.

Il est donc plus difficile de différencier une forme chronique de piroplasmose de la Leptospirose [91 ; 137].

## **2. L'Erlichiose équine**

L'Erlichiose granulocytaire équine ou anaplasmose équine est causée par la Rickettsie *Anaplasma phagocytophylum* (ancien nom : *Erlichia equi*) et est transmise par les tiques du genre Ixodes.

On retrouve comme lors de piroplasmose, de la fièvre, une anorexie, des œdèmes des membres, de l'ictère, des pétéchies, de l'ataxie, une anémie, une hyperbilirubinémie et une thrombocytopenie et une neutropénie. Une orchite peut être en plus présente et l'anémie est généralement plus marquée, par contre le cheval ne présente en général pas d'amaigrissement [91 ; 137]. On peut rencontrer dans de rares cas des arythmies cardiaques [85].

## **3. La Borreliose (Maladie de Lyme)**

La Borreliose ou Maladie de Lyme est causée par la Spirochète *Borrelia burgdorferi* et est transmise par les tiques du genre Ixodes.

Comme lors de certaines formes de piroplasmose, on peut rencontrer une fièvre modérée, de la léthargie, une raideur, des amaigrissements chroniques et des avortements.

On peut trouver en plus, des myosites, des arthrites avec distensions articulaires, des boiteries sporadiques, de la fourbure, des uvéites antérieures et des méningo-encéphalites [137].

## **4. L'artérite virale équine (AVE)**

L'artérite virale équine (AVE) est une maladie à déclaration obligatoire (MDO). Il existe en France plusieurs souches de virus, de virulence variable.

Comme lors de piroplasmose, les chevaux peuvent présenter de l'hyperthermie, de l'anorexie, de l'abattement, des œdèmes et des avortements.

On peut trouver en plus, des troubles respiratoires, du jetage et un larmolement.

La contagiosité est importante pour les équidés qui vivent en groupe et qui ont un contact étroit entre eux et les animaux guérissent spontanément sans traitement [91].

## **5. L'anémie infectieuse des équidés (AIE)**

L'anémie infectieuse des équidés (AIE) est causée par un lentivirus de la famille des retroviridés. C'est une maladie réputée contagieuse (MRC) qui est transmise par la piqûre d'un insecte hématophage. Une fois infecté, le cheval reste porteur à vie.

Cette pathologie est très difficile à différencier de la piroplasmose par les seuls signes cliniques et paracliniques qui sont très similaires surtout lors de formes aiguës à suraiguës de piroplasmose [91]. Lors d'AIE, la thrombocytopenie est toujours présente alors qu'elle peut être absente ou présente lors de piroplasmose.

Il faut alors avoir recours à des tests de laboratoire. Le test officiellement reconnu pour diagnostiquer l'anémie infectieuse des équidés et le test de Coggins [137].

Toutes ces maladies présentent une symptomatologie similaire. Tous les symptômes réunis peuvent amener le vétérinaire à avoir une forte suspicion, mais il sera très difficile voire même impossible de les diagnostiquer avec certitude sur le terrain malgré l'expérience du vétérinaire. Le tableau 5 récapitule les différences et similarités entre ces maladies.

L'usage d'un diagnostic thérapeutique dans les cas critiques peut aussi aider au diagnostic mais reste une méthode incertaine de confirmation.

**Tableau 5 : Tableau récapitulatif du diagnostic différentiel de la piroplasmose**

	Piroplamose	Lyme	Leptospirose	Erhlichiose	AIE	AVE
Symptôme fébrile	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>
Amaigrissement	<b>X</b>	<b>X</b>			<b>X</b>	
Œdèmes	<b>X</b>			<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>
Ictère	<b>X</b>			<b>X</b>	<b>X</b>	
Pétéchies	<b>X</b>			<b>X</b>	<b>X</b>	
Uvéite		<b>X</b>	<b>X</b>			
Signes neurologiques	<b>X</b>	<b>X</b>		<b>X</b>	<b>X</b>	
Avortement / Motalité périnatale	<b>X</b>	<b>X</b>	<b>X</b>			<b>X</b>
Raideur / Déplacements difficiles	<b>X</b>	<b>X</b>		<b>X</b>		
Autre		Boiterie Fourbure		Orchite Arythmies card		Jetage Larmolement

Pour un diagnostic de certitude, il faudra utiliser des tests de laboratoire. Seuls test à pouvoir identifier le pathogène réellement en cause. Et permettre ainsi de mettre en place une thérapeutique raisonnée et efficace.

## V. TECHNIQUES DIAGNOSTIQUES

Comme vu précédemment, les symptômes cliniques des chevaux atteints de piroplasmose sont souvent frustes et non pathognomoniques, il est impossible de poser un diagnostic de certitude par cet unique critère. Les tests de laboratoires sont d'une aide précieuse et permettent la plupart du temps d'établir un diagnostic de certitude quand ces tests se révèlent être positifs.

Les premiers tests utilisés cherchaient à détecter l'agent pathogène en question. Ils étaient parfois difficiles à mettre en œuvre et ne sont en général pas très sensibles. On retrouve parmi ces tests, l'observation de frottis sanguins, la transfusion de sang total, l'utilisation d'une tique vectrice et la culture *in-vitro*.

Ensuite des tests sérologiques ont été développés pour la détection d'anticorps dirigés contre les piroplasmes. On retrouve la fixation du complément (FC), l'immunofluorescence indirecte (IFI) et des méthodes immuno-enzymatiques (ELISA).

Enfin, des méthodes moléculaires sensibles et spécifiques ont été mises en place pour détecter directement le matériel génétique des mérozoïtes : la PCR (réaction de polymérisation en chaîne) et la LAMP (amplification isotherme).

### A. Identification de l'agent pathogène

#### 1. Observation de l'agent pathogène au microscope [7 ; 8 ; 92]

On peut identifier directement l'agent pathogène chez les chevaux infectés par des frottis sanguins ou par des calques d'organes colorés. Les techniques de coloration de type Giemsa ou Romanovsky donnent de bons résultats.

Les piroplasmes se multiplient de façon asexuée au sein des érythrocytes. Il est possible de les observer sur frottis sanguin au microscope ; on a alors un diagnostic de certitude. *Babesia caballi* et *Theileria equi* se présentent sous des formes différentes au sein des globules rouges, à la fin de leur cycle de développement, ce qui permet de les différencier. Par contre au début du cycle dans les hématies il est difficile de différencier les deux parasites. En général on peut trouver le parasite à plusieurs stades de développement [7 ; 92].

Lors d'infections par *Babesia caballi*, on trouve le plus souvent dans les érythrocytes des mérozoïtes qui prennent la forme de poire, dite forme piriforme. On l'observe aussi quelques fois sous forme sphérique. Dans les globules rouges les mérozoïtes apparaissent isolés ou groupés par deux et contingents par leurs extrémités la plus fine ; on parle de forme bigéminée. La forme bigéminée est considérée comme étant diagnostique de *Babesia caballi*.

Lors d'infections par *Theileria equi* les mérozoïtes peuvent prendre plusieurs formes dans les érythrocytes. Ils sont ronds ou amiboïdes et rarement piriforme. La disposition de 4 mérozoïtes en tétrade est une caractéristique de *Theileria equi*. Elle est couramment appelée : « forme en croix de Malte » et cette forme est diagnostique de *Theileria equi* [7 ; 92].

Cette technique d'observation au frottis est peu sensible et l'est encore moins pour des animaux avec une faible parasitémie. On peut parfois avoir la chance d'observer les parasites chez des

animaux cliniquement malades et atteints de forme aiguës mais il est extrêmement rare de l'observer chez des animaux porteurs sains. Plusieurs études confirment ces observations [8 ; 9 ; 103].

Si on repère des parasites à l'observation microscopique du frottis sanguin, on peut conclure que l'animal est atteint de piroplasmose. Par contre si l'on n'observe pas de parasites à l'observation du frottis sanguin on ne peut pas conclure à l'absence de piroplasmose chez le cheval.

Cette méthode diagnostique n'étant pas assez sensible, il est nécessaire d'avoir recours à d'autres techniques diagnostiques.

## **2. Transfusion de sang total [7 ; 92]**

C'est une ancienne méthode utilisée quand des techniques diagnostiques comme la PCR n'existaient pas encore. Lors de suspicion de piroplasmose chez un cheval mais que le frottis ne permettait pas d'observer directement le parasite, il était possible de réaliser une transfusion sanguine.

Un transfert du sang d'un cheval supposé infecté à un cheval témoin sain était réalisé. Le cheval réceptif pouvait être ou non splénectomisé pour diminuer sa réaction immunitaire. Les signes cliniques étaient ensuite surveillés de près et des frottis sanguins réalisés pour tenter d'observer les piroplasmose et ainsi de pouvoir confirmer le diagnostic de suspicion initial.

Cette technique a permis aussi d'évoquer l'existence de porteurs sains. On avait recours au même procédé sur des chevaux ayant récupéré suite à une infection aiguë et ainsi montrer que le parasite n'avait pas totalement disparu malgré l'absence de signes cliniques chez l'individu.

## **3. Utilisation d'une tique vectrice [7]**

C'est une ancienne méthode qui n'est plus utilisée de nos jours suite au développement de nouvelles techniques diagnostiques plus performantes.

Le principe est proche de la transfusion de sang total et consiste à nourrir une tique vectrice non parasitée sur un animal suspect. Des *Babesia* ou *Theileria* sont ensuite recherchés soit au sein du vecteur soit par l'apparition de signes cliniques et l'observation de frottis sanguins, chez des animaux considérés comme sains, après inoculation par la tique vectrice.

## **4. Culture in vitro [7 ; 30 ; 104 ; 105]**

Certaines études ont mis au point des techniques de culture in-vitro de *Theileria equi* et de *Babesia caballi* dans le but d'identifier les porteurs de parasites. En effet ces cultures ont permis de mettre en évidence la présence de *Babesia caballi* chez deux chevaux testés négativement suite au test de



fixation de complément [ 104 ] ou de *Theileria equi* chez des chevaux qui ne montrent aucun signe de parasitémie au moment de la mise en œuvre des cultures [ 105 ].

Cette capacité à cultiver et multiplier les piroplasmes in vitro dans les érythrocytes permet aussi l'étude de *Babesia caballi* et *Theileria equi* ; une quantité illimitée de parasites peut être produite grâce aux cultures. Notamment cela facilite l'identification de certaines protéines pouvant servir ensuite en tant qu'antigènes dans les tests sérologiques [30].

Les différentes techniques décrites précédemment sont anciennes et désuètes, à part le frottis sanguin qui se pratique encore couramment de part sa facilité de mise en œuvre. Certaines techniques étaient aussi éthiquement questionnables telle que le transfert de sang total.

D'autres méthodes diagnostiques ont ensuite été développées.

## ***B. Epreuves sérologiques***

Les épreuves sérologiques sont recommandées par l'OIE (organisation mondiale de la santé animale) comme méthodes préférentielles de diagnostic, particulièrement chez les chevaux destinés à l'importation dans des pays où la maladie n'existe pas mais où le vecteur est présent.

Trois techniques sérologiques sont le plus souvent utilisées : la fixation du complément (FC), l'immunofluorescence indirecte (IFI) et la méthode immuno-enzymatique (ELISA)

### **1. Fixation du complément (ancienne méthode prescrite pour les échanges internationaux)**

Le test de fixation du complément a été développé en 1945 par Hirato et al [29]. Ce test est le plus anciennement pratiqué. Il a été accepté en mars 1969 comme le test officiel de détection de piroplasmose équine par le Département de l'Agriculture des Etats-Unis (USDA) et fut utilisé dans le monde entier surtout lors de l'importation de chevaux vers des pays considérés comme indemnes de piroplasmose. [38 ; 106]

Il existe plusieurs protocoles de fixation du complément mais le principe reste le même [7 ; 24 ; 92]. Il repose sur l'utilisation du complément lors de la réaction entre l'antigène du piroplasma et de l'anticorps contre cet antigène. Sera décrit par la suite le protocole utilisé par Brüning [24].

Des antigènes de *Babesia caballi* ou de *Theileria equi* sont mis en solution avec le sérum de l'échantillon à tester (contenant ou non des anticorps anti-*Babesia caballi* ou anti-*Theileria equi*) et avec une quantité connue de complément. Deux unités de complément sont ajoutées ce qui permet en général d'utiliser 100% de ce dernier lors de la réaction. Une période d'incubation permet la réaction entre le complément et les complexes anticorps-antigène s'il y en a.

Suite à cela un « couple hémolytique » est ajouté constitué d'un mélange d'hématies de moutons et d'anticorps anti-hématies provenant d'un sérum de lapin. La quantité à ajouter de ce mélange est calculée de manière à ce qu'il y ai hémolyse complète des hématies de moutons en présence de deux unités de complément.

Une deuxième période d'incubation permet s'il reste du complément l'hémolyse totale ou partielle des érythrocytes de mouton. Suite à cela on estime le pourcentage d'hémolyse des hématies de moutons. S'il n'y a pas d'hémolyse des hématies de moutons c'est que tout le complément a été utilisé lors de la première réaction antigène-anticorps. Cela signifie que le sérum de l'individu suspect contenait bien des anticorps contre *Theileria equi* ou *Babesia caballi*.

Plusieurs dilutions du sérum à tester peuvent être réalisées ; d'une dilution de 1/5 à une dilution de 1/5120. Le seuil de positivité est reconnu à partir d'une dilution 1/5 avec 50% d'hémolyse et donc de 2+ (Tableau 6).

Il ne faut pas oublier de réaliser, lors de chaque test, un jeu de témoin positif et négatif avec un sérum que l'on sait positif et un sérum que l'on sait négatif pour s'assurer que la réaction a eu lieu correctement.

**Tableau 6 : Interprétation du test de fixation du complément**

<b>% d'hémolyse</b>	<b>Codification</b>	<b>Signification</b>
0 %	4+	Test positif
25 %	3+	Test positif
50 %	2+	Test positif
75 %	1+	Test négatif
100 %	Hémolyse complète	Test négatif

Le test de fixation du complément présente de nombreux inconvénients. Tout d'abord, une grande quantité d'antigènes est nécessaire pour ce test et ils sont difficiles et coûteux à produire. Avant la mise au point de la culture in-vitro, les antigènes étaient produits à partir d'équidés splénectomisés et infectés par *Babesia caballi* ou *Theileria equi*. Lorsque la parasitémie était élevée, le sang était prélevé et les hématies parasitées isolées.

Ce n'est pas un test sensible et de nombreuses études ont montré l'apparition de faux négatifs avec ce test [39 ; 40 ; 68 ; 108 ; 109]. Le taux de faux positifs est augmenté par l'activité anti-complémentaire de certains sérums avec une incapacité des IgG (isotype majeur des équidés) à fixer le complément [68 ; 110]. Les anticorps fixant le complément disparaissent aussi rapidement en cas de traitement ce qui est une autre cause de faux négatifs.

Des réactions croisées ont aussi été mises en évidence par Donnelly et al (1982) [108]. Ils ont constaté que de l'antisérum de *Babesia caballi* avait aussi une réaction positive lors de la fixation du complément avec un antigène de *Theileria equi*.

Tous ces désavantages font que la méthode de fixation du complément ne pouvait plus être considérée comme le « gold standard » pour le diagnostic de la piroplasmose équine. Elle n'est aujourd'hui plus considérée comme méthode de référence lors de mouvements internationaux d'équidés par l'OIE. Elle a été remplacée par l'immunofluorescence indirecte et par des méthodes immuno-enzymatiques.

## 2. Immunofluorescence indirecte (épreuve prescrite pour les échanges internationaux) [7 ; 39 ; 40 ; 68 ; 80]

La méthode standard d'immunofluorescence à été décrite par Tenter et Friedhoff (1986) [68] et par Madden et Holbrook (1968) [80]. Elle permet de différencier les infections à *Theileria equi* et *Babesia caballi*. Le but est de mettre en évidence la présence d'anticorps contre ces hémoparasites chez des individus suspect de piroplasmose équine. La reconnaissance d'une forte réaction positive est assez simple. Par contre il faut une solide expérience pour faire la différence lors de l'interprétation du test entre une réaction faiblement positive et une réaction négative.

Plusieurs études épidémiologiques utilisent l'immunofluorescence indirecte comme méthode de détection d'individus porteurs de piroplasmose et pour établir la prévalence au sein d'une région ou d'un pays entier ; comme en Suisse [73] ou dans le sud des Pays Bas [71].

L'immunofluorescence indirecte à été prouvée comme plus sensible surtout pour les individus porteurs que le test de fixation du complément dans plusieurs études [39 ; 40 ; 68]. En effet, des chevaux étant considérés comme négatifs suite à la fixation du complément se révèlent être en fait positifs suite à un test d'immunofluorescence indirecte. La méthode utilisée au Laboratoire Vétérinaire Départementale du Rhône (LVD 69) sera décrite par la suite.

Le LVD 69 utilise des kits commercialisés par Mégacor Diagnostik GmbH : le kit MegaScreen® FLUO THEILERIA equi pour *Theileria equi* et le kit MegaScreen® FLUO BABESIA caballi pour *Babesia caballi*. Etant donné la grande similarité de ces deux tests, la sérologie de *Theileria equi* sera décrite par la suite.

L'objectif de ce test est de détecter s'il y a présence d'anticorps anti-*Theileria equi* de type IgG dans le sérum ou le plasma de chevaux testés.

### a. Principe du test

Le kit fournit une lame en Telfon avec 12 puits contenant des érythrocytes équins fixés dans ces derniers. Ces hématies sont infectées par *Theileria equi* et contiennent dans leur cytoplasme les formes mérozoïtes caractéristiques du parasite. Le sérum de l'échantillon à tester subit plusieurs dilutions à l'aide d'une solution PBS (Phosphate Buffered Saline).

Le PBS est une solution tampon physiologique isotonique et non toxique pour les cellules. Elle est composée de Chlorure de Sodium, de Phosphate disodique, de Phosphate monopotassique et d'un peu de Chlorure de Potassium.

Les différentes dilutions ainsi que le témoin positif et négatif, sont incubées dans les puits pour permettre la réaction entre les anticorps du cheval et les antigènes de *Theileria equi*. La lame est ensuite lavée et un anticorps anti-équidé couplé à un marqueur fluorescent est ajouté. Après une deuxième période d'incubation la plaque est de nouveau lavée. Le résultat des réactions peut être visualisé en utilisant un microscope émettant une longueur d'onde activant le fluorochrome. Quand la réaction est positive, on observe une fluorescence verte dans le cytoplasme des érythrocytes.

## b. Protocole du LVD du Rhône

### i. Dilutions

On réalise 11 dilutions successives du sérum avec du PBS :

Dilution 1/40 :	10 µL de sérum	+ 390 µL de PBS
Dilution 1/80 :	40 µL de sérum 1/40	+ 40 µL de PBS
Dilution 1/160 :	40 µL de sérum 1/80	+ 40 µL de PBS
Dilution 1/320 :	40 µL de sérum 1/160	+ 40 µL de PBS
Dilution 1/640 :	40 µL de sérum 1/320	+ 40 µL de PBS
Dilution 1/1280 :	40 µL de sérum 1/640	+ 40 µL de PBS
Dilution 1/2560 :	40 µL de sérum 1/1280	+ 40 µL de PBS
Dilution 1/5120 :	40 µL de sérum 1/2560	+ 40 µL de PBS
Dilution 1/10240 :	40 µL de sérum 1/5120	+ 40 µL de PBS
Dilution 1/20480 :	40 µL de sérum 1/10240	+ 40 µL de PBS
Dilution 1/40960 :	40 µL de sérum 1/20480	+ 40 µL de PBS

### ii. Dépôt sur lames

Une fois les dilutions réalisées, on les dépose dans les différents puits de la lame. On dépose 10 µL de chaque dilution à partir de la dilution 1/80 ainsi que 10 µL de témoin positif et 10 µL de témoin négatif.

### iii. Incubation

On réalise ensuite une incubation en chambre humide à 37 °C pendant 30 minutes. Cette première incubation permet de laisser le temps aux anticorps (s'il y en a) dirigés contre *Theileria equi* présent dans le sérum de l'échantillon à tester de venir se conjuguer avec les antigènes de *Theileria equi* fixés dans les puits de la plaque.

### iv. Lavage

Suite à l'incubation on réalise un rinçage de la lame au PBS. On fait ensuite baigner la lame dans du PBS durant 5 minutes. L'opération est renouvelée ensuite deux autres fois. Il faut bien faire attention de ne pas laisser sécher la lame entre les lavages.

Une fois les trois lavages réalisés, il faut tapoter la lame sur la tranche sur du papier absorbant et sécher entre les puits avec un papier fin.

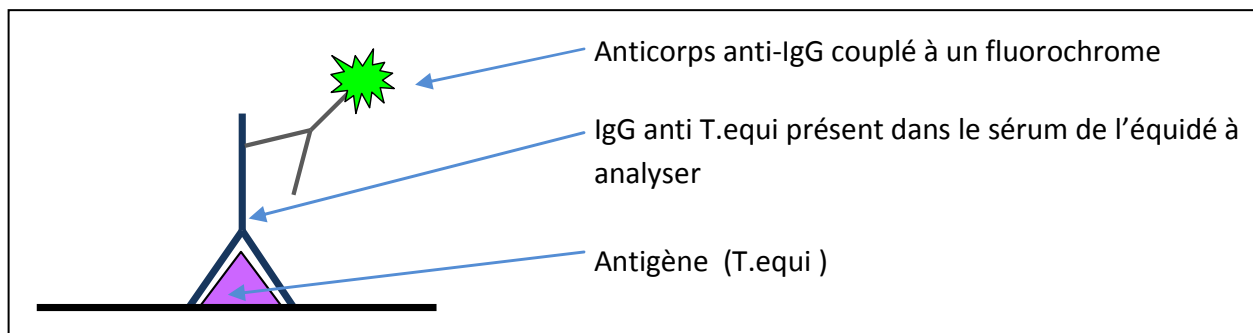
Ces lavages permettent d'éliminer les anticorps n'ayant pas réagis avec l'antigène, les autres anticorps et les éléments non désirables présents dans le sérum de l'échantillon.

### v. Dépôt de l'anticorps couplé à un fluorochrome

Il faut ensuite ajouter 1 goutte d'anticorps anti-IgG dans chaque puits. Cet anticorps anti-IgG est couplé à un fluorochrome.

### vi. Incubation

Une seconde incubation en chambre humide à 37 °C pendant 30 minutes est réalisée pour permettre la réaction entre les anticorps anti-IgG couplés à un fluorochrome et les anticorps anti *Theileria equi*. ( figure 15)



**Figure 15 : Interprétation du test d'immunofluorescence indirecte.**

#### vii. Lavage

Suite à l'incubation on réalise un rinçage de la lame au PBS. On fait ensuite baigner la lame dans du PBS durant 5 minutes. L'opération est renouvelée ensuite deux autres fois. Il faut bien faire attention de ne pas laisser sécher la lame entre les lavages.

Une fois les trois lavages réalisés, il faut tapoter la lame sur la tranche sur du papier absorbant et sécher entre les puits avec un papier fin.

Ces lavages permettent d'éliminer les anticorps anti-IgG n'ayant pas réagi.

#### viii. Lecture

Il faut ajouter quelques gouttes d'huile de montage entre la lame et une lamelle pour permettre une bonne lecture.

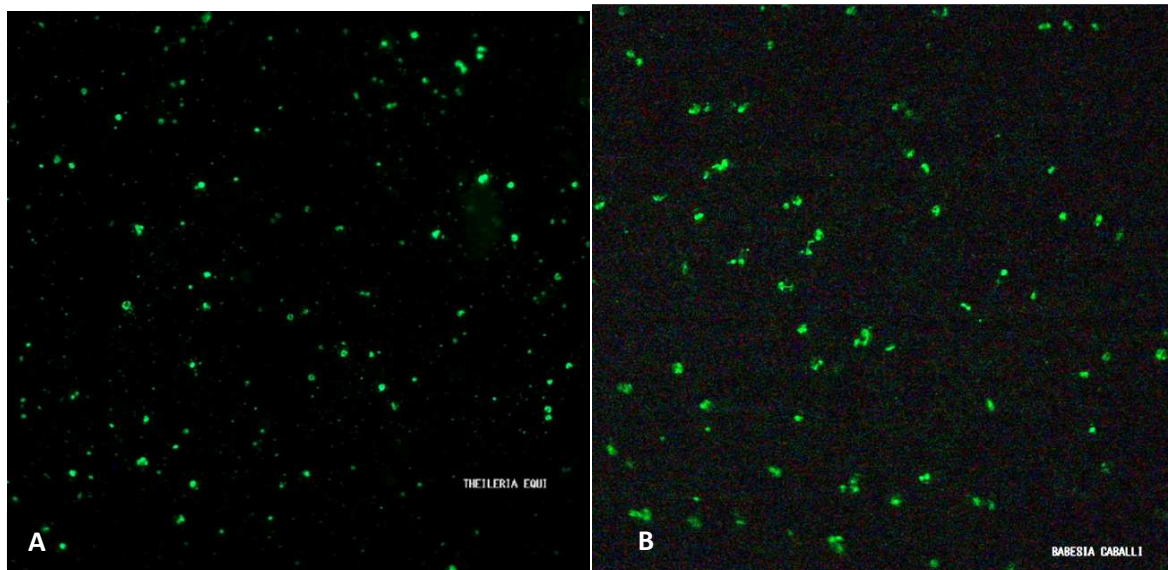
Il faut observer la lame au microscope optique au grossissement 400 avec une lampe à mercure émettant une fluorescence autour des 500 nm qui active le fluorochrome s'il est présent sur la lame.

#### c. Résultat

A la longueur d'onde émise par la lampe à mercure, le fluorochrome est activé et émet une fluorescence de couleur verte. Si la réaction est positive pour *Theileria equi*, c'est-à-dire que le cheval possède des anticorps contre *Theileria equi*. On observe des inclusions colorées, brillantes et régulières présentes dans le cytoplasme des érythrocytes infectés (figure 16). On peut aussi parfois observer la fluorescence en dehors du cytoplasme quand il y a éclatement des globules rouges.

Il ne faut pas oublier de regarder le témoin positif qui doit présenter une fluorescence et le témoin négatif où l'on ne doit pas observer de fluorescence, pour s'assurer du bon déroulement de la réaction. On considère que l'échantillon est positif quand la fluorescence est observable pour une dilution à 1/80. Il faudra ensuite chercher à partir de quelle dilution la fluorescence apparaît.

La méthode utilisée pour détecter *Babesia caballi* est identique.



**Figure 16:** Observation microscopique d'une réaction positive au test d'immunofluorescence indirecte [107]

Observation microscopique au grossissement 400 à l'aide d'une lampe à Mercure qui révèle la fluorescence.

(A) Réaction positive à *Theileria equi*.

(B) Réaction positive à *Babesia caballi*.

L'interprétation des résultats doit se faire par un individu expérimenté. Il est facile de reconnaître une réaction fortement positive. Par contre il est plus délicat de différencier une réaction faiblement positive d'une réaction négative.

A l'époque de la mise au point de la méthode d'immunofluorescence indirecte, on ne savait pas cultiver les parasites in-vitro. La même méthode que pour la fixation du complément était utilisée pour produire des antigènes. C'est pour cela que les chercheurs se sont tournés vers une nouvelle technique immuno-enzymatique.

### **3. Méthode immuno - enzymatique : ELISA (épreuve prescrite pour les échanges internationaux) [7 ; 24]**

Les premiers tests ELISA développés étaient plus sensibles comparés à la fixation du complément par contre ils n'étaient pas très spécifiques et des réactions croisées pouvaient avoir lieu entre les sérums de *Babesia equi* et *Theileria equi*. Götz et al [111] ont montré qu'un sérum positif aux antigènes de *Theileria equi*, l'était aussi pour les antigènes de *Babesia caballi* et *Babesia rodhaini*.

Ce problème de faible spécificité était attribué à l'utilisation d'antigènes bruts ; principalement des érythrocytes infectés ou des parasites entiers [7]. Pour améliorer la spécificité du test, la recherche d'antigènes spécifiques a été entreprise. Les antigènes doivent être spécifiques d'espèces, immunogènes et présent dans les différentes souches d'une même espèce.

Avec la mise au point de culture in-vitro de piroplasmes, l'identification de protéines antigéniques a été facilitée puisque qu'une quantité illimitée de parasites pouvait être extraite de ces cultures [30].

Ces parasites ont alors été utilisés pour des études immunologiques, mais il est aussi possible de les stocker à -20°C en attendant de les utiliser. C'est ainsi que Knowles *et al.* [31] ont mis en évidence onze protéines immunogènes majeures et que Böse et Hentrich [112] identifièrent neuf antigènes majeurs. Une protéine de 34kDa a été isolée et reconnue dans les sérums de chevaux infectés par différentes souches et dans différents pays. Knowles *et al.* [31 ; 32] ont aussi développé un anticorps monoclonal réagissant avec cette protéine de surface de 34kDa, permettant ainsi la mise au point d'un test ELISA compétitif (cELISA).

Le principe du test ELISA indirect simple repose sur la reconnaissance de l'antigène brut par les anticorps du sérum à analyser. Ensuite des anticorps anti-globulines de détection couplés à des marqueurs enzymatiques chromogéniques sont ajoutés. Ainsi si l'équidé possède des anticorps anti-piroplasmes, une réaction colorée a lieu. Elle est ensuite généralement quantifiée par spectrophotométrie.

Le principe du test Elisa compétitif (cELISA) repose sur l'utilisation de protéines recombinées comme antigènes et d'un anticorps monoclonal couplé à une enzyme chromogénique, dit anticorps de détection spécifique de l'antigène recombiné. L'anticorps monoclonal est alors en compétition avec les anticorps du sérum à tester pour la fixation sur l'antigène. Lors d'une réaction positive, moins d'anticorps de détection sont fixés par les antigènes que lors d'une réaction négative. Lorsque le substrat de l'enzyme chromogénique est ajouté, la coloration du mélange sera moins importante lors d'une réaction positive que lors d'une réaction négative.

L'ELISA compétitif est le test ELISA aujourd'hui utilisé pour les différentes études de détection des piroplasmes :

Pour *Theileria equi* ; la protéine recombinante EMA-1 du mérozoite, produite chez les bactéries *Escherichia coli* [87] ou dans des cellules d'insectes infectées par le baculovirus [81] est utilisée comme antigène, après purification, dans le test cELISA. L'anticorps monoclonal de détection utilisé est dirigé contre un épitope d'une protéine de surface de 34 kDa du mérozoite. [7]

Pour *Babesia caballi* ; la protéine recombinée RAP-1 associée aux rhoptries [86] ou la protéine P48 exprimée par le vecteur pGEX [82 ; 83] toutes deux produites au sein de la bactérie *Escherichia coli* sont utilisées comme antigènes dans un test cELISA. L'anticorps monoclonal de détection utilisé réagit avec un épitope peptidique d'un antigène de 60kDa de *Babesia caballi*. [7]

L'utilisation de protéines recombinantes a facilité la standardisation du test. Il existe aujourd'hui des tests commercialisés et faciles d'utilisation. Le laboratoire VMDR (Veterinary Medical Research & Development) basé à Pullman dans l'état de Washington commercialise des kits pour *Babesia caballi* et *Theileria equi* (*Babesia caballi* Antibody Test Kit, cELISA et *Theileria equi* Antibody Test Kit, cELISA) [75].

Plusieurs études épidémiologiques utilisent des tests ELISA comme méthode de détection d'individus porteurs de piroplasmose et pour établir la prévalence au sein d'une région ou d'un pays entier ; comme en Grèce [75], en Chine [74] ou en Corée [77].

Plusieurs études démontrent la sensibilité et la spécificité supérieure des tests ELISA par rapport au test de fixation du complément [113] aussi bien pour *Theileria equi* que pour *Babesia caballi*. Knowles [31 ; 32] prouve qu'il existe des chevaux artificiellement infectés qui sont positifs au test

cELISA mais négatifs par la fixation du complément. Cette situation est constatée surtout chez les chevaux porteurs d'infections latentes.

Face à ces résultats, le test de fixation du complément a été abandonné au profit des tests ELISA et d'immuno-fluorescence indirect. Ces tests sont aujourd'hui prescrits par l'OIE pour les échanges internationaux [7].

Les tests sérologiques détectent la présence d'anticorps contre le parasite protozoaire et non le protozoaire directement. Certains chevaux en tout début d'infection et n'ayant pas encore développés d'anticorps peuvent passer pour de faux négatifs et certains équidés ayant rencontré le parasite et s'en étant débarrassé depuis peu mais ayant encore des anticorps peuvent passer pour des faux positifs. Une nouvelle technique détectant le matériel génétique de ces hémoparasites a été développée : c'est la PCR (Polymerase Chain Reaction).

### ***C. Une technique récente ; la PCR : Polymerase Chain Reaction***

La PCR permet d'amplifier du matériel génétique à partir de n'importe quel pathogène une fois son ADN extrait. C'est un test qui peut être selon les conditions très sensible et très spécifique. Malgré tout, des faux positifs et des faux négatifs peuvent apparaître lorsque la PCR est mal réalisée. Des témoins positifs et négatifs sont donc nécessaires.

Un test positif de PCR révèle la présence de matériel génétique du pathogène dans le sang de l'équidé testé. Par contre rien n'indique si le pathogène est vivant ou non. Depuis son invention, la PCR est devenue la technique la plus utilisée dans la détection de l'ADN et de l'ARN.

Remarque :

Les sondes à ADN ont été développées à la même période que les tests PCR par Posnett *et al.* [27 ; 28] et permettent de détecter directement la présence d'ADN de *Theileria equi* et *Babesia caballi*. Ces tests ont montré qu'ils détectaient un plus grand nombre de porteurs sains par rapport aux méthodes microscopiques. Les tests PCR s'étant rapidement montrés plus puissants, les sondes à ADN n'ont pas été plus développées.

#### **1. Principe de la PCR simple [4 ; 5 ; 100 ; 103]**

Avant de commencer toute réaction de PCR, il faut extraire l'ADN des échantillons sanguins. Plusieurs kits commercialisés existent aujourd'hui.

La réaction de PCR permet d'amplifier une séquence spécifique d'ADN. Cette réaction a lieu sous forme de cycles qui se répètent de façon exponentielle.

Un cycle comporte trois phases successives :

- Une phase de dénaturation de l'ADN ; il y a séparation du double brin d'ADN en deux monobrin par chauffage.



- Une phase d'hybridation des amorces aux monobrans d'ADN. Les amorces doivent être courtes et s'hybrider uniquement avec la séquence d'ADN de l'agent pathogène qu'on recherche et ne doivent pas reconnaître l'ADN de l'hôte.
- Une phase de polymérisation grâce à une ADN polymérase thermostable qui permet de dupliquer la séquence d'ADN recherchée. L'ADN double brin résultant de la réaction de PCR est appelé réplicon.

Au début de la réaction, les réactifs sont en excès mais restent en concentration assez faible pour éviter l'hybridation des amorces. L'amplification est au début réalisée de façon exponentielle ; c'est-à-dire que pour n cycles, il y aura  $2^n$  copies de l'ADN double brin de départ.

Suite à cette phase exponentielle, on rentre dans une phase linéaire où le taux d'amplification devient extrêmement variable à cause d'une compétition entre la renaturation des amplicons et l'hybridation des amorces.

Une troisième phase prend le relais ; une phase de plateau où le taux d'amplification décroît à près de zéro et qui génère très peu d'amplicons.

De faux positifs peuvent avoir lieu surtout lorsqu'on augmente le nombre de cycles de la réaction. C'est pour cela que dans une réaction de PCR on limite en général le nombre de cycles entre trente et quarante. Par contre si le sang à tester présente une très faible parasitémie, trente à quarante cycles peuvent ne pas être suffisants pour amplifier l'ADN recherché.

D'autres techniques de PCR ont été alors mise au point pour augmenter la spécificité et la sensibilité de la détection de la séquence de l'ADN du pathogène recherché (voir plus loin).

Concernant la détection de *Theileria equi* et *Babesia caballi*, Bose *et al.* [103] ont montré que la PCR était un outil diagnostique utile, sensible et spécifique. Bashiruddin *et al.* [4] utilisent une PCR simple qui amplifie le gène codant pour la partie 16s de l'ARN ribosomal. Ils montrent que cette PCR est plus sensible que le test de fixation du complément ; surtout pour les formes latentes de la maladie ou lors de début d'infection, lorsque les anticorps reconnus par le complément ne sont pas encore synthétisés. En effet ils détectent des chevaux positifs sous PCR mais négatif après un test de fixation du complément.

## **2. Reverse-Transcriptase PCR [5]**

Cette technique de PCR permet surtout de détecter de l'ARN. Elle est utilisée surtout pour détecter des virus à ARN tel que le virus de l'encéphalite équine de l'est.

Le principe de la réaction PCR est identique mais on a d'abord une première étape réalisée par une enzyme appelée reverse-transcriptase qui permet de transformer l'ARN simple brin en double brin et ainsi pouvoir enchaîner sur une réaction de PCR classique.

Cette technique n'est pas utilisée pour détecter les piroplasmes.

## **3. Nested PCR [5 ; 8 ; 9]**

La nested-PCR augmente la sensibilité et la spécificité de détection des pathogènes qui ne sont pas toujours détectables après 40 cycles de PCR classique. C'est le cas lors de très faible parasitémie.

Cette technique utilise deux paires d'amorces et deux séries séparées de réactions d'amplifications de PCR. La première paire d'amorces génère un premier amplicon qui sert alors de modèle à la deuxième paire d'amorces. On a alors un deuxième amplicon qui est généré ; de plus petite taille que le premier.

La technique de nested-PCR a été développée pour *Theileria equi* par Nicolaiewsky *et al* [9]. Elle se base sur l'amplification de la séquence d'ADN codant pour l'antigène EMA-1.

Plusieurs études montrent que cette méthode est plus sensible que la PCR simple. [8 ; 9]. Rampersad *et al.* [8] suggèrent dans leur étude que la technique de nested-PCR est plus puissante que la technique des frottis sanguins par coloration Wright-Giemsa et que la PCR simple ; la nested PCR détecte 3,6 fois plus d'infections que la méthode microscopique et 2,2 fois plus d'infections que la PCR simple.

La nested-PCR est efficace pour détecter les infections sub-cliniques [8].

#### **4. Multiplex PCR [5 ; 12]**

La PCR multiplex permet la détection de plusieurs séquences d'ADN au cours d'une même réaction. Dans le cas de la recherche de piroplasmes, elle permet la détection simultanée grâce à plusieurs paires d'amorces de *Theileria equi* et *Babesia caballi*.

Elle a été développée par Alhassan *et al* [12] pour la détection des hémoparasites. Il y a deux réactions de PCR successives :

- Une première réaction qui détecte *Babesia caballi* et *Theileria equi* sans faire la différence entre les deux. Elle reconnaît le gène codant pour la partie 18S de l'ARN ribosomal.
- Une deuxième réaction qui permet de faire la différence entre les deux parasites. Deux paires d'amorces sont utilisées ; Cab-R pour *Babesia Caballi* et Equi-R pour *Theileria equi*.

Cette technique a été utilisée dans des études épidémiologiques au Venezuela [15] ou pour détecter la présence de *B.caballi* et *T.equi* dans la moelle osseuse de chevaux cliniquement sains [11].

#### **5. PCR en temps réel [5 ; 11 ; 13 ; 14 ; 100]**

La PCR en temps réel a été de plus en plus utilisée au cours de ces dernières années dans différents secteurs d'activités. Cette technique est basée sur la détection et la quantification d'un marqueur fluorescent dont l'augmentation du signal est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés pendant la réaction de PCR. Cette méthode combine l'amplification et la détection des amplicons dans un même tube simultanément à leur production. Cela réduit le temps de manipulation post-PCR, par contre il faut des thermocycleurs spécifiques qui sont onéreux.

Pour recueillir des données quantitatives avec précision, les échantillons doivent être analysés dans la phase d'amplification exponentielle. La PCR en temps réel fait le suivi de la fluorescence émise pendant la réaction. C'est un indicateur de la production d'amplicons au cours de chaque cycle. La présence de sondes fluorescentes augmente la spécificité de la réaction car ces dernières doivent se fixer à la séquence d'ADN à amplifier avant d'émettre leur fluorescence. La quantification se fait alors

tout au long de la réaction contrairement aux PCR conventionnelles où les amplicons ne sont détectés qu'à la fin du processus.

Plusieurs techniques de PCR en temps réel ont été développées et mise sur le marché. Ce sont des techniques qui ne requièrent en général pas de manipulations post-amplification, ce qui permet de minimiser les risques de contamination suite à la réaction PCR.

Il existe deux grandes méthodes de PCR en temps réel : les agents se liant à l'ADN double brin et les sondes fluorescentes. Parmi les sondes fluorescentes on reporte quatre techniques différentes : l'hydrolyse de sondes (Taqman assay), l'hybridation de deux sondes (HybProbes), les balises moléculaires (Molecular Beacons) et les amorces scorpion (Scorpion primers). Ces différentes méthodes de détection présenteraient une sensibilité équivalente mais une différence dans la spécificité.

Différentes techniques de PCR en temps réel ont été décrites pour la détection des agents responsables de la piroplasmose [11 ; 13 ; 14]

Seule la technique de l'hydrolyse des sondes (Taqman assay) sera développée par la suite d'une part parce que c'est la plus fréquemment utilisée jusqu'à maintenant et d'autre part parce que c'est la technique utilisée par le Laboratoire Départemental Vétérinaire du Rhône (LVD 69) pour rechercher *Babesia caballi* et *Theileria equi*.

Avant toute réaction de PCR, il faut extraire l'ADN de l'échantillon à analyser.

Protocole expérimental du LVD du Rhône pour extraire l'ADN :

Utilisation de kits commercialisés ; Kit Machery Nagel – NucleoSpin Blood QuickPure (extraction sur sang total).

Protocole d'hydrolyse de sonde Taqman (figure 17)

#### i. Préparation de la réaction PCR

L'ADN extrait est mélangé avec la sonde, les amorces sens et anti-sens et tous les autres réactifs nécessaires à la réaction de PCR (enzymes, bases azotées, la composition exacte est gardée secrète par le laboratoire qui commercialise ces mixes).

La sonde d'hybridation est monobrin. Elle possède un fluorochrome émetteur fixé à son extrémité 5' mais l'émission du fluorochrome est inhibée par un second fluorochrome suppresseur présent à l'extrémité 3'.

Si le fluorochrome émetteur est stimulé, il transfère son énergie au fluorochrome suppresseur voisin qui dissipe cette énergie sous forme de chaleur plutôt que d'émettre de la fluorescence. Le LVD du Rhône commande à un autre laboratoire ses sondes avec les séquences qu'il souhaite.

#### ii. Dénaturation de l'ADN

L'ADN double brin à analyser se sépare en deux monobrans. La dénaturation se fait à 95°C pendant 15 secondes. Pendant cette phase, la sonde à ADN reste intacte et libre en solution et aucune fluorescence n'est émise.

### iii. Hybridation / Polymérisation de l'ADN

Vient ensuite la phase d'hybridation de l'ADN au cours de laquelle la sonde et les amorces se fixent à leurs séquences complémentaires.

Une fois les amorces et la sonde fixées ; la Taq polymérase débute la polymérisation du nouveau brin d'ADN à partir de l'amorce jusqu'à ce qu'elle rencontre la sonde. La Taq polymérase possède aussi une activité 5'exo-nucléasique ; elle hydrolyse ainsi la sonde et libère le fluorochrome émetteur de l'environnement du fluorochrome suppresseur. Le fluorochrome peut alors émettre sa fluorescence.

La fluorescence augmente lors de chaque cycle proportionnellement au taux d'hydrolyse des sondes.

Comme la Taq polymérase ne peut hydrolyser la sonde que si celle-ci est hybridée à l'ADN monobrin, il faut ajuster les conditions de température pour permettre à la sonde de rester hybridée. C'est pour cela que les étapes d'hybridation et de polymérisation se font à la même température de 60°C pendant une minute.

Le thermocycleur réalise en tout 45 cycles de dénaturation à 95°C pendant 15 secondes suivis de l'hybridation/polymérisation à 60°C pendant 1 minute.

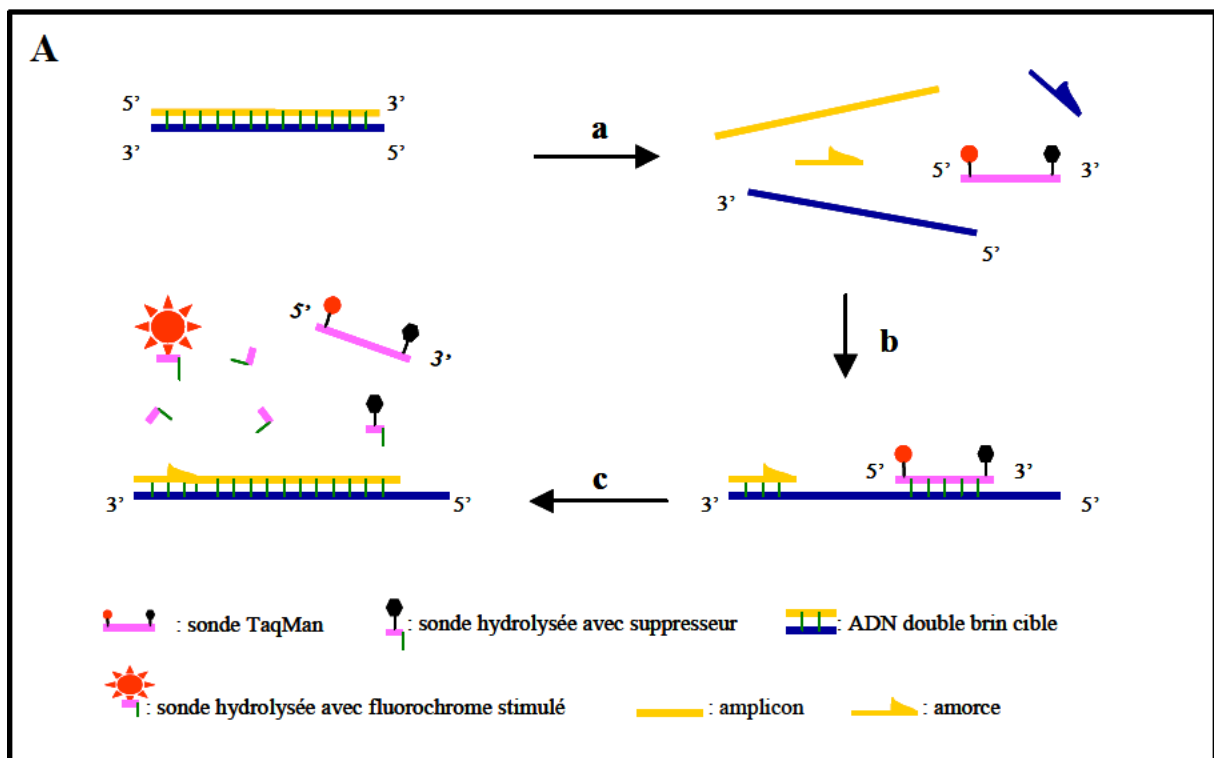


Figure 17: Hydrolyses de Sondes (Taqman Assay) [100]

(a) Durant l'étape de dénaturation, la sonde est libre en solution. (b) A la température d'appariement, la sonde et les amorces s'hybrident à leurs séquences cibles respectives et la proximité des fluorochromes permet l'inhibition de la fluorescence. La polymérisation débute. (c) La polymérase déplace et hydrolyse la sonde. Le fluorochrome émetteur est libéré de l'environnement du suppresseur permettant ainsi l'émission de la fluorescence.

## ***D. LAMP : loop-mediated isothermal amplification [18]***

L'amplification de matériel génétique de façon isotherme a été étudiée par plusieurs personnes [18]. Cette technique pourrait être considérée comme une alternative à la technique de PCR.

Elle a été développée pour la détection *Theileria equi* et *Babesia caballi* par Alhassan *et al* [18] ; elle utilise le gène EMA-1 pour *T.equi* et le gène Bc48 pour *B.caballi*. C'est une technique de sensibilité et de spécificité comparable à la PCR.

Si la PCR est coûteuse et se réalise dans des thermocycleurs, la LAMP permet de s'en affranchir. On peut de plus réaliser cette technique à partir de prélèvements sanguins sur papier filtre (Whatman) ce qui simplifie l'extraction d'ADN, chose impossible pour la réaction de PCR. La technique est simple d'utilisation, se réalise en moins d'une heure et les résultats peuvent être lu à l'œil nu.

La technique de LAMP peut donc s'avérer comme une bonne alternative à la réaction de PCR dans les pays pauvres ou en voie de développement.

En conclusion, la PCR se révèle donc être un test plus puissant que l'observation de frottis sanguins, le test de fixation du complément (FC), de l'immuno-fluorescence (IFI) ou de la méthode immuno-enzymatique (c-ELISA).

Il faut bien rappeler que les tests sérologiques c-ELISA ou IFI qui sont équivalents détectent la présence d'anticorps, et donc témoignent du passage du parasite mais ne prouve pas sa présence. Les tests PCR détectent la présence du matériel génétique du parasite vivant ou mort. Les tests de PCR et sérologiques sont donc complémentaires l'un de l'autre pour déterminer l'état infectieux de l'individu.

Pour les échanges internationaux, la PCR devrait être le test de choix pour contrôler l'état infectieux des équidés et ainsi limiter la propagation de la maladie. Or Aujourd'hui l'OIE recommande des tests sérologiques (IFI ou cELISA) et non pas la PCR.

Une nouvelle technique moins onéreuse que la PCR est à l'étude : il s'agit de l'amplification isotherme, et pourrait être une bonne alternative à la PCR qui reste délicate à réaliser. D'autres études sur le sujet sont néanmoins nécessaires.

## VI. TRAITEMENT

Une fois le diagnostic établi, il s'agit alors de traiter l'équidé et de tenter d'éliminer le parasite. La stratégie thérapeutique va être différente en zone endémique et non endémique.

En zone endémique, on ne cherchera pas à éliminer complètement le parasite pour que le cheval développe une prémunition. Le cheval vivant dans une zone endémique est à risque de ré-infestation. Ainsi en étant porteur, le cheval développe un certain degré d'immunité contre le parasite et protège le cheval de manifestations cliniques aiguës. Cette immunité peut néanmoins être dépassée lors d'un stress important ou lors d'une infection massive par le parasite.

En zone non endémique, on cherchera par contre à éliminer complètement, dans la mesure du possible, le parasite de l'organisme du cheval.

Il existe plusieurs molécules permettant de lutter contre les piroplasmés. Compte tenu de leur toxicité, et de leurs effets secondaires, la plupart ne sont plus utilisées aujourd'hui.

### A. Anciennes molécules

#### 1. Le Bleu Trypan

Le bleu trypan appelé également bleu de Toluidine est efficace contre *Babesia caballi* mais pas contre *Theileria equi*, il est de plus surtout actif contre les formes parasitaires libres dans le plasma.

L'administration se fait par voie intraveineuse strict à une dose de 10mg/Kg. Cette molécule colorant en bleu les tissus ainsi que le lait des poulinières a été rapidement abandonnée au profit d'autres molécules [24 ; 93 ; 126]. Il n'y a pas d'AMM en France.

#### 2. Chloro-méthylate d'acriflavine

L'acriflavine appelé aussi Euflavine est un dérivé de l'acridine. La molécule est efficace contre *Babesia caballi* et *Theileria equi* bien que des cas de résistances à l'euflavine aient été décrites et que la molécule permette uniquement de traiter les signes cliniques sans élimination complète du parasite.

L'administration se fait par voie intraveineuse à une dose de 4-8mL/100 Kg d'une solution à 5% avec un maximum de 20mL par injection [24]. Elle colore les tissus et les sécrétions en jaune [24 ; 126]. Il n'y a pas d'AMM en France pour cette molécule.

#### 3. Diamidines aromatiques [10 ; 24]

Parmi les diamidines aromatiques on trouve l'isethionate de pentamidine, l'isethionate de phenamidine, l'amicarbalide diisethionate et le dimazene diacéturate.

Les diamidines aromatiques sont efficaces contre *Theileria equi* et *Babesia caballi*.

a. *Diamazene diaceturate (BERENIL®)*

Le diamazene diaceturate permet une élimination de *Babesia caballi* et une disparition des signes cliniques lors d'une infection aigue par *Theileria equi*. [24 ; 10] Le protocole thérapeutique prévoit deux injections intramusculaires profondes à 11mg/Kg à 24h d'intervalle. Il n'y a pas d'AMM en France pour cette molécule.

Le diamazene diaceturate peut provoquer des inflammations et des nécroses au site d'injection. Pour minimiser ces effets, on peut multiplier les sites d'injections ce qui permet d'injecter de plus petits volumes. A des doses toxiques qui sont proches des doses thérapeutiques, une détresse respiratoire et de la dépression est rapportée. Le mulet est très sensible à cette molécule, il faut donc être particulièrement vigilant quant à son utilisation dans cette espèce [24].

b. *Amicarbalide*

L'amicarbalide peut selon les protocoles thérapeutiques faire disparaître les signes cliniques ou assainir l'individu lors d'infections par *Babesia caballi*.

Pour le traitement des chevaux avec des signes aigus de piroplasmose, une injection unique en intramusculaire à 9-10mg/Kg est généralement suffisante.

Pour stériliser l'individu de *Babesia caballi*, il faut réaliser deux injections intramusculaires à 8.8mg/Kg à 24h d'intervalle [24 ; 93]. Il n'y a pas d'AMM en France pour cette molécule.

Des effets indésirables sont décrits à ces dosages avec des désordres respiratoires et digestifs, l'apparition d'œdème périorbital et sur les narines et des œdèmes sous cutanés au niveau du dos et des flancs. Pour limiter ces effets indésirables, deux injections à 2.2mg/Kg peuvent être réalisées à 24h d'intervalle. Par contre à ce dosage il y a traitement des signes cliniques mais pas de stérilisation de l'organisme [24 ; 126].

#### **4. Parvaquone et buparvaquone [10 ; 33 ; 94]**

Le parvaquone et le buparvaquone sont efficaces uniquement contre les phases aigues de la piroplasmose à *Theileria equi*. Ces molécules sont plus efficaces contre les parasites sous sa forme schizonte [10 ; 33 ; 94]. Il n'y a pas d'AMM en France pour ces molécules.

Le protocole thérapeutique de la buparvaquone prévoit des injections de 4 à 6 mg/Kg par voie intra-veineuse lente ou par voie intra-musculaire une fois par jour pendant 3 jours.

Le protocole thérapeutique de la parvaquone prévoit une injection par voie intra-musculaire à la dose de 20mg/Kg [126]

De sévères réactions au site d'injection sont rapportées avec des boiteries qui peuvent durer 2 à 3 jours.

#### **5. Tétracyclines : chlortétracycline hydrochloride, oxytétracycline hydrochloride [10 ; 93]**

Les tétracyclines sont uniquement efficaces contre les affections cliniques à *Theileria equi* mais comme pour les autres molécules, *Theileria equi* n'est pas complètement éliminé.

Pour l'oxytétracycline le protocole est contraignant, il faut réaliser une injection intraveineuse pendant cinq jours à 5.5mg/Kg. Le produit est assez visqueux et irritant pour la veine. L'injection doit se faire lentement et strictement en intraveineuse. La pose d'un cathéter est fortement recommandée et le produit peut être dilué dans une perfusion de NaCl à 0.9% pour plus de sécurité.

Pour le chlortétacycline, le protocole prévoit quatre injections intra-veineuses à 24h d'intervalle à la dose de 31.2mg/Kg. Il existe une AMM cheval en France pour l'oxytétracycline.

Les mécanismes d'action de ces médicaments sont mal connus. Le principal mode d'action de ces molécules est à mettre en relation avec leurs capacités à se lier avec les acides nucléiques. On ne sait par contre pas encore comment ces molécules sélectionnent spécifiquement les globules rouges parasités et pas les autres.

*Babesia caballi* et *Theileria equi* n'ont pas les mêmes sensibilités à ces différentes molécules. La dose effective pour le traitement de *Theileria equi* est souvent plus élevée que pour *Babesia caballi*. Les doses efficaces contre *Theileria equi* peuvent pour certaines molécules être toxiques. La plupart de ces médicaments ont été abandonnés suite à la découverte de l'imidocarbe dipropionate.

## **B. Traitement actuel : Imidocarbe dipropionate (CARBESIA®)**

L'imidocarbe est aujourd'hui la molécule de choix utilisée dans le traitement de la piroplasmose, elle fait partie de la famille des diamidines. Cette molécule est considérée comme la plus efficace contre les hémoparasites. L'imidocarbe (Carbesia®) possédait une AMM cheval jusqu'en 2012 et ne possède aujourd'hui plus qu'une AMM bovins et chien en France. Malgré le non renouvellement de l'AMM pour des raisons financières, cette molécule est encore utilisée par les vétérinaires parce qu'il n'existe pas de molécules équivalentes possédant une AMM cheval pour traiter cette hémoparasitose.

### **1. Pharmacocinétique [34]**

Une étude a été menée par Belloli et al [34] pour déterminer la cinétique de l'Imidocarbe dipropionate après une injection intramusculaire à 2.4mg/Kg.

L'absorption de l'imidocarbe est rapide et détectée dans le sang à peine 10 minutes après l'administration du médicament. La cinétique plasmatique montre que la concentration maximale est atteinte environ une heure post-injection (cinétique avec un pic) ou à 10 min post-injection et se maintient pendant deux heures environ (cinétique avec plateau). Dans les deux cas la concentration plasmatique décroît ensuite d'abord rapidement (phase de distribution) puis plus lentement (phase d'élimination). Ainsi, 12h après l'injection initiale d'imidocarbe, la molécule n'est plus détectable dans le plasma.

Ce profil cinétique est décevant, en effet l'élimination de l'imidocarbe dans le plasma est rapide alors que le parasite visé est présent dans le sang. On peut suspecter néanmoins une séquestration dans les compartiments extravasculaires et vasculaires de la molécule ainsi qu'une large distribution dans les fluides et tissus corporels (le foie notamment). La rétention de la molécule dans l'organisme est supporté par le fait que l'on retrouve des concentrations urinaire semblables à la concentration maximale plasmatique 36h après l'injection initiale. Une élimination dans le lait et les fécès suite à une excrétion biliaire est aussi présente.



## 2. Traitement d'infections à *Babesia caballi* [10 ; 24 ; 35 ; 39 ; 41 ; 49]

Le protocole thérapeutique contre *Babesia caballi* utilisé le plus souvent aujourd'hui inclut deux injections d'Imidocarbe dipropionate à 2.2mg/Kg à 24 heures d'intervalle.

Bien que le traitement soit relativement peu toxique à ces doses, l'imidocarbe ayant une action parasymphomimétique, certains effets indésirables peuvent être rencontrés comme de l'hypersalivation, de l'hypermotilité intestinale et des coliques. Il faut être encore plus prudent lorsqu'on traite des ânes qui peuvent être particulièrement sensibles à la toxicité de l'imidocarbe avec une mortalité possible.

Bruning (1996) [24] et Frerichs and Holbrook (1974) [41] ont montré que *Babesia caballi* était éliminé grâce à l'Imidocarbe en suivant ce protocole. Mais des outils diagnostiques plus sensibles développés ultérieurement sont venus remettre en question ces données.

En effet, Butler et al (2008) [39] ont montré que *Babesia caballi* était encore détectable par PCR à dix huit semaines suite à un protocole incluant 5 injections intramusculaires à 4.7mg/Kg à 72h d'intervalle chez des Paso Fino infectés naturellement. Il faut cependant remarquer que les chevaux de cette étude étaient porteurs sains pour *Babesia caballi* et *Theileria equi*. La co-infection présente chez les quatre chevaux de l'étude pourrait expliquer la non élimination de *B.caballi*.

En 2009, Schwint et al. [49] ont démontré qu'un protocole de 4 injections intramusculaires à 4mg/Kg à 72h d'intervalle pouvait éliminer *Babesia caballi* et le risque de transmission du parasite. Après traitement de chevaux infectés expérimentalement, la PCR était négative, il y a eu une séroconversion de positif à négatif, pas de transmission de la maladie par transfusion de sang des chevaux traités à des chevaux sains et pas de transmission par des tiques nourries sur les chevaux traités puis sur des chevaux sains.

Les résultats des différentes études divergent mais il est important de se rappeler que différentes souches du parasite peuvent exister. En général on s'accorde à dire qu'un équidé parvient à éliminer complètement *Babesia caballi* au bout de 1 à 4 ans. Suite au traitement, il est important de refaire des analyses PCR et sérologiques pour vérifier l'efficacité de ce dernier.

## 3. Traitement d'infections à *Theileria equi* [10 ; 24 ; 33 ; 35 ; 39 ; 48 ; 53 ; 55 ; 95 ; 96 ]

*Theileria equi* est résistant à la plupart des médicaments connus. La stérilisation semble impossible avec l'Imidocarbe même avec des efforts persistants et répétés. Plusieurs études [39 ; 55 ; 53] ont échouées dans cette tentative. Par contre les signes cliniques disparaissent grâce au traitement à l'imidocarbe, mais les animaux restent souvent porteurs avec parfois une très faible parasitémie.

Une étude récente menée par Grause et al. (2013) [48] utilisant le protocole décrit ci-dessous est parvenue à la stérilisation complète de *Theileria equi* chez cinq des six chevaux infectés expérimentalement avec une même souche. Une autre étude de 2012 (Ueti et al. [95]) confirme l'élimination de *Theileria equi* chez 24 des 25 chevaux infectés naturellement par PCR négative et non transmission suite à une transfusion après traitement à des chevaux sains.

Le protocole thérapeutique le plus utilisé prévoit 4 injections à 4.4mg/Kg à 72h d'intervalle. Il est important de noter qu'à cette dose on est proche de la moitié de la dose létale (DL50). Si l'efficacité n'est pas complète après le traitement, ce protocole ne doit pas être répété à moins de 30 jours.

Il peut y avoir apparition d'effets indésirables faibles à importants, allant jusqu'à la mort. Ils se manifestent par de la salivation, de la fatigue, des coliques légères à modérées, de l'hypermotilité gastro-intestinale. Des réactions au site d'injection peuvent apparaître mais se résolvent généralement sans complications.

Pour tenter de limiter ces effets, on peut injecter la moitié de la dose (2.2mg/Kg) lors de la première injection pour voir si l'équidé supporte bien le traitement, surtout si l'on traite des ânes qui sont en général plus sensibles à la toxicité du traitement. Chez les ânes on évite de dépasser les 2.2mg/Kg.

Un protocole de 4 injections à 6-8mg/Kg à 72h d'intervalle est susceptible d'éliminer le parasite, mais le risque de toxicité est alors très important. Le risque est trop élevé par rapport au bénéfice qui reste incertain [35].

Les études de Grause et al. [48] Et Ueti et al. [95] fournissent des arguments convainquant quant à la pertinence de l'utilisation du protocole forte dose (4mg/Kg) d'Imidocarbe dans la tentative d'élimination de *Theileria equi* chez les chevaux porteurs. Un suivi attentif post traitement est nécessaire pour limiter la toxicité et évaluer l'efficacité de ce dernier (PCR et sérologie de contrôle, transfusion à des animaux sains).

La non élimination systématique du parasite peut être expliquée par la différence de sensibilité des différentes souches de *Theileria equi* à l'Imidocarbe, l'efficacité du traitement peut être hôte dépendant et il peut y avoir une influence lors de co-infections avec *Babesia caballi* [35].

Une étude menée par Zaugg et al [33] a suggéré la possibilité d'utilisation combinée de l'imidocarbe dipropionate et de la buparquanove pour tenter de stériliser complètement l'organisme de *Theileria equi*. Mais des essais expérimentaux sont encore nécessaires avant de généraliser l'utilisation d'un tel protocole.

## **C. Recherche de nouvelles molécules utilisables**

### **1. Le pronazuril [52]**

La difficulté à stériliser l'organisme du cheval de *Theileria equi* a poussé les chercheurs à étudier d'autres molécules.

Le pronazuril est un agent anti-protozoaire qui à été utilisé avec succès contre *Sarcosystis neurona* chez des chevaux et *Toxoplasma gondii* dans d'autres espèces. Le mécanisme d'action de cette molécule reste inconnu. L'étude de Nicki Wise et al. (2012) [52] a voulu tester in vitro l'hypothèse que le pronazuril pourrait aussi inhiber la réplication de *Theileria equi*. L'inhibition complète du parasite est obtenue in vitro, sur des cultures d'érythrocytes infectées avec une souche de *Theileria equi* originaire de Floride, lorsque la concentration en pronazuril atteint 500 µg/mL pendant cinq jours. Il faut préciser que la parasitémie des cultures utilisées dans l'étude est bien supérieure par rapport à la parasitémie que l'on rencontre in vivo même lors d'infections aiguës.

Des études in vivo sont nécessaires pour valider l'utilisation de cette molécule pour stériliser l'animal de *Theileria equi*.

## **2. L'acide fusidique [97]**

L'acide fusidique est un antibiotique stéroïde qui dérive d'un champignon *Fusidium coccineum*. Sur des essais in vitro, la croissance de *Babesia caballi* et *Theileria equi* est complètement inhibée pour des concentrations de 200µM d'acide fusidique. *Babesia caballi* semble plus sensible que *Theileria equi*.

L'étude conclut que l'acide fusidique inhibe la croissance de *T.equi* et *B. caballi* avec des effets immédiats. Elle encourage à l'utilisation de cette molécule dans le traitement des babébisoses.

## ***D. Jument gestante et poulain nouveau né [10]***

Le traitement de la jument gestante peut provoquer des avortements. On ne sait pas vraiment à quel moment de la gestation traiter une jument atteinte de piroplasmose. En général les avortements ont lieu dans le troisième tiers de gestation mais *Theileria equi* a été identifié chez des fœtus en bonne santé à 120 jours de gestation.

On retrouve l'imidocarbe dans la circulation fœtale après traitement de la jument gestante. Il y a une élimination dans le lait de l'imidocarbe et on ne connaît pas le possible effet toxique sur le poulain lors de la tétée.

Le poulain nouveau né peut présenter une piroplasmose néonatale qui est souvent confondue avec de l'isoérythrolyse néonatale. Le pronostic est en général sombre. Le poulain, sévèrement anémié, doit être transfusé avec du sang non infecté et les paramètres hématologiques doivent être surveillés de près. En fonction de l'état du poulain, un nursing et une thérapie de soutien sont mis en place. Il n'y a pas vraiment de données sur la sécurité d'utilisation et l'efficacité des traitements chez le poulain.

## ***E. Traitement de soutien***

### **1. Traitement hygiénique et symptomatique**

La première chose à faire avant tout traitement est de mettre le cheval au repos et au calme. Ensuite un traitement palliatif peut être instauré pour restaurer et soutenir les fonctions vitales perturbées par l'infection. Les traitements piroplasmicides ne sont pas anodins et le cheval doit être dans un état stable avant qu'ils soient initiés.

Il est possible grâce à une large gamme de produits existants aujourd'hui sur le marché de compléter les chevaux en minéraux, vitamines et acides aminés pour stimuler l'hématopoïèse ou le fonctionnement des hépatocytes.

En fonction de l'état d'hydratation, le cheval pourra être mis sous perfusion de Ringer Lactate. Cette perfusion peut être complétée au besoin, en glucose par exemple surtout si le cheval est anorexique [134].

En cas de coagulation intra-vasculaire disséminée (CIVD), de l'héparine peut être utilisée à la dose de 75 UI/Kg en sous cutané, quatre fois par jour pour son effet anticoagulant [134].

En cas d'anémie sévère, une transfusion sanguine est réalisable si on possède un donneur. Il est préférable d'utiliser un donneur jeune en bonne condition avec un hématoците supérieur à 35 % et une protéinémie supérieure à 65g/L de même ayant un statut piroplasmose négatif et un typage sanguin Aa- et Ca-. Il faut éviter les juments ayant déjà pouliné surtout lors de transfusions à un poulain [133].

## **2. Précautions à prendre avant un traitement à l'Imidocarbe**

Avant de réaliser tout traitement, il faut que le cheval soit stabilisé.

L'imidocarbe dipropionate n'est pas un traitement anodin. Des effets indésirables sont souvent décrits. En conséquence, certaines précautions sont à prendre avant tout traitement.

Pour prévenir les coliques spasmodiques engendrées par l'imidocarbe dipropionate, il est conseillé d'administrer une demi-heure avant l'injection une dose intraveineuse d'Estocelan®. (Scopolamine / Metamizole) et de mettre le cheval à jeun pendant quelques heures. La mise à jeun est réalisable avec un panier par exemple et doit commencer avant l'injection d'imidocarbe et se terminer quelques heures après [A. Benamou-Smith, communication personnelle].

Une dose de flunixin méglumine peut aussi être administrée avant l'injection d'Imidocarbe en vue de prévenir les douleurs liées à l'injection.

Un repos total est conseillé pendant 1 mois après le traitement ; la mise au pré de l'équidé peut être une bonne alternative en attendant la reprise du travail.

Il est aussi recommandé de faire des analyses PCR et sérologiques trois semaines après le traitement pour évaluer l'efficacité de ce dernier [A. Benamou-Smith, communication personnelle].

# **VII. PREVENTION ET PROPHYLAXIE**

La piroplasmose a un réel impact médical et économique sur les équidés. L'élimination du parasite suite au traitement, surtout pour *Theileria equi* est difficile. Il est donc important de tenter de prévenir cette infection.

## **A. Prévention en zone non endémique**

Dans les zones non endémiques, l'entrée d'équidés est étroitement surveillée vis-à-vis du statut piroplasmosique de l'animal. Actuellement, les pays qui restreignent l'entrée aux chevaux sérologiquement positifs sont : les Etats-Unis, le Canada, l'Australie, le Japon, le Mexique et le Brésil [35].

Un cheval séropositif à *Babesia caballi* est mis en quarantaine dans le pays où il se trouve. Il est autorisé à rentrer aux Etats-Unis qu'après avoir subi un traitement adéquat et une séroconversion

avec un test négatif avant de pouvoir être exporté. Un cheval séropositif à *Theileri equi* se voit tout simplement son accès refusé aux Etats-Unis [35 ; 58].

Si un cheval domestique est retrouvé séropositif pour *Babesia caballi* sur le territoire des Etats-Unis, alors le cheval peut être autorisé à rester s'il est mis en quarantaine et qu'un traitement adéquat est mis en place. Par contre s'il est séropositif à *Theileria equi*, le cheval doit être exporté ou euthanasié [35 ; 58].

## ***B. Prévention en zone endémique***

Les tentatives d'élimination complète du parasite de l'organisme devraient être évitées en zone endémique ; seuls les chevaux présentant des formes chroniques ou aiguës doivent être traités contre la piroplasmose. Il est en effet judicieux de maintenir un faible parasitémie à *Theileria equi* pour stimuler la production d'anticorps contre ce dernier et garder le cheval dans un état de prémunition et ainsi limiter les épidémies de piroplasmose équine en zone endémique [35].

## ***C. Lutte contre les tiques***

On peut limiter la présence de l'hôte intermédiaire des tiques (rongeurs, petits carnivores, insectivores) aux abords des lieux de résidence des équidés ce qui limiterait en conséquence la présence de tiques.

Des mesures hygiéniques peuvent être mises en place pour tenter de limiter la reproduction des tiques. Il faut entretenir les pâtures ; tailler les arbres et les arbustes, débroussailler, enlever les mauvaises herbes que les chevaux ne mangent pas.

Bien qu'il semble illusoire d'espérer éradiquer la population de tiques infectées. On peut tenter de limiter le contact entre les tiques et les équidés par l'utilisation d'acaricides [24]. Il n'existe pas en France de principe actif possédant une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour l'élimination des tiques sur les équidés mais certains produits sont utilisés hors AMM.

On peut utiliser par exemple le Butox®7.5 (suspension aqueuse de Deltaméthrine à 7.5%), une thèse réalisé par Sylvain Buge [130] montre qu'il est bien toléré pour une certaine dose : il faut diluer 60mL de butox®7.5 dans 180mL d'eau et l'appliquer à l'éponge sur le dos de l'animal toutes les deux à trois semaines. De l'acadrex® peut aussi être utilisé.

Il faut faire attention à l'utilisation systématique d'acaricides et en faire une utilisation raisonnée car les tiques peuvent développer une résistance aux acaricides ce qui pose un sérieux problème dans les zones sévèrement infectés. L'utilisation d'acaricides doit se faire en fonction de la saison ou la tique est présente mais aussi sur des animaux qui ne sont pas déplacés [24].

Une autre mesure est envisageable mais contraignante et pas toujours réalisable, c'est le retrait des tiques présentes sur l'équidé de façon régulière, la tique étant infectante qu'après plusieurs jours sur l'équidé. Il faudrait donc une surveillance journalière et minutieuse de chaque équidé.

## D. Prophylaxie vaccinale

Bien qu'il existe aujourd'hui un vaccin pour les chiens et malgré la mise en œuvre de nombreux essais pour les équidés, il n'existe pas de nos jours de vaccins utilisables pour protéger de la piroplasmose équine [7]. Des recherches sont en cours, notamment suite à la découverte d'une immunité croisée entre *Theileria equi* et *Ehrlichia equi* [24 ; 65].

Un problème se pose néanmoins, si un vaccin est mis sur le marché, entre la détection des animaux possédant des anticorps non vaccinaux et des animaux ayant des anticorps vaccinaux.

Cela limiterait les mouvements de chevaux, à moins de pouvoir différencier les anticorps vaccinaux des anticorps non vaccinaux, car plusieurs pays demandent un contrôle sérologique avant l'importation d'un équidé [65].

## E. Prophylaxie médicale

La prophylaxie médicale consiste en un traitement préventif contre la piroplasmose équine sur un cheval non infecté. Cette pratique est peu recommandée surtout en zone endémique. Elle peut éventuellement être envisagée pour un cheval qui doit séjourner en zone endémique ou suspecte. Il ne faut pas oublier que le traitement à base d'Imidocarbe n'est pas anodin et que des résistances existent déjà.

Le protocole suivant est parfois utilisé : utilisation d'Imidocarbe à 2mg/Kg et réalisation de deux injections à 72h d'intervalle. Cela permettrait d'avoir une protection pendant deux à trois semaines [132]. Par contre cette molécule aurait une action préventive uniquement contre les infections à *Babesia caballi* mais pas contre celles à *Theileria equi* [131].

D'après Singh [131], une injection de diacéturate de diminazène (BERENIL ND) à la dose de 12mg/Kg par voie intramusculaire profonde protégerait un mois contre les infections à *Babesia caballi* et *Theileria equi*.

### CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE :

Les piroplasmoses équines sont causées par *Babesia caballi* ou *Theileria equi* et sont transmises par une tique dure ixodidé. Il est estimé que plus de 90 % des chevaux du monde vivent en zones endémiques et il existe différentes formes cliniques de la maladie allant de la forme aiguë au porteur sain. Les symptômes sont généralement peu spécifiques et il est important de réaliser un diagnostic différentiel. Suite à une suspicion clinique et paraclinique, il est recommandé de réaliser une sérologie ou une PCR pour obtenir un diagnostic de certitude.

Le traitement de la piroplasmose équine est délicat et on ne dispose pas aujourd'hui de molécules efficaces pour éliminer totalement ces hémoparasites et plus particulièrement *Theileria equi*. Il n'existe pas aujourd'hui de vaccin contre la piroplasmose équine.

Au vu des différents tableaux cliniques engendrés par *Babesia caballi* et *Theileria equi* on peut se poser la question quant au terme à utiliser : une ou des piroplasmoses ?

La deuxième partie de ce manuscrit est une étude rétrospective sur des formes chroniques et pas toujours très caractéristiques de piroplasmose. Diverses données ont été recueillies pour 173 chevaux suspects, présentés en consultation à la Clinéquine de VetAgro-Sup, dont 92 ont présenté une PCR piroplasmose positive.

# DEUXIEME PARTIE : ETUDE RETROSPECTIVE SUR DES CHEVAUX SUSPECTS CLINIQUEMENT ET TESTES POSITIFS A LA PIROPLASMOSE

---

Comme on l'a vu dans la partie précédente, la piroplasmose équine peut prendre différentes formes cliniques. La présence de porteurs sains est courante surtout lorsque le cheval est infecté par *Theileria equi*.

Il a été observé ces dernières années à la Clinéquine de plus en plus fréquemment des chevaux présentant des signes frustrés ou non habituels de la maladie. La Clinéquine est la clinique vétérinaire équine de l'école vétérinaire de Lyon (VetAgro-Sup). Réaliser une étude rétrospective sur des chevaux atteints de piroplasmose et étudier les formes atypiques de la maladie nous a semblé important pour caractériser ces cas et aider le clinicien confronté à de tels profils cliniques.

Les objectifs, les matériels et les méthodes, les résultats et la discussion de ces résultats sont décrits dans la suite de ce manuscrit.

## I. OBJECTIFS DE L'ETUDE

L'objectif de cette étude était d'étudier rétrospectivement les paramètres cliniques et hématobiochimiques des chevaux cliniquement suspects et testés positifs pour la piroplasmose suite à un test PCR.

Le principal objectif était de caractériser des formes atypiques de la maladie qui semblent se développer ces dernières années à l'occasion d'un stress par exemple.

Un deuxième objectif était de suivre ces chevaux afin de dénombrer les récurrences et les réactions au traitement.

## II. MATERIELS ET METHODES

### A. Critères d'inclusions dans l'étude

Les chevaux inclus dans l'étude ont été présentés à la Clinéquine du campus vétérinaire de Vetagro-sup de Marcy l'Etoile pour des motifs de consultations divers entre janvier 2011 et décembre 2013. Suite à la consultation d'admission, les chevaux peuvent être également hospitalisés.

Suite à des éléments de suspicion cliniques ou paracliniques, tous les chevaux ayant subi un test PCR pour l'un des deux hémoparasites impliqués dans la piroplasmose équine, *Theileria equi* ou

*Babesia caballi*, sont inclus dans l'étude que le résultat soit positif ou négatif. Par ailleurs, la grande majorité des chevaux ont également subi un test serologique comme nous en discuterons plus loin.

Si le résultat du test PCR revient positif pour *Babesia caballi* ou pour *Theileria equi* ou pour les deux, le cheval est classé dans le groupe qu'on appellera par la suite : groupe « piroplasmose positif ».

Si le résultat du test PCR revient négatif pour *Babesia caballi* et *Theileria equi*, alors le cheval sera classé dans le groupe qu'on appellera par la suite groupe « témoin ».

Il faut bien noter que dans les deux groupes, nous n'avions pas à faire à des animaux sains au départ. Il y a eu dans les deux groupes des éléments de suspicion de piroplasmose à un moment donné, qui ont motivé la réalisation d'un test PCR. De plus les animaux que nous recevons en consultation sont référés. La symptomatologie « classique » de piroplasmose est peu rencontrée dans notre étude car les vétérinaires de terrain savent en général bien les gérer. Il y a donc un biais de population.

Au total 173 chevaux ont été inclus dans notre étude. Parmi ces 173 chevaux, 92 font partie du groupe piroplasmose positif et 81 font partie du groupe « témoin ». Deux poulains, de dix jours et d'un mois et demi, sont inclus dans l'étude mais tous les paramètres ne sont pas pris en compte pour ces deux derniers. En effet leurs paramètres hémato-biochimiques n'ont pas été inclus dans notre tableau récapitulatif car les normes sont différentes entre les poulains jusqu'à 12 mois et les adultes.

Pour tous les chevaux du groupe piroplasmose positif et du groupe témoin un dossier clinique et des prises de sangs ont été réalisées nous permettant ainsi de réaliser une étude rétrospective sur les caractéristiques du cheval, les symptômes présentés et les paramètres hémato-biochimiques.

Un suivi dans le temps des chevaux du groupe piroplasmose positif a aussi été entrepris. Tous les propriétaires des chevaux appartenant à ce groupe ont été rappelés pour dénombrer les récurrences de la maladie mais aussi les réactions secondaires au traitement.

## ***B. Réalisation des examens complémentaires***

### **1. Prise de sang**

Chaque cheval inclus dans l'étude a subi une prise de sang à l'aide d'un vacutainer® ou d'une seringue et d'une aiguille et le sang est conservé dans un tube à prélèvement de 5mL.

Pour les analyses hématologiques, le sang est conservé dans un tube à prélèvement contenant de l'EDTA jusqu'à son analyse. Pour les analyses biochimiques, le sang est conservé dans un tube à prélèvement contenant soit de l'héparine soit sur un tube sec jusqu'à son analyse.

Les analyses sanguines sont réalisées le jour même du prélèvement.

### **2. PCR**

Les analyses PCR sont réalisées après extraction de l'ADN à partir d'échantillons de sang total conservé sur tube sec au Laboratoire Départemental du Rhône (LVD 69).



Le protocole utilisé consiste en une PCR en temps réel par la méthode d'hydrolyse de sondes fluorescentes (Taqman assay). Le protocole détaillé est décrit dans la 1<sup>ère</sup> partie de ce manuscrit dans le paragraphe des techniques diagnostiques concernant la PCR en temps réel.

## ***C. Recueil des données***

Le recueil des données a été réalisé à partir des dossiers cliniques des chevaux

### **1. Etude des dossiers cliniques des chevaux testés positifs à la piroplasmose.**

#### *a. Sélection des dossiers*

Les chevaux ayant subi un test PCR positif pour la piroplasmose entre janvier 2011 et décembre 2013 ont été identifiés grâce au logiciel informatique Clovis (logiciel développé par P. Mougel), qui est une base de données recensant tous les animaux vus en consultation à l'école vétérinaire de Lyon. Une fonction de ce logiciel permet de faire une recherche par type d'examen complémentaire réalisé. Pour accéder à nos cas nous avons fait une recherche pour l'examen PCR *Theileria equi* et une recherche pour l'examen PCR *Babesia caballi*. On a ainsi obtenu la liste des chevaux répondant aux critères d'inclusions de l'étude.

#### *b. Etude des dossiers cliniques*

La clinique équine de VetAgro-Sup ou Clinéquine est une structure disposant de 10 internes, un à deux résidents en médecine, de trois professeurs diplômés de médecine interne ; mais aussi de nombreux étudiants en 3<sup>ème</sup>, 4<sup>ème</sup> ou 5<sup>ème</sup> année. Ce grand nombre de personnes travaillant conjointement permet de tenir à jour des dossiers cliniques qui sont très complets. Chaque cheval possède un dossier papier et un dossier informatique sur Clovis.

Dans le dossier informatique apparaissent : les comptes-rendus d'admission et d'hospitalisation, la feuille de sortie, les noms des praticiens ayant géré le cas, la facture, les résultats des examens complémentaires réalisés (numération formule, biochimie, analyses sérologiques, analyses PCR, etc...).

Dans le dossier papier sont recueillis : l'anamnèse et les commémoratifs, l'examen clinique d'admission, le suivi clinique journalier d'hospitalisation (examens cliniques, liste de problèmes, feuilles d'instructions), les résultats des examens complémentaires, la feuille de suivi d'anesthésie, le rapport de chirurgie, les traitements et la conduite à tenir par les propriétaires lors de la sortie de l'animal.

Pour réaliser notre étude, on s'est basé sur ces dossiers pour récupérer les informations propres au cheval, les symptômes présentés et les paramètres hémato-biochimiques. Toutes les données ont été regroupées au sein d'un tableau récapitulatif.

### *c. Prise de nouvelles*

Nous avons ensuite voulu suivre les chevaux de notre groupe « piroplasmose positif ». Chaque propriétaire d'un cheval ayant eu un test PCR positif pour la piroplasmose a été appelé courant mars 2014, les numéros de téléphones se trouvant dans le logiciel informatique Clovis.

Nous avons posé plusieurs questions au propriétaire :

- Comment va le cheval depuis sa sortie ?
- Avez-vous réalisé le traitement à base d'Imidocarbe recommandé à la sortie de votre cheval ? (s'il - n'avait pas été fait à la Clinéquine)
- Constatez-vous une amélioration clinique de votre animal suite au traitement ?
- Le traitement a-t-il été efficace du premier coup ?
- Avez-vous observé des réactions secondaires au traitement ?
- Avez-vous réalisé des analyses de contrôle 3 semaines après le traitement ?

## **2. Réalisation d'un tableau récapitulatif servant de base pour l'étude**

### *a. Information propre au cheval.*

Pour chaque cheval, il a été répertorié dans le tableau son nom, son âge, son sexe sa race et son utilisation. Pour permettre l'étude statistique, certains paramètres ont été regroupés et des codes ont été mis en place dans le tableau.

Pour l'âge, les chevaux de moins de 5 ans, les chevaux entre 5 et 13 ans et les chevaux de plus de 13 ans ont été regroupés dans trois classes différentes. Ces classes ont ensuite été codées dans le tableau récapitulatif de la façon suivante :

- 0 = chevaux de moins de 5 ans
- 1 = chevaux entre 5 et 13 ans
- 2 = chevaux de plus de 13 ans

Le sexe a été codé dans le tableau récapitulatif pour permettre l'étude statistique :

- 0 = hongre
- 1 = jument
- 2 = mâle

Les chevaux ont aussi été regroupés en grand type de races tels que les poneys, les chevaux légers, les chevaux de selles et les chevaux lourds. Ce paramètre a aussi été codé dans le tableau récapitulatif de la façon suivante :

- 0 = poneys
- 1 = chevaux légers
- 2 = chevaux de selles
- 3 = chevaux lourds

Les chevaux ont été classés selon leur type d'utilisation et le paramètre a été codifié dans le tableau.

- 0 = pas d'activité
- 1 = sport
- 2 = loisir
- 3 = reproduction

### *b. Paramètres concernant l'anamnèse et l'examen clinique*

Pour chaque cheval on a aussi répertorié dans le tableau, s'il a été hospitalisé, s'il a subi une chirurgie, s'il avait des antécédents de piroplasmose et son motif de consultation. Concernant les symptômes on s'est intéressé à ceux les plus communément rencontrés lors de piroplasmose ; la présence d'anémie, la couleur des muqueuses, la présence d'œdème et la température maximale.

Pour l'hospitalisation, le passage en chirurgie, les antécédents de piroplasmose et la présence d'œdèmes où la réponse est oui ou non pour chaque cheval, le codage dans le tableau est le même :

0 = non

1 = oui

Les motifs de consultations ont été classés en 5 groupes qui ont ensuite été codifiés pour permettre de renseigner le tableau récapitulatif :

1 = Baisse de performance, amaigrissement ou abattement

2 = Coliques

3 = Hyperthermie

4 = Piroplasmose

5 = Autre

La couleur des muqueuses a été regroupée en trois classes dont voici les codifications utilisées dans le tableau récapitulatif :

0 = muqueuses roses

1 = muqueuses congestionnées

2 = muqueuses anormales : muqueuses pâles ou muqueuses ictériques.

Pour la température, les valeurs ne sont pas codifiées car c'est une variable quantitative. La température notée dans le tableau correspond à la température maximale atteinte par le cheval au cours de son hospitalisation.

### *c. Paramètres hémato-biochimiques*

Nous avons ensuite répertorié pour chaque cheval les valeurs hémato-biochimiques qui ont été réalisées durant son hospitalisation. Tous les paramètres n'ont pas pu être réalisés pour chaque cheval, lorsqu'un paramètre est absent, il est codifié par NA dans notre tableau récapitulatif.

Nous avons relevé les valeurs suivantes, pour la formule rouge : globules rouges, hémoglobine, hématocrite et plaquettes, pour la formule blanche : globules blancs, polynucléaires neutrophiles et lymphocytes, pour la biochimie : bilirubine totale, bilirubine directe, protéines totales, albumine, fibrinogène, urée, créatinine, ASAT, GGT, GLDH, créatinine kinase et substance amyloïde A (SAA).

Pour les globules rouges, deux colonnes ont été réalisées dans le tableau, une avec les valeurs exactes obtenues à la prise de sang et une colonne où on a classé les globules rouges en regroupant les valeurs par groupes de la façon suivante :

0 =  $< 5 \times 10^6/mm^3$

1 = [5-6[ : les valeurs de égales à 5 sont comprises mais celles égales à 6 sont exclues

2 = [6-6.5[ : les valeurs de égales à 6 sont comprises mais celles égales à 6.5 sont exclues

3 =  $\geq 6.5 \times 10^6/mm^3$

Toutes les autres valeurs hémato-biochimiques sont des variables quantitatives ; les valeurs ne sont pas codifiées et sont laissées telles quelles dans notre tableau récapitulatif.

#### d. Statut piroplasmosique.

Pour terminer, nous avons noté dans notre tableau le résultat du test PCR et nous l'avons codifié de la façon suivante :

-Pour *Theileria equi* :

0= test PCR revenu négatif pour *Theileria equi*

1= test PCR revenu positif pour *Theileria equi*

-Pour *Babesia caballi*

0= test PCR revenu négatif pour *Babesia caballi*

1= test PCR revenu positif pour *Babesia caballi*

Nous avons finalement créé une dernière colonne regroupant les informations suivantes :

0= test PCR négatif pour *B. caballi* et *T.equi* = appartenance au groupe témoin

1= test PCR négatif pour *B. caballi* et/ou *T.equi* = appartenance au groupe piroplasme positif

Quand il y a aussi eu une sérologie, les résultats sont aussi notés dans le tableau.

#### e. Prise nouvelles

Les informations recueillies suite à la prise de nouvelles courant mars 2014 ont été regroupées et codifiées dans un deuxième tableau selon les critères suivants :

- Présence de signes de piroplasme en mars 2014 (oui = 1 / non =0)

- Récidive de piroplasme (oui=1 / non=0)

- Y a-t-il eu des analyses (oui=1 / non=0)

- Nombre de traitement

- Effet secondaires (oui=1 / non=0)

### III. ANALYSE STATISTIQUE

Une fois toutes les données réunies dans un tableau récapitulatif dans le logiciel Excel, une analyse statistique a été réalisée dans le logiciel R. Une étude descriptive a d'abord été réalisée suivi d'une étude statistique univariée.

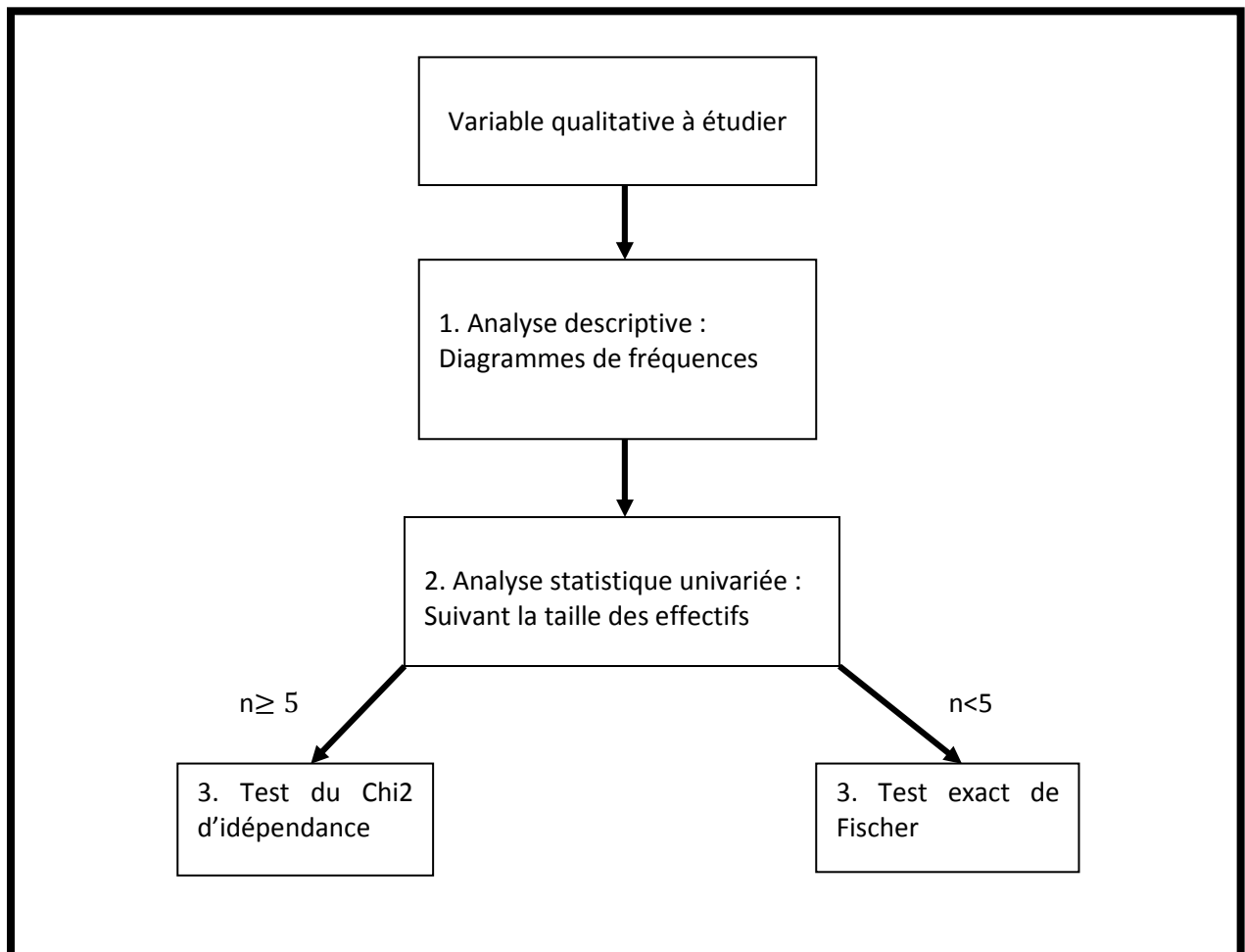
Pour réaliser cette étude, il est important de distinguer les variables qualitatives des variables quantitatives. Une variable est dite qualitative si elle est décrite par une famille de modalités possibles. Lorsque que le caractère est quantifiable, on parle de variable quantitative. Les variables de notre étude sont classées dans le tableau suivant :

**Tableau 7 : Variables qualitatives et quantitatives analysées dans notre étude**

VARIABLE QUALITATIVE	VARIABLE QUANTITATIVE
- Classes d'âges - Sexe - Race - Utilisation - Motif de consultation - Couleur des muqueuses - Présence d'œdèmes - Hospitalisation - Chirurgie - Résultat du test PCR	- Température  - Valeurs de la formule rouge : globules rouges, hémoglobine, hématocrite, plaquettes - Valeurs de la formule blanche : globules blancs, polynucléaires neutrophiles, lymphocytes  - Valeurs biochimiques : bilirubine totale, bilirubine directe, protéines totales, albumine, fibrinogène, urée, créatinine, ASAT, GGT, GLDH, créatinine kinase, sérum amyloïde A

## A. Analyse univariée des variables qualitatives

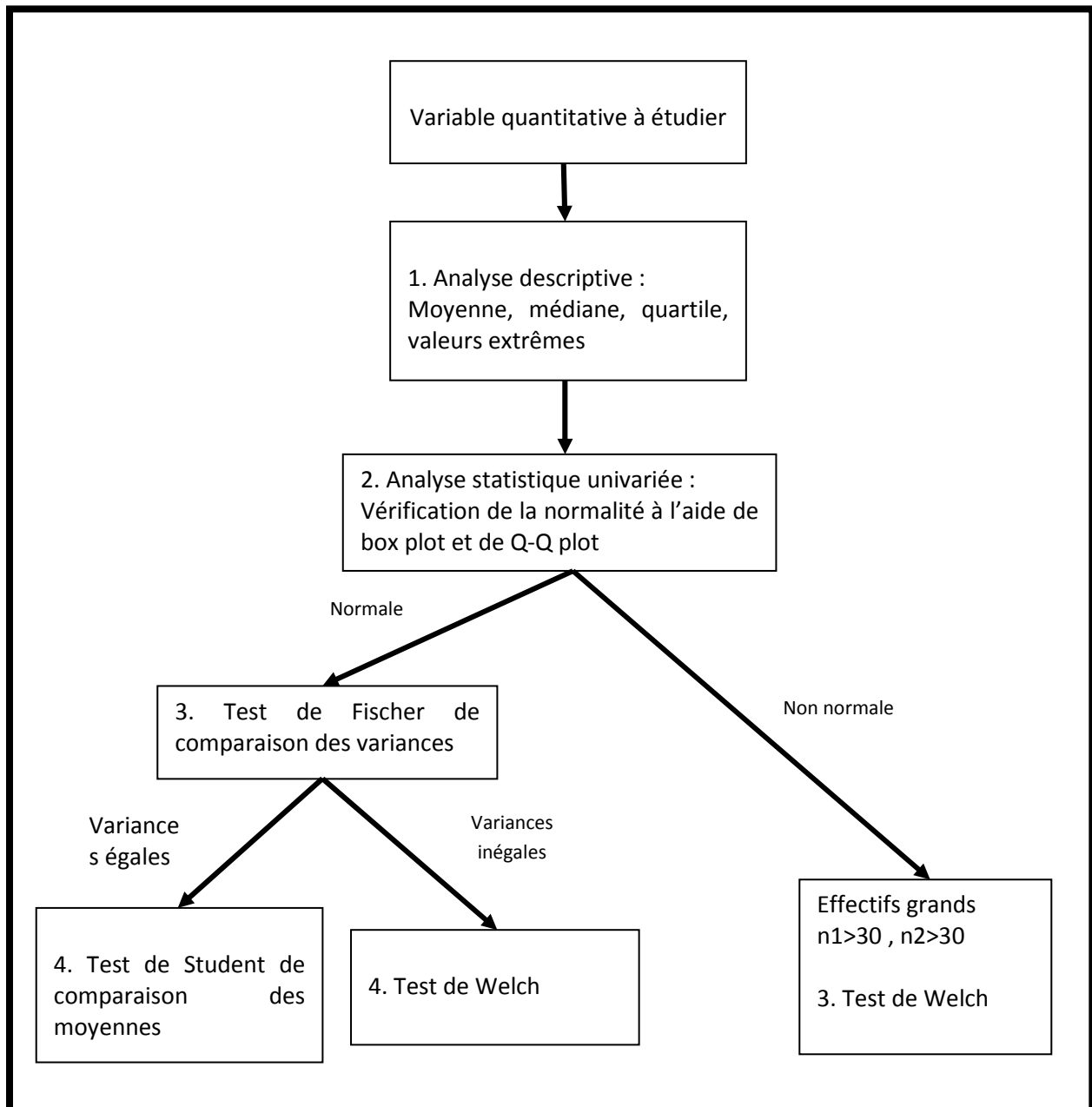
La démarche statistique est décrite par la figure 18. Compte tenu du fait que nos effectifs sont supérieurs à 5 individus, c'est le test d'indépendance du Chi2 que l'on utilise.



**Figure 18** : Démarche statistique pour l'analyse univariée d'une variable qualitative

## B. Analyse univariée des variables quantitatives

La démarche statistique est décrite par la figure 19 :



**Figure 19 :** Démarche statistique pour l'analyse univariée d'une variable quantitative

Nous avons utilisé majoritairement le test de Student pour comparer les moyennes. Lorsque que la différence entre les moyennes du groupe témoin et du groupe piroplasmose positif est significative pour une valeur quantitative étudiée, nous avons ensuite réalisé des tests du Chi2 d'indépendance en cherchant la valeur seuil à partir de laquelle la différence est significative entre les deux groupes pour la valeur étudiée. Pour nous aider à trouver la valeur seuil, nous utilisons au départ la limite des valeurs usuelles du paramètre étudié.

### ***C. Interprétation des tests.***

Pour les variables qualitatives, des tests de Chi2 ont été réalisés. Pour chaque variable quantitative la normalité des distributions ont été vérifiées à l'aide d'un box plot. Des tests de Student ont ensuite été réalisés pour toutes les variables. C'est le test le moins sévère, donc s'il n'est pas significatif, le test de Welch ne le sera pas non plus. Pour les variables où le test de Student se révèle significatif, si on ne peut pas rapprocher la distribution de la variable étudiée à celle d'une loi normale alors on réalise un test de Welch car nos effectifs sont grands.

Chaque test réalisé nous donne une valeur du degré de signification p ou p-value (en anglais). Pour le test du Chi2 : si  $p < 0.05$ , on conclut à une différence significative entre les distributions de la variable étudiée dans le groupe témoin et dans le groupe piroplasmose positif. Pour le test de student ou le test de Welch, si  $p < 0.05$ , on conclut à une différence significative entre les moyennes des deux groupes étudiés.

Une variable quantitative ayant un test de Welch ou de Student significatif nous permet de dire qu'il y a une différence significative entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif, mais nous ne savons pas à partir de quelle valeur cette différence est significative. Nous avons donc essayé de trouver ensuite une valeur seuil de significativité en réalisant deux classes autour d'une valeur qu'on suppose seuil, ce qui transforme notre variable quantitative en variable qualitative et en effectuant ensuite des tests de Chi2 sur ces classes.

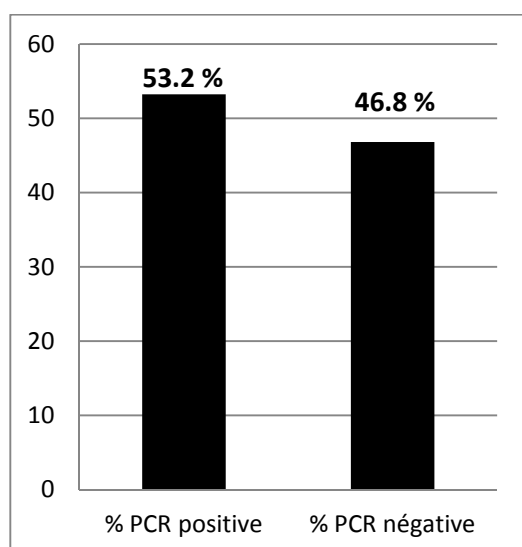
Pour trouver ces valeurs seuils nous nous sommes basés sur la limite haute ou basse des valeurs usuelles de nos variables, en fonction de la tendance de la variation données par la comparaison de nos moyennes. Si le test était significatif, nous en restions là, mais si le test n'était pas significatif, on a tenté de trouver une autre valeur seuil en allant dans le sens de la variation (par exemple on cherche une valeur inférieure à la valeur usuelle basse pour les globules rouges qui ont tendance à diminuer dans les cas de piroplasmose et une valeur supérieure à la valeur usuelle haute des ASAT qui ont tendance à augmenter en cas d'anomalie).

## IV. RESULTATS

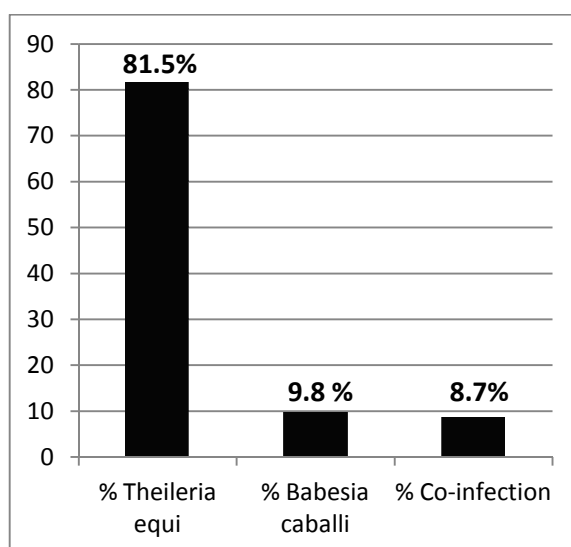
### A. Statut piroplasmosique

L'étude comporte 173 chevaux parmi lesquels, 92 (53.2%) sont PCR piroplasmosose positifs (pour *Theileria equi* et/ou *Babesia caballi*) et 81 (46.8%) sont PCR piroplasmosose négatif (pour *Theileria* et *Babesia*).

Parmi les 92 chevaux ayant un test PCR positif ; 75 chevaux (81.5%) sont positifs à *Theileria equi*, 9 (9.8%) sont positifs à *Babesia caballi* et 8 (8.7%) sont positifs pour les deux parasites à la fois.



**Figure 20:** Résultats des tests PCR pour la piroplasmosose sur les 173 chevaux inclus dans l'étude



**Figure 21:** Répartition de *Babesia caballi* et *Theileria equi* pour les tests PCR positifs.

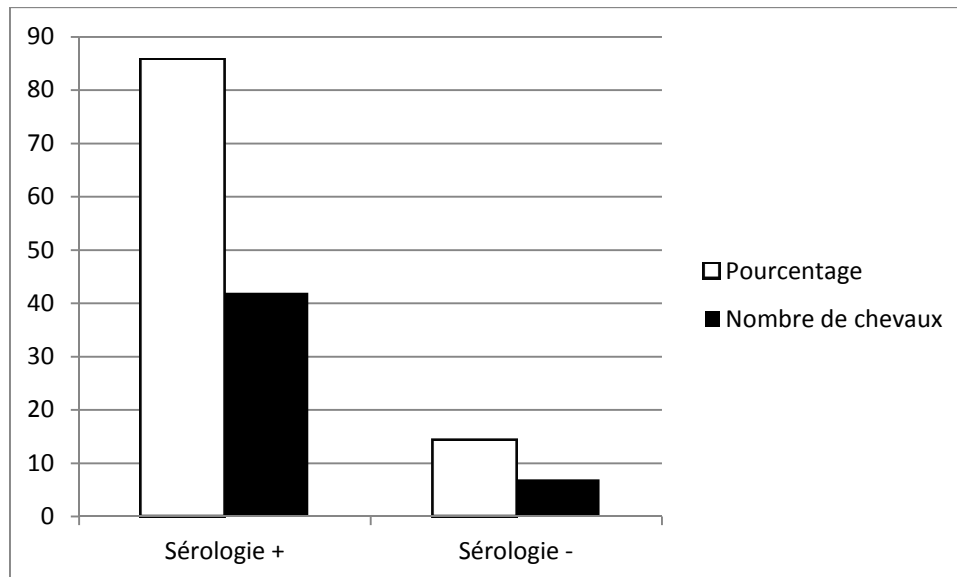
→*Theileria equi* présente une prévalence plus élevée que *Babesia caballi*.



Sur les 92 chevaux PCR positifs, certains ont aussi eu des sérologies pour *Theileria equi* et *Babesia caballi*.

➤ Chevaux positif à la PCR pour *Theileria equi*

Parmi les 83 chevaux PCR positif pour *Theileria equi*, 49 chevaux ont aussi eu un test sérologique pour *T. equi*. Parmi ces 49 chevaux, 42 soit 85.7% ont aussi une sérologie positive pour *T. equi* et 7 soit 14.3% ont par contre une sérologie négative pour *T. equi*.



**Figure 22 : Résultats des sérologies pour *T. equi* chez les chevaux PCR *T. equi* positifs**

Parmi nos 42 positifs à la sérologie de *Theileria equi*, 22 ont une sérologie positive pour une dilution de 1/80 ou 1/160 et les 20 autres ont une sérologie positive pour une dilution de 1/320 ou plus.

Il faut noter qu'il n'y a pas eu de sérologie réalisée chez les 34 autres chevaux PCR *T. equi* positifs.

➤ Chevaux positifs à la PCR pour *Babesia caballi*

Parmi les 17 chevaux PCR positif pour *Babesia caballi*, 3 chevaux ont aussi eu un test sérologique pour *B. caballi*. Parmi ces 3 chevaux, 2 ont aussi une sérologie positive pour *B. caballi* et 1 cheval a par contre une sérologie négative pour *T. equi*.

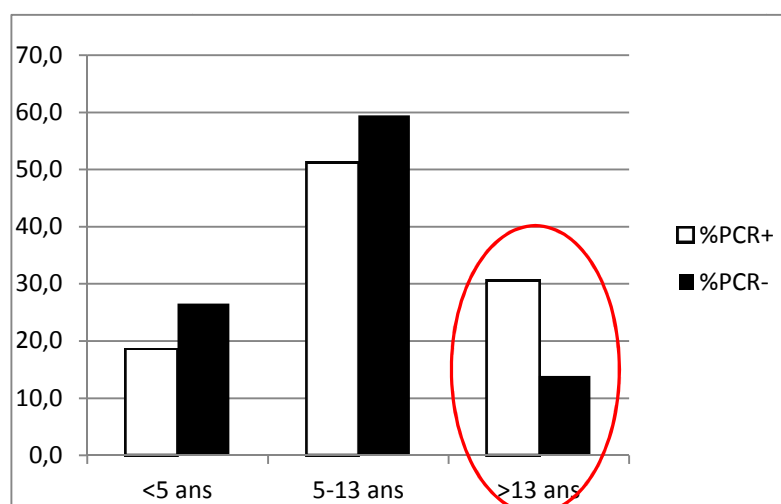
Il n'y a pas eu de sérologie chez les 14 autres chevaux PCR *B. caballi* positifs, le statut sérologique n'est donc pas connu pour ces chevaux. Etant donné le faible nombre de résultats pour *B. caballi*, ces derniers ne sont pas interprétables.

## B. Informations propre au cheval

### 1. Age

**Tableau 8** : Répartition de l'âge entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif

AGE	Effectif groupe piroplasmose +	Fréquence groupe piroplasmose +	Effectif groupe témoin	Fréquence groupe témoin
< 5 ans	17	18.5 %	21	26.6 %
[5 – 13] ans	47	51.1 %	47	59.5 %
> 13 ans	28	30.4 %	11	13.9 %



**p-value = 0.032**

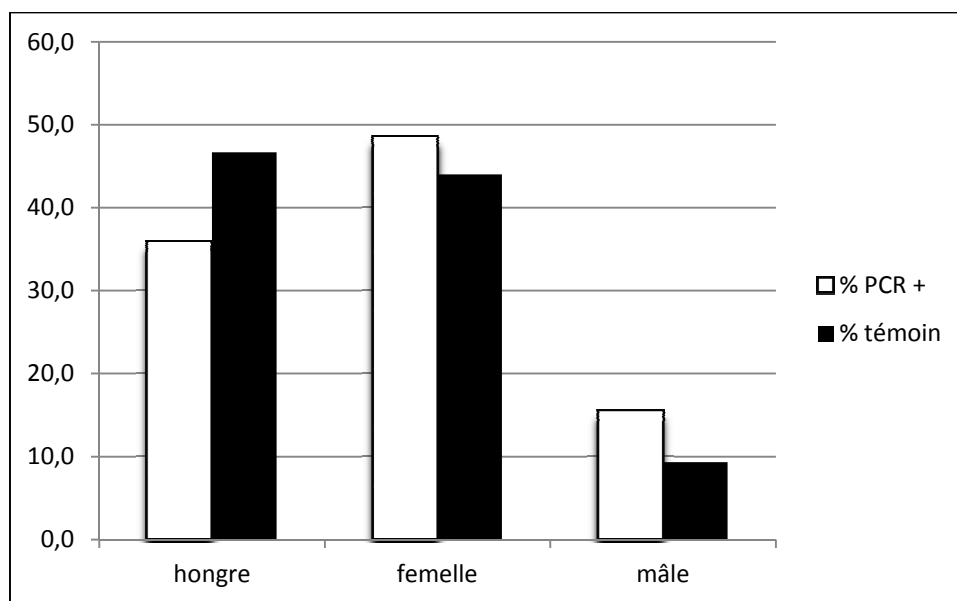
**Figure 23**: Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose + et du groupe témoin en fonction de l'âge

→ Il a été observé une différence significative entre l'âge et le statut piroplasmosique. Les chevaux de plus de 13 ans sont significativement plus atteints de piroplasmose (p-value = 0.032 < 0.05)

## 2. Sexe

**Tableau 9:** Répartition du sexe entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif

SEXE	Effectif groupe piroplasmose +	Fréquence groupe piroplasmose +	Effectif groupe témoin	Fréquence groupe témoin
<b>Hongre</b>	37	35.9 %	35	46.7 %
<b>Femelle</b>	50	48.5 %	33	44 %
<b>Mâle</b>	16	15.5 %	7	9.3 %



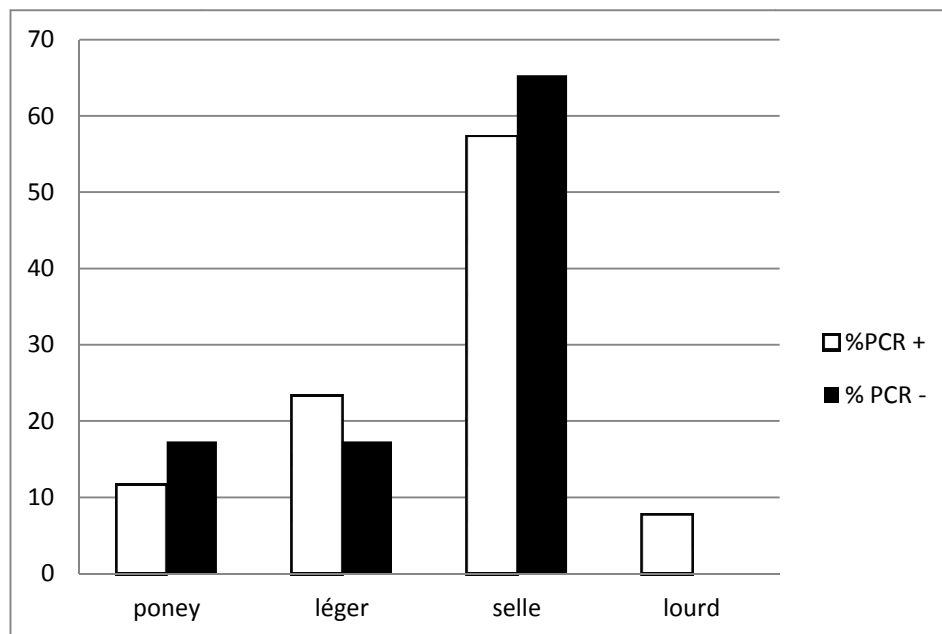
**Figure 24:** Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose positif et du groupe témoin en fonction du sexe

→ Aucune différence significative entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif n'a été constatée en fonction du sexe (p-value = 0.304).

### 3. Race

**Tableau 10 : Répartition de la race entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif**

RACE	Effectif groupe piroplasmose +	Fréquence groupe piroplasmose +	Effectif groupe témoin	Fréquence groupe témoin
Poney	12	11.6 %	1	17.3 %
Léger	24	23.3 %	13	17.3 %
Selle	59	57.3 %	49	65.4 %
Lourd	8	7.8 %	0	0 %



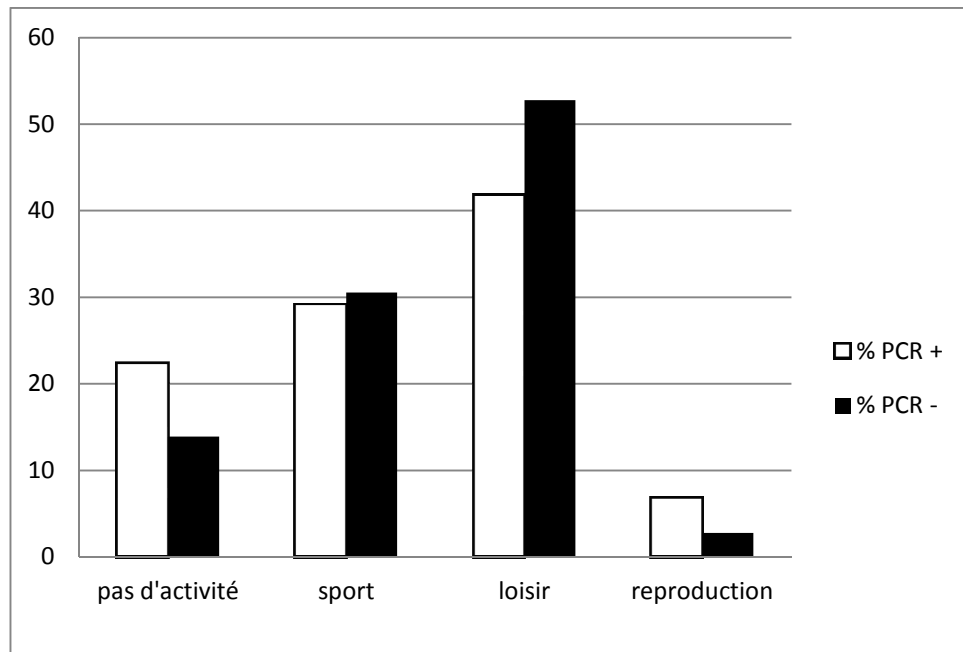
**Figure 25: Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose positif et du groupe témoin en fonction de la race**

➔ Aucune différence significative entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif n'a été constatée en fonction de la race ( $p$ -value = 0.053).

#### 4. Utilisation

**Tableau 11:** Répartition de type d'utilisation du cheval entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif

UTILISATION	Effectif groupe piroplasmose +	Fréquence groupe piroplasmose +	Effectif groupe témoin	Fréquence groupe témoin
Pas d'activité	23	22.3 %	10	13.9 %
Sport	30	29.1 %	22	30.5 %
Loisir	43	41.8 %	38	52.8 %
Reproduction	7	6.8 %	2	2.8 %



**Figure 26:** Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose positif et du groupe témoin en fonction du type d'utilisation

→ Aucune différence significative entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif n'a été constatée en fonction de l'utilisation de l'équidé (p-value = 0.304).

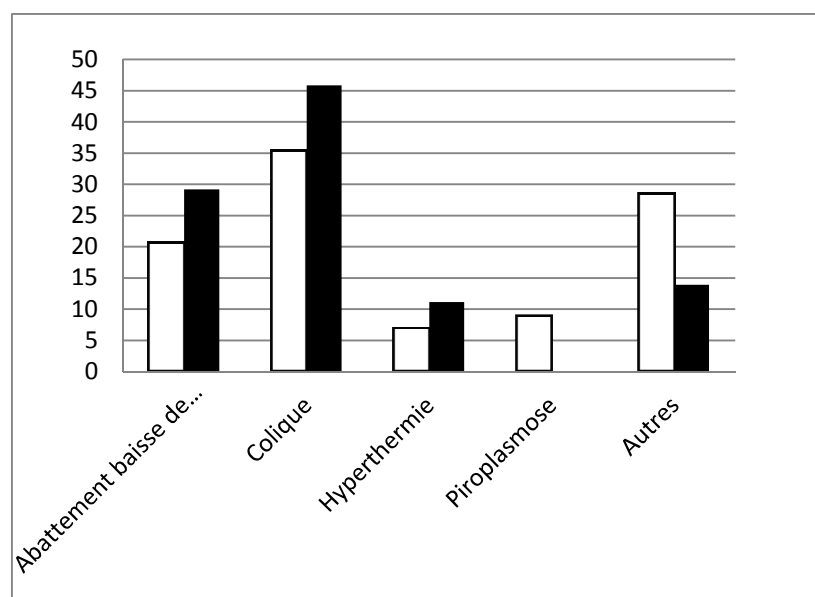
## C. Informations concernant l'examen clinique

### 1. Motif de consultation

**Tableau 12:** Répartition du motif de consultation entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif

MOTIF DE CONSULTATION	Effectif groupe piroplasmose +	Fréquence groupe piroplasmose +	Effectif groupe témoin	Fréquence groupe témoin
Abattement Amaigrissement Baisse de performances	21	21 %	21	29 %
Colique	36	35 %	33	46 %
Hyperthermie	7	7 %	8	11 %
Piroplasmose	9	9 %	0	0 %
Autre	29	28 %	10	14 %

Dans le groupe autre, on rencontre surtout des affections respiratoires, oculaires et neurologiques. On rencontre aussi des chevaux présentés pour fourbure ou plaies.



**Figure 27:** Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose positif et du groupe témoin en fonction du type d'utilisation

➔ Aucune différence significative entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif n'a été constatée en fonction du motif de consultation (p-value = 0.6171).

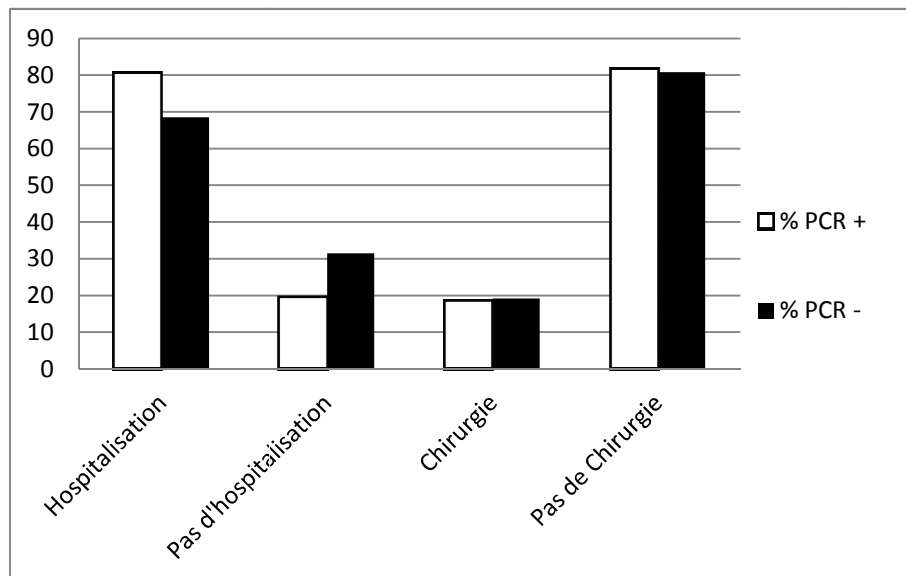
## 2. Hospitalisation / Passage en chirurgie

**Tableau 13** : Répartition de l'hospitalisation entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif

	Effectif groupe piroplasmose +	Fréquence groupe piroplasmose +	Effectif groupe témoin	Fréquence groupe témoin
Hospitalisation	83	80.6 %	50	68.5 %
Pas d'hospitalisation	20	19.4 %	23	31.5 %

**Tableau 14** : Répartition du passage en chirurgie entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif

	Effectif groupe piroplasmose +	Fréquence groupe piroplasmose +	Effectif groupe témoin	Fréquence groupe témoin
Chirurgie	19	18.5 %	14	19.2 %
Pas de chirurgie	84	81.5 %	59	80.8 %



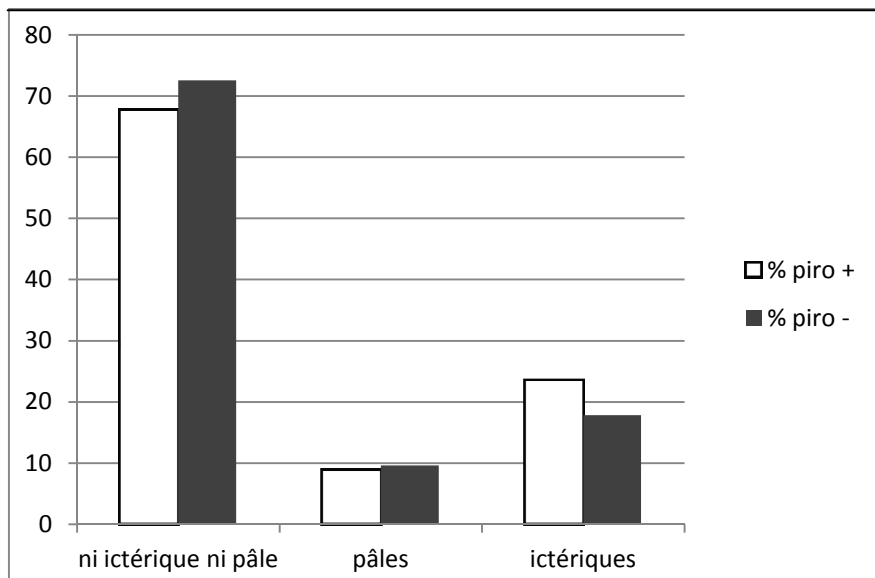
**Figure 28** : Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose + et du groupe témoin en fonction du type de l'hospitalisation et du passage en chirurgie.

→ Aucune différence significative entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif n'a été constatée entre les chevaux ayant été hospitalisés (p-value = 0.097) ou ayant subi une chirurgie (p-value = 0.058)

### 3. Couleur des muqueuses

**Tableau 15** : Répartition de la couleur des muqueuses ente le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif

MUQUEUSES	Effectif groupe piroplasmose +	Fréquence groupe piroplasmose +	Effectif groupe témoin	Fréquence groupe témoin
Ni ictériques ni pâles	69	67.7 %	53	72.6 %
Pâles	9	8.8 %	7	9.6 %
Ictériques	24	23.5 %	13	17.8 %



**Figure 29**: Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose + et du groupe témoin en fonction de la couleur des muqueuses.

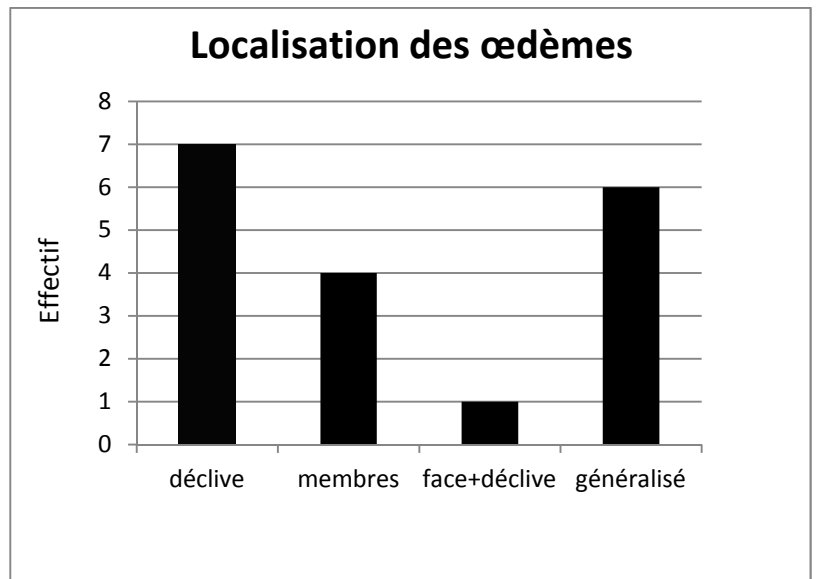
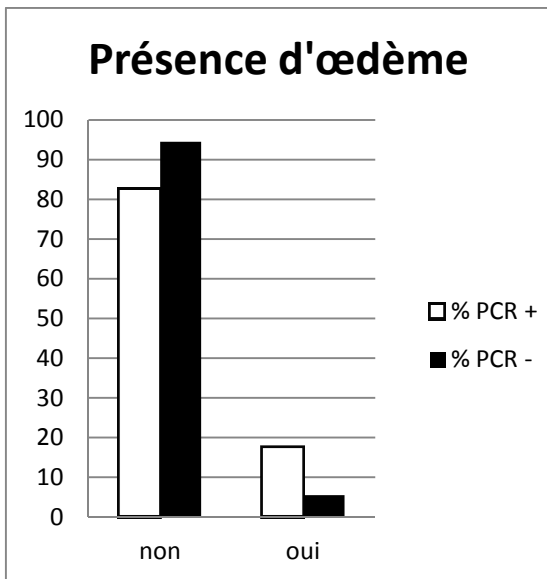
➔ Aucune différence significative entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif n'a été constatée en fonction de la couleur des muqueuses (p-value = 0.304)



#### 4. Œdème

**Tableau 16 : Répartition des œdèmes dans le groupe « témoin » et le groupe « piroplasmose positif »**

OEDEME	Effectif groupe piroplasmose +	Fréquence groupe piroplasmose +	Effectif groupe témoin	Fréquence groupe témoin
Œdème	18	17.5 %	4	5.5 %
Pas d'œdème	85	82.5 %	69	94.5 %



**Figure 30 : Fréquence des œdèmes en fonction du groupe piroplasmose positif et en fonction du groupe témoin**

**Figure 31 : Localisation des œdèmes au sein du groupe piroplasmose positif**

→ Il a été observé que l'œdème est un paramètre significatif à prendre en compte. Les chevaux étant PCR positif présentant significativement plus d'œdèmes que les chevaux du groupe témoin ( $p\text{-value} = 0.0141 < 0.05$ )

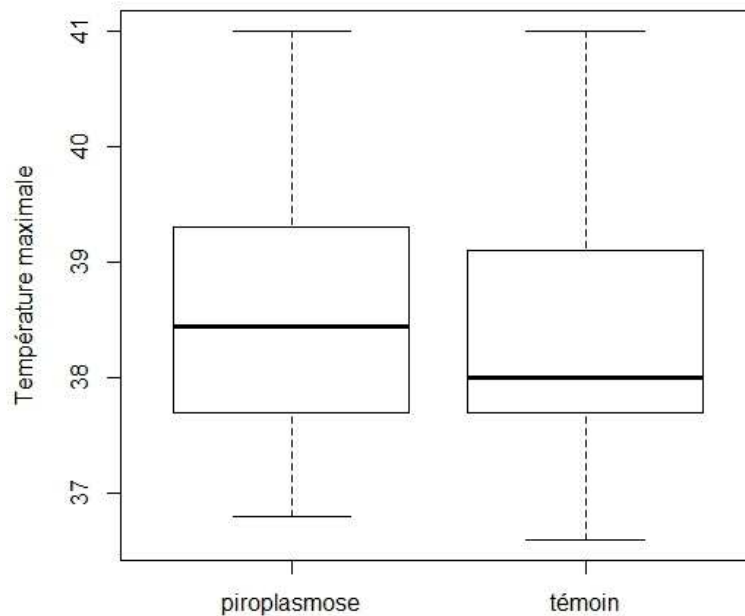
→ Les œdèmes ont ensuite été localisés ; 72.2 % de ces derniers sont généralisés (33.3%) ou situés en partie déclive (38.9 %) contre 22.2 % pour les membres.

Ce résultat est en contradiction avec ce qu'on trouve dans la littérature qui rapporte plutôt un œdème des membres et un œdème supra-orbital.

## 5. Température

**Tableau 17** : Distribution la température entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	36.80	37.70	38.45	39.30	41	38.54
<b>Piroplasmose négatif</b>	36.60	37.70	38	39.10	41	38.4



**Figure 32** : Température maximale suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non

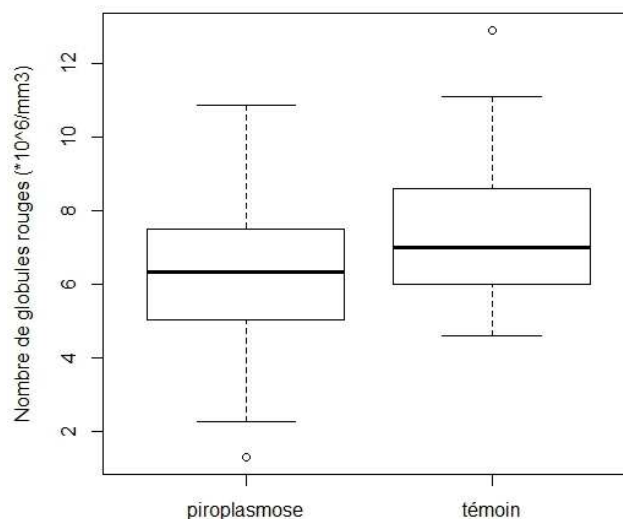
→ Il n'est pas observé d'association significative entre la température et la survenue d'une piroplasmose (p-value = 0.46 > 0.05).

## D. Paramètres hématologiques

### 1. Globules rouges

**Tableau 18** : Distribution des globules rouges ( $10^6/mm^3$ ) entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	1.300	5.030	6.340	7.505	10.880	6.282
<b>Piroplasmose négatif</b>	4.580	6.010	7.000	8.600	12.900	7.357



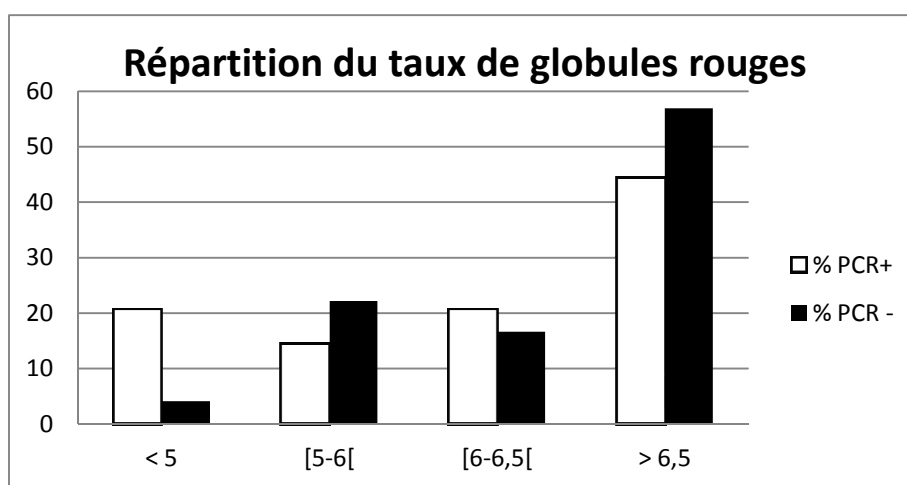
**Figure 33** : Nombre de globules rouges suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non

→ Il a été observé une association significative entre le nombre de globules rouges et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.00014 < 0.05$ ).

On a tenté de détecter un seuil de significativité, pour cela un test de Chi2 a été réalisé en classant les chevaux en fonction de la limite usuelle basse des globules rouges ( $6.5 \times 10^6/mm^3$ ).

**Tableau 19** : Répartition du nombre de globules rouges ( $10^6/mm^3$ ) entre le groupe témoin et le groupe piroplasmose positif

Globules rouges (* $10^6/mm^3$ )	Effectif groupe piroplasmose +	Fréquence groupe piroplasmose +	Effectif groupe témoin	Fréquence groupe témoin
< 5	20	20.6 %	3	4.2 %
[5-6[	14	14.4 %	16	22.2 %
[6-6.5 [	20	20.6 %	12	16.7 %
> 6.5	43	44.4 %	41	56.9 %



**Figure 34** : Fréquence des effectifs du groupe piroplasmose + et du groupe témoin en fonction du type des classes de globules rouges.

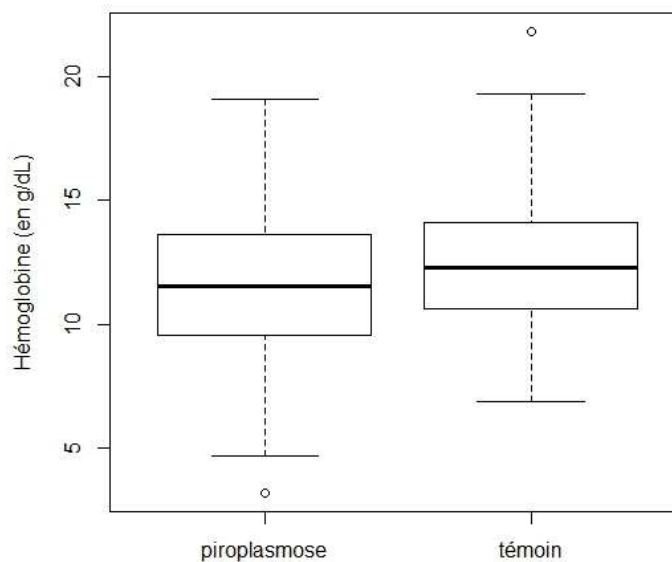
Le test du Chi 2 est réalisé en classant les chevaux en deux classes : ceux dont le nombre de globules rouges est  $\leq 6.5 \times 10^6/mm^3$  et ceux dont le nombre de globules rouges  $> 6.5 \times 10^6/mm^3$ .

→ Il a été observé une association significative pour une valeur inférieure ou égale à  $6.5 \times 10^6/mm^3$  globules rouges et la survenue d'une piroplasmose. (p-value = 0.0036 < 0.05)

## 2. Hémoglobine

**Tableau 20 : Distribution de l'hémoglobine (g/dL)**

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	3.200	9.575	11.550	13.600	19.100	11.490
<b>Piroplasmose négatif</b>	6.90	10.60	12.30	14.10	21.80	12.44



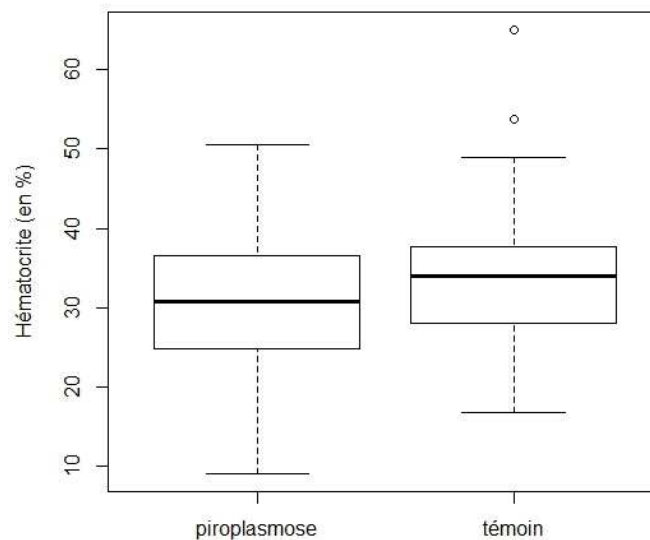
**Figure 35 : Hémoglobininémie suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non**

- ➔ Il a été observé une association significative entre l'hémoglobininémie et la survenue d'une piroplasmose (p-value = 0.03425 < 0.05).
- ➔ Il a ensuite été observé grâce à un test de Chi2 une association significative pour une valeur inférieure ou égale à 11g/L d'hémoglobine et la survenue d'une piroplasmose (p-value = 0.0396 < 0.05)

### 3. Hématocrite

**Tableau 21** : Distribution de l'hématocrite (%)

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	9.1	24.75	30.8	36.55	50.6	30.65
<b>Piroplasmose négatif</b>	16.7	28	34	37.7	65	33.7



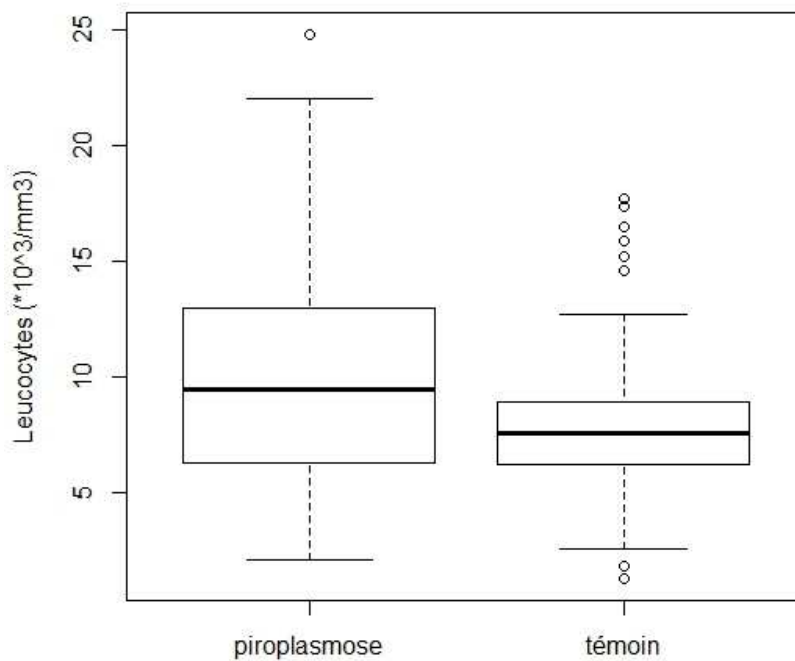
**Figure 36** : Taux d'hématocrite suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non

- Il a été observé une association significative entre l'hématocrite et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.0165 < 0.05$ ).
- Il a ensuite été observé grâce à un test de Chi2 une association significative pour une valeur inférieure ou égale à 28% d'hématocrite et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.0296 < 0.05$ )

#### 4. Leucocytes

**Tableau 22 : Distribution des globules blancs ( $10^3/mm^3$ )**

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	2.070	6.315	9.480	13.00	24.800	9.934
<b>Piroplasmose négatif</b>	1.300	6.200	7.600	8.900	17.700	7.855



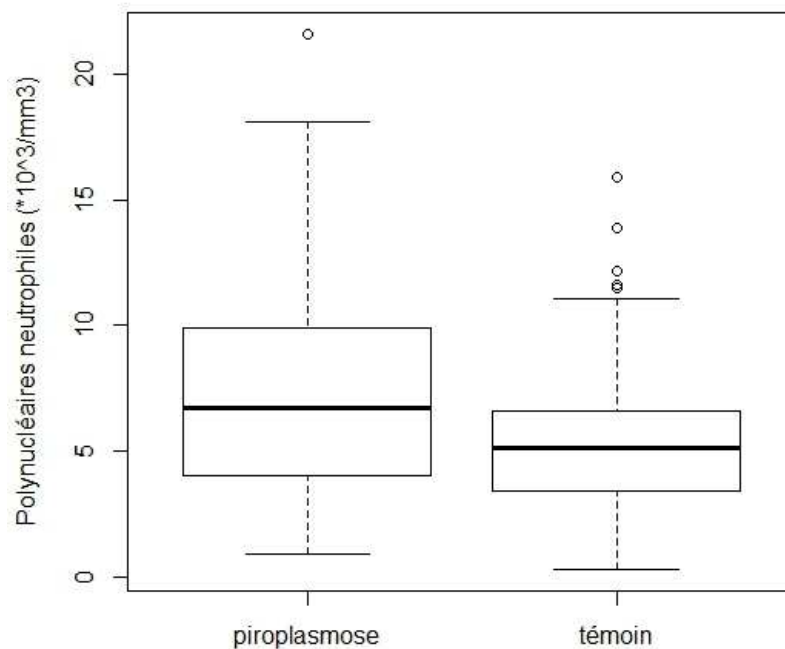
**Figure 37 : Nombre de leucocytes suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non**

- ➔ Il a été observé une association significative entre le nombre de globules blancs et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.00086 < 0.05$ ).
- ➔ Il a ensuite été observé grâce à un test de Chi2 une association significative pour une valeur supérieure ou égale à  $14 \times 10^3$  globules blancs et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.0223 < 0.05$ )

## 5. Polynucléaires neutrophiles

**Tableau 23** : Distribution des polynucléaires neutrophiles ( $10^3/mm^3$ )

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	2.070	6.315	9.480	13.00	24.800	9.934
<b>Piroplasmose négatif</b>	1.300	6.200	7.600	8.900	17.700	7.855



**Figure 38** : Nombre de PNN suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non

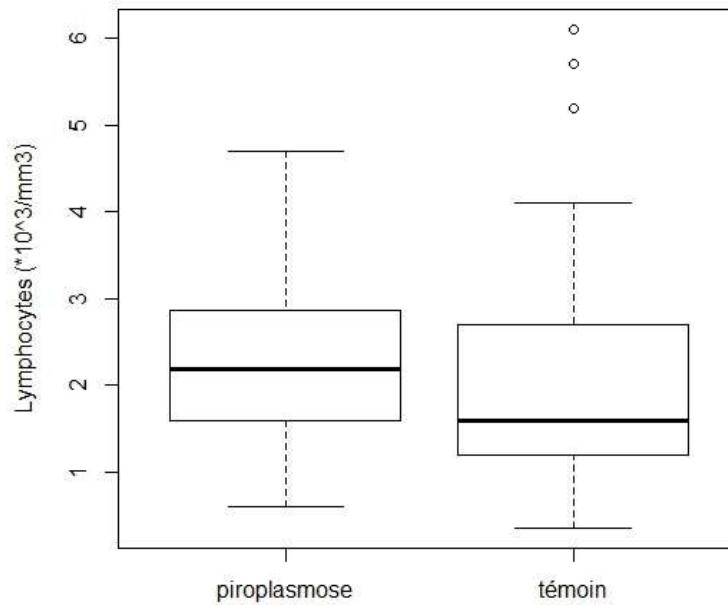
- ➔ Il a été observé une association significative entre le nombre de polynucléaires neutrophiles et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.00166 < 0.05$ ).
- ➔ Il a ensuite été observé grâce à un test de Chi2 une association significative pour une valeur supérieure ou égale à  $8.6 \times 10^3/mm^3$  polynucléaires neutrophiles et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.0296 < 0.05$ )



## 6. Lymphocytes

**Tableau 24** : Distribution des lymphocytes ( $10^3/mm^3$ )

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	0.600	1.600	2.190	2.860	4.700	2.273
<b>Piroplasmose négatif</b>	0.360	1.200	1.600	2.700	6.100	2.024



**Figure 39** : Nombre de lymphocytes suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non

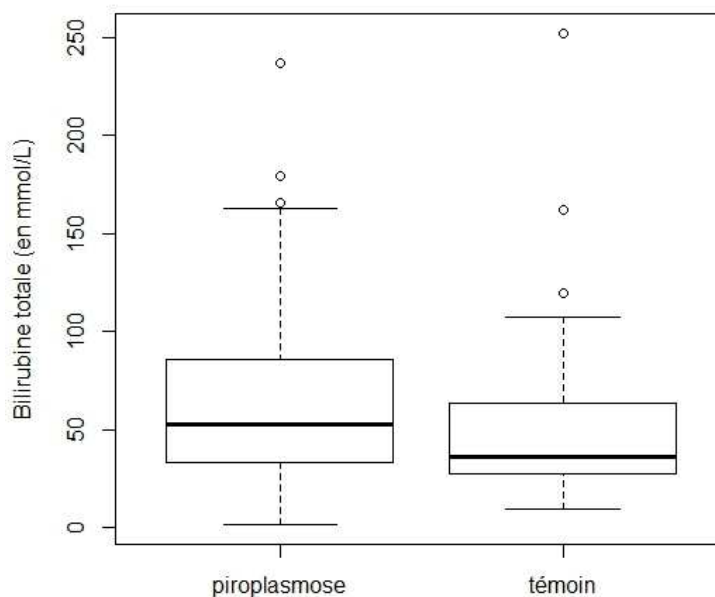
→ Il n'a pas été observé d'association significative entre le nombre de lymphocytes et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.1980 > 0.05$ ).

## E. Paramètres biochimiques

### 1. Bilirubine totale

**Tableau 25 :** Distribution de la bilirubine totale (mmol/L).

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	2.00	33.33	52.50	86.15	237.10	66.63
<b>Piroplasmose négatif</b>	9.50	27.65	36.00	63.45	252	51.28



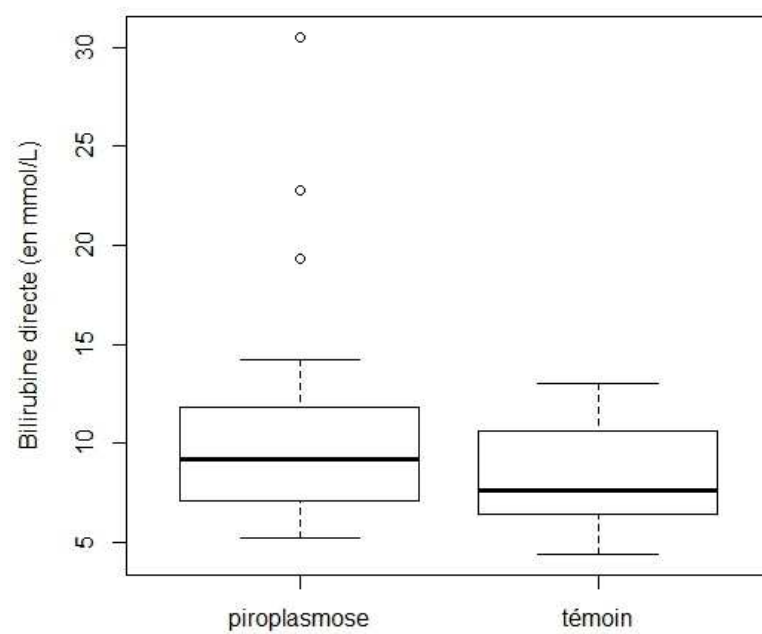
**Figure 40 :** Taux de bilirubine totale suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non

→ Il n'a pas été observé d'association significative entre la bilirubinémie totale et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.06.03 > 0.05$ ).

## 2. Bilirubine directe

**Tableau 26 : Distribution de la bilirubine directe (mmol/L).**

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	5.20	7.10	9.20	11.80	30.50	10.60
<b>Piroplasmose négatif</b>	4.40	6.45	7.70	10.85	96	11.47



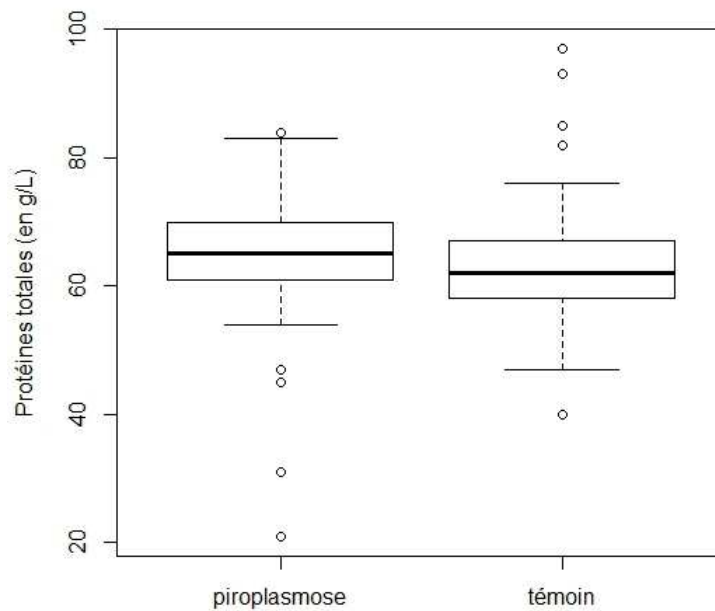
**Figure 41 : Taux de bilirubine direct suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non**

→ Il n'est pas observé d'association significative entre bilirubinémie directe et la survenue d'une piroplasmose (p-value = 0.46 > 0.05).

### 3. Protéines totales

**Tableau 27** : Distribution des protéines totales (g/L).

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	21	61	65	70	84	65.17
<b>Piroplasmose négatif</b>	40	58	62	67	97	62.63



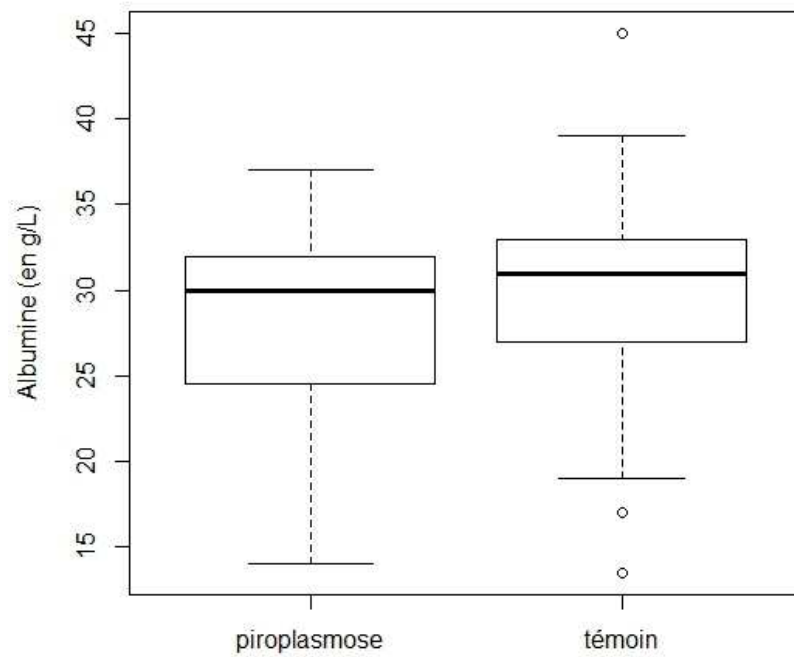
**Figure 42** : Taux de protéines totales suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non

→ Il n'a pas été observé d'association significative entre la protéinémie et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.07440 > 0.05$ ).

#### 4. Albumine

**Tableau 28** : Distribution de l'albumine (g/L).

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	14.00	24.75	30.00	32.00	37.00	28.31
<b>Piroplasmose négatif</b>	13.50	27.00	31.00	33.00	45.00	29.87



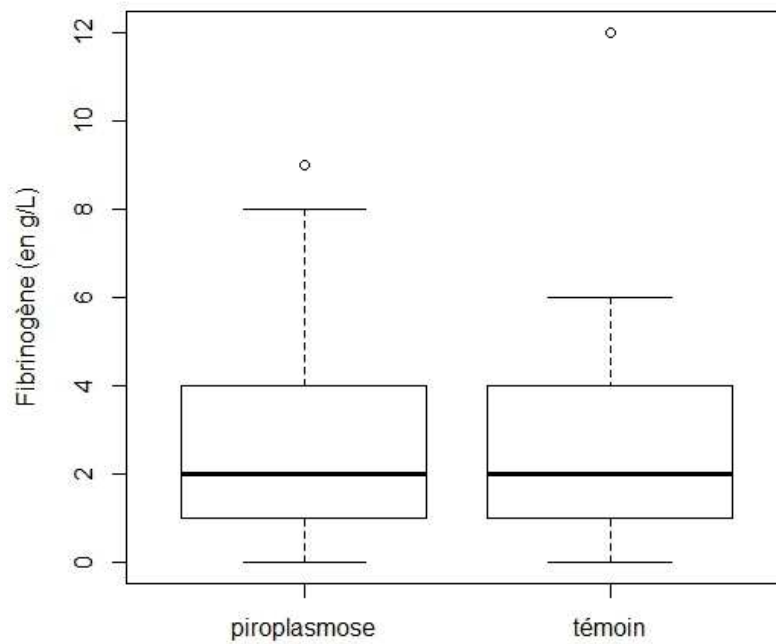
**Figure 43** : Taux d'albumine suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non

→ Il n'a pas été observé d'association significative entre l'albumémie et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.0998 > 0.05$ ).

## 5. Fibrinogène

**Tableau 29 : Distribution du fibrinogène (g/L).**

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	0	1	2	4	9	2.4
<b>Piroplasmose négatif</b>	0	1	2	4	12	2.4



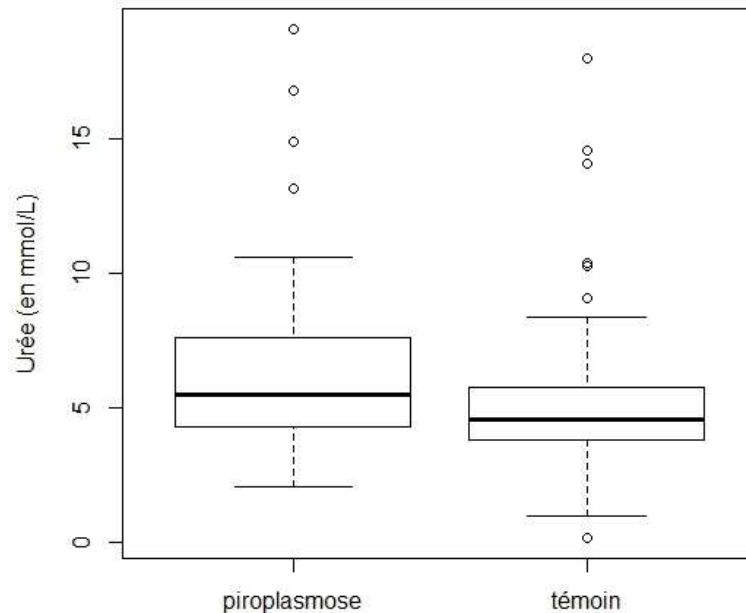
**Figure 44 : Taux de fibrinogène suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non**

→ Il n'a pas été observé d'association significative entre la fibrinogénie et la survenue d'une piroplasmose (p-value = 0.9163 > 0.05).

## 6. Urée

**Tableau 30** : Distribution de l'urée (mmol/L)

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY	VAR
<b>Piroplasmose positif</b>	2.1	4.35	5.5	7.625	19.1	6.53	12.2
<b>Piroplasmose négatif</b>	0.19	3.82	4.65	5.87	98.9	6.7	141.5



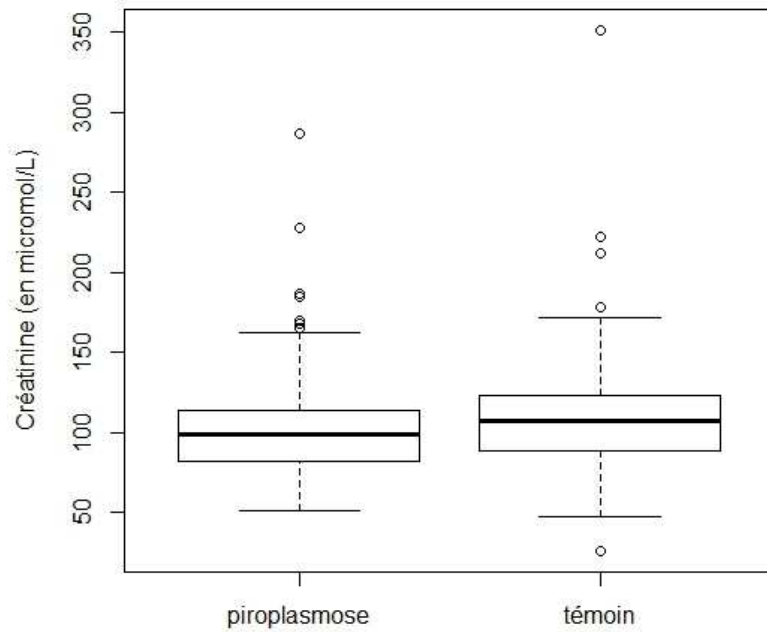
**Figure 45** : Taux d'urée suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non

→ Il n'a pas été observé d'association significative entre l'urémie et la survenue d'une piroplasmose (p-value = 0.911 > 0.05).

## 7. Créatinine

**Tableau 31** : Distribution de la créatinine (mmol/L)

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	51.0	82	98.5	113.2	287	104.2
<b>Piroplasmose négatif</b>	26	88.75	107	124	1488	132



**Figure 46** : Taux de créatinine suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non

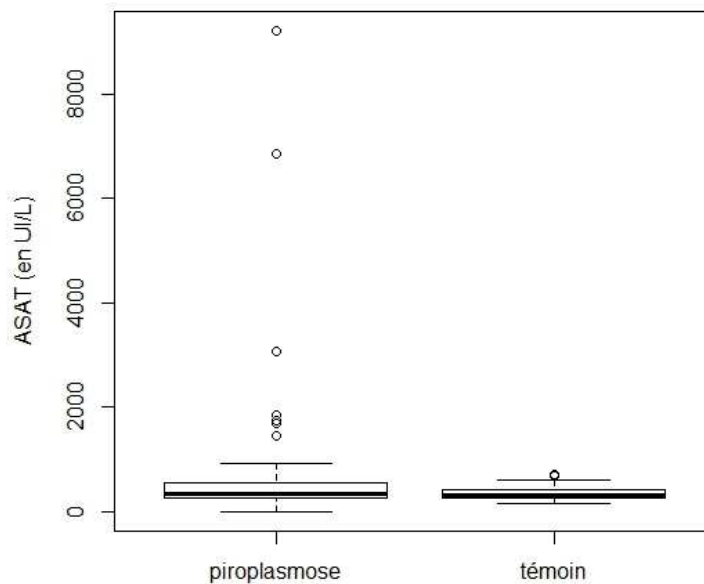
→ Il n'a pas été observé d'association significative entre la créatinémie et la survenue d'une piroplasmose (p-value = 0.1761 > 0.05)



## 8. ASAT

**Tableau 32 : Distribution des ASAT (UI/L)**

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	4	269.5	346.5	526.5	9216	749.2
<b>Piroplasmose négatif</b>	142	262.2	316	424.2	714	352.8



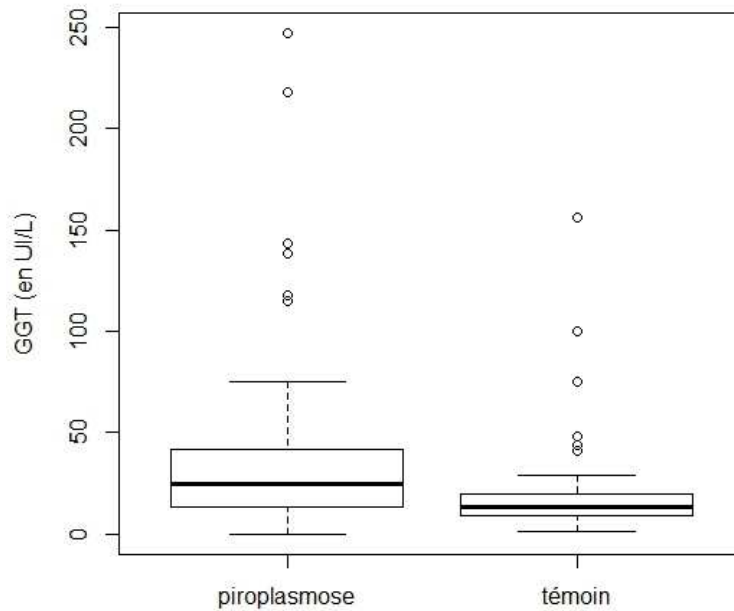
**Figure 47 : Taux d'ASAT suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non**

- ➔ Il a été observé une association significative entre le taux d'ASAT sanguin et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.03129 < 0.05$ ). Un test de Welch a été réalisé car les distributions ne peuvent pas être considérées comme normales.
- ➔ Il a ensuite été observé grâce à un test de Chi2 une association significative pour une valeur des ASAT supérieure ou égale à 555 UI/L et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.0244 < 0.05$ )

## 9. GGT

**Tableau 33 : Distribution des GGT (UI/L)**

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	0	13.5	25	42	247	39.3
<b>Piroplasmose négatif</b>	1	9	13	20	156	21



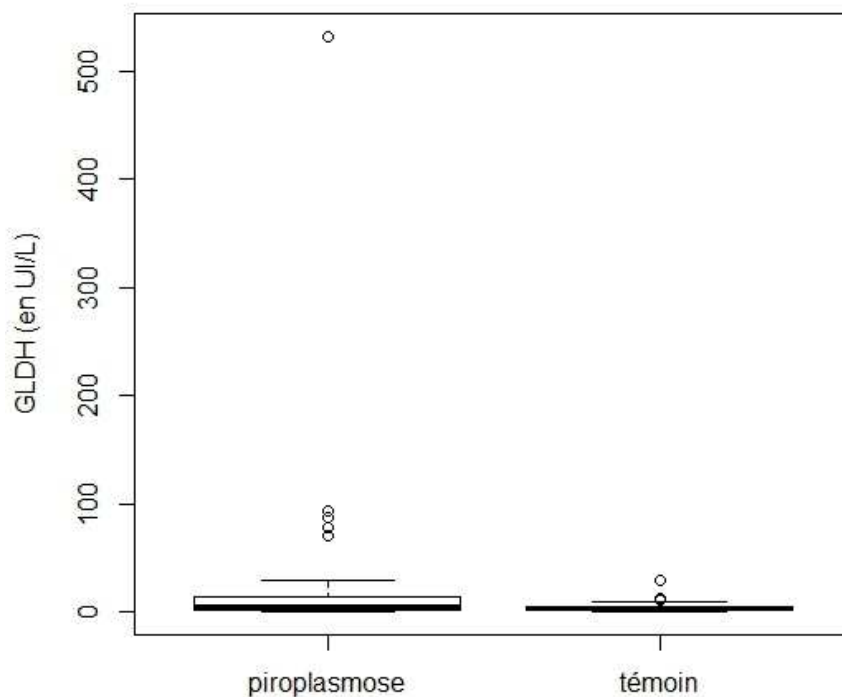
**Figure 48 : Taux de GGT suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non**

- ➔ Il a été observé une association significative entre le taux de GGT sanguin et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.0122 < 0.05$ ). Un test de Welch a été réalisé car les distributions ne peuvent pas être considérées comme normales.
- ➔ Il a ensuite été observé grâce à un test de Chi2 une association significative pour une valeur des GGT supérieure ou égale à 44 UI/L et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.0296 < 0.05$ )

## 10. GLDH

**Tableau 34 : Distribution des GLDH (UI/L)**

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	0.6	1.85	4.7	13.7	532	29.9
<b>Piroplasmose négatif</b>	0.6	1.55	2.8	4.85	29	4.37



**Figure 49 : Taux de GLDH suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non**

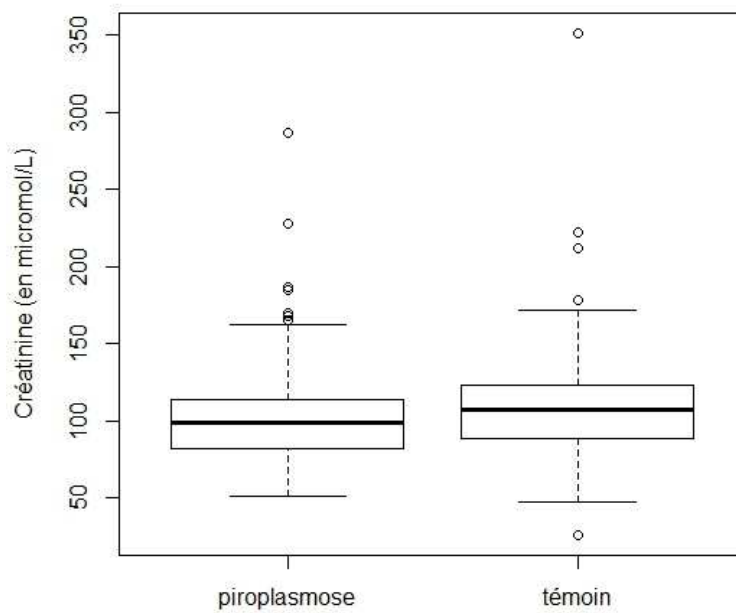
➔ Il n'a pas été observé d'association significative entre le taux de GLDH dans le sang et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.1074 > 0.05$ ).

Il faut cependant noter le faible nombre de valeurs obtenues dans chaque groupe ( $n$  groupe piroplasmose = 35 et  $n$  groupe témoin = 32).

## 11. Créatinine kinase

**Tableau 35 : Distribution de la créatinine kinase ( $\mu\text{mol/L}$ )**

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	13	166	265	484	35350	1559
<b>Piroplasmose négatif</b>	7	179	248.5	407.8	5940	497.3



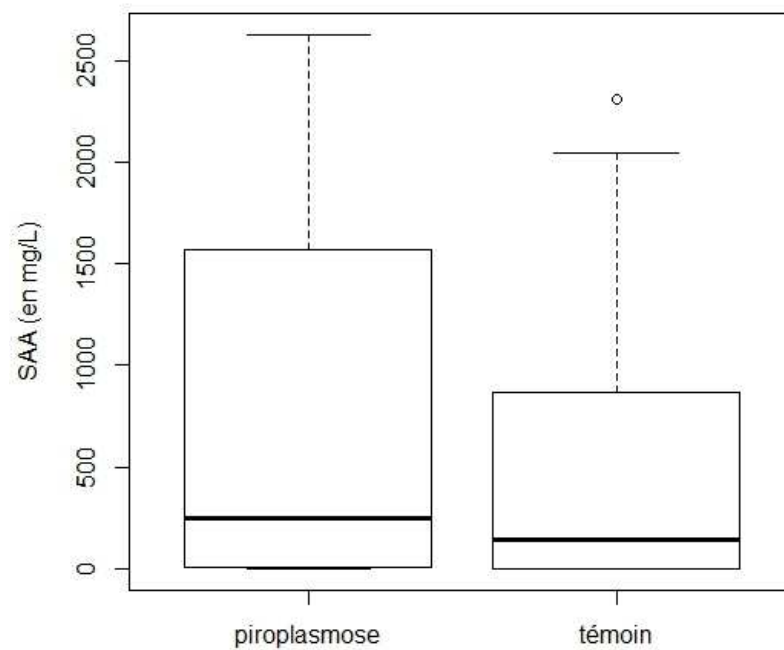
**Figure 50 : Taux de créatinine kinase suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non**

→ Il n'a pas été observé d'association significative entre le taux créatinine kinase dans le sang et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.1251 > 0.05$ ).

## 12. Substance amyloïde A

**Tableau 36 : Distribution du SAA (mg/L)**

	MIN	1Q	MED	3Q	MAX	MOY
<b>Piroplasmose positif</b>	0.4	2.675	248	1560	2628	761.8
<b>Piroplasmose négatif</b>	0.1	1	138	869	2314	563



**Figure 51 : Taux de SAA suivant la présence d'une PCR piroplasmose positive ou non**

→ Il n'a pas été observé d'association significative entre le taux de SAA dans le sang et la survenue d'une piroplasmose ( $p\text{-value} = 0.46 > 0.05$ ).

Il faut cependant noter le faible nombre de valeurs obtenues dans chaque groupe ( $n$  groupe piroplasmose = 35 et  $n$  groupe témoin = 30)

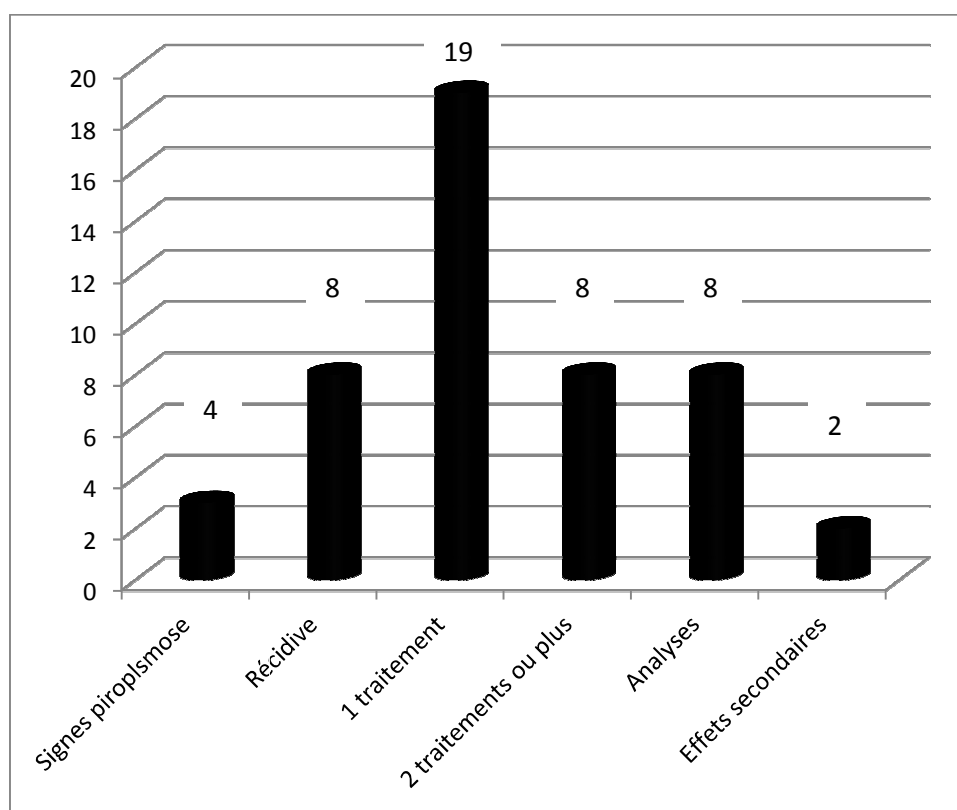
## F. Suivi des chevaux positifs

Courant mars 2014 nous avons rappelé tous les propriétaires des chevaux testés positifs pour la piroplasmose pour prendre des nouvelles de leurs chevaux.

Parmi nos 92 chevaux positifs, nous avons réussi à avoir des nouvelles de 46 chevaux soit 50 % des chevaux, ce qui est un taux satisfaisant. Parmi ces 46 chevaux, 27 chevaux ont été traités contre la piroplasmose à base de Carbesia® et 10 sont décédés dont deux de signes compatibles avec la piroplasmose. Les autres causes de décès ne sont pas toujours connues car les propriétaires ne souhaitent pas en parler, mais un cheval est décédé de lymphome extraganglionnaire, un autre d'une fracture de la hanche, un vieux cheval a dû être euthanasié suite à une perte d'état trop importante et un dernier est mort de coliques.

Nous n'avons pas réussi à avoir des suivis de tous les chevaux positifs pour diverses raisons : nous n'avions plus toujours le bon numéro de téléphone, le propriétaire ne nous répondait pas malgré plusieurs essais, le cheval avait été vendu, le propriétaire ne se souvenait plus ou le propriétaire ne désirait pas nous parler.

Il faut également noter que ce qu'on appellera « un traitement » est un protocole de deux injections de Carbesia® à 48 ou 72h d'intervalle.

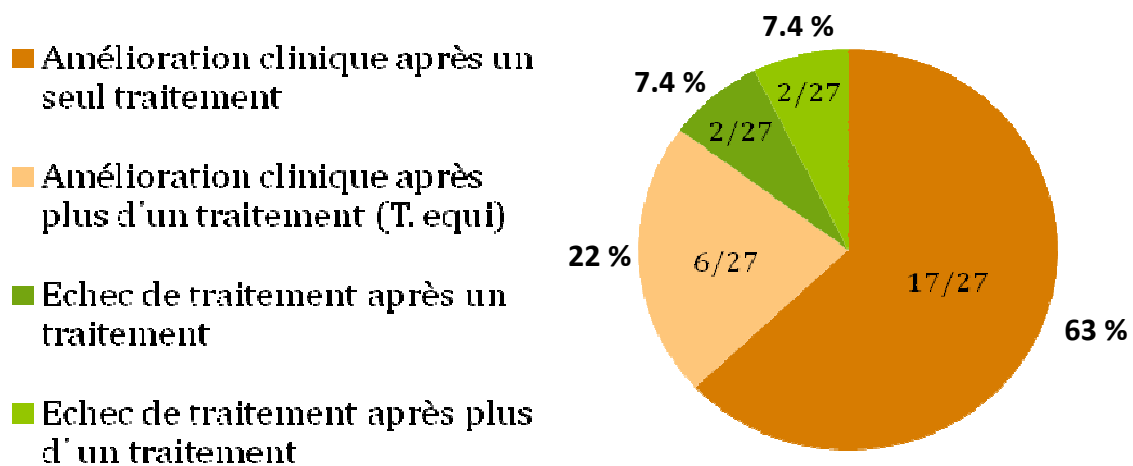


**Figure 52 : Suivi des 46 chevaux PCR piroplasmose positive**

Quatre chevaux avaient encore des signes de piroplasmose au moment de notre appel. Huit chevaux ont eu des récurrences de piroplasmoses après leur passage à la Clinéquine, chacun de ces derniers avait reçu au moins un traitement. Dix neuf chevaux ont reçu un seul traitement et huit chevaux ont du recevoir plus d'un traitement.

Le statut piroplasmosique de l'équidé a été contrôlé par PCR sur seulement 8 chevaux après le traitement, seuls deux avaient une analyse PCR négative trois semaines à un mois après le traitement. Un troisième cheval est devenu négatif après un deuxième traitement, suite à une récurrence, trois mois après son premier traitement où il était toujours PCR positif.

Par contre le traitement a provoqué des effets secondaires chez deux chevaux uniquement.



**Figure 53 : Evolution clinique en fonction du nombre de traitements**

Parmi les 19 chevaux ayant reçu qu'un seul traitement, 17 (63%) ont eu une disparition des signes cliniques suite au traitement et les deux autres n'ont pas souhaité continuer le traitement. Parmi les 8 chevaux ayant reçu deux traitements, 6 (22%) se sont améliorés cliniquement et cela s'est révélé être un échec pour les deux autres chevaux restant.

## V. DISCUSSION

### A. Prévalence des parasites observés

Parmi les 173 chevaux de notre étude, 92 chevaux (53.2 %) appartiennent au groupe piroplasmose positif. Parmi ces 92 chevaux positifs, 75 chevaux (81.5%) sont positifs à la PCR de *Theileria equi*, 9 chevaux (9.8 %) sont positifs à la PCR de *Babesia caballi* et 8 chevaux (8.7 %) sont positifs aux PCR des deux protozoaires simultanément. *Theileria equi* est donc plus prévalent que *Babesia caballi*. Ces résultats sont en accord avec ce qu'on peut trouver dans la littérature. En effet, plusieurs études ont montré en France et dans le sud de l'Europe une séroprévalence de *Theileria equi* plus importante que celle de *Babesia caballi* [2 ; 3 ; 75 ; 76 ; 85].

### B. Facteurs de risque des infections

On n'a pas trouvé d'association significative entre le sexe, la race, le type d'utilisation du cheval et le motif de consultation entre le groupe PCR piroplasmose positif et entre le groupe PCR négatif. Ces résultats ne sont pas étonnants et on ne s'attendait pas à ce que ces paramètres soient des facteurs de risques de piroplasmose.

L'Age par contre semble être un facteur de risque quant au statut piroplasmosique de l'animal. Dans notre étude nous trouvons que les chevaux de plus de 13 ans sont significativement plus atteints de piroplasmose. Ces résultats sont en accord avec d'autres études menées par Asgard et al [17], Kouam et al [75] et Garcia-Bocanegra et al [76]. La majorité des chevaux de notre étude sont PCR positifs pour *Theileria equi*, or une fois atteint par ce protozoaire, il est considéré que le cheval n'arrive pas à se débarrasser du parasite même suite au traitement adéquat. Ceci peut donc expliquer une prévalence plus importante chez les chevaux âgés.

Nous nous attendions à ce qu'un stress puisse provoquer une résurgence des signes cliniques chez des chevaux porteurs comme c'était le cas dans l'étude d'Hailat et al [1] mais ce n'est pas le cas dans notre étude. Un stress comme une chirurgie ou une hospitalisation ne semble pas significativement associé au déclenchement d'une piroplasmose.

Il y a un biais de population dans notre étude. Les animaux que nous recevons en consultation sont référés après évaluation par le vétérinaire traitant. Ainsi, la symptomatologie classique de piroplasmose est peu rencontrée parmi la population que nous avons étudiée car les vétérinaires de terrain savent en général bien gérer ces cas classiques.

### C. Critères cliniques des infections rencontrées

Tout d'abord, la couleur des muqueuses ainsi que la température ne semblent pas être des paramètres intéressants pour détecter les formes de piroplasmose que nous voyons au sein de notre effectif. Cela peut paraître surprenant car l'hyperthermie et des muqueuses ictériques sont souvent rencontrées lors de piroplasmose. Or nous n'avons pas à faire au sein de notre étude à des cas de piroplasmose aigue avec une symptomatologie classique mais plutôt à des formes atypiques évoluant depuis un certain temps. La chronicité des cas auxquels nous avons à faire peut donc expliquer nos résultats.



Sur un plan clinique, le paramètre intéressant révélé par notre étude est la présence d'œdèmes. Dans la littérature, il est souvent reporté que les chevaux atteints de piroplasmose présentent des œdèmes des membres et péri orbitaux [1 ; 35 ; 126]. Dans notre étude les œdèmes sont significativement plus présents chez les chevaux du groupe piroplasmose positif. Concernant sa topographie : sur les 18 chevaux présentant des œdèmes dans le groupe piroplasmose positif, 13 de ces chevaux présentaient soit un œdème généralisé soit un œdème déclive.

#### ***D. Critères paracliniques des infections rencontrées.***

Face à la faible puissance des signes cliniques dans le diagnostic des piroplasmoses équine que nous avons observées, des analyses hématologiques et biochimiques sont le plus souvent réalisées pour étayer les suspicions du clinicien et obtenir des informations complémentaires sur l'état de santé de l'animal.

Sur le plan hématologique, en ce qui concerne la formule rouge, les résultats sont concordants avec ce qui est reporté dans la littérature avec une diminution significative du nombre de globules rouges, du taux d'hématocrite et du taux d'hémoglobine au sein du groupe piroplasmose positif. Une anémie même faible (globules rouges  $< 6.5 \times 10^6 /mm^3$  ; hémoglobine  $< 11g/L$  ; hématocrite  $< 28 \%$ ) est significative. La chronicité des pathologies rencontrées peut expliquer ces résultats faiblement altérés et sont en accord avec la littérature qui rapporte généralement la présence d'une anémie moins marquée lors de formes chroniques de piroplasmoses.

En ce qui concerne la formule blanche, les chevaux du groupe PCR piroplasmose positif présentent significativement plus de leucocytoses neutrophiliques (leucocytes  $> 14 \times 10^3/mm^3$  et polynucléaires neutrophiles  $> 8.6 \times 10^3/mm^3$ ) que les chevaux du groupe témoin. Par contre, on n'observe pas de différence entre les deux groupes en ce qui concerne le nombre de lymphocytes. La littérature rapporte pourtant une lymphocytose fréquente lors de formes chroniques ou chez les porteurs sains et une neutropénie lors de formes aiguës. Si l'on fait un parallèle avec d'autres pathologies comme les pleuro-pneumonies, une neutrophilie rebond lors de chronicité de la pathologie peut éventuellement expliquer nos résultats. Pour les leucocytes, l'étude de Rubino et al [3] rapporte une leucopénie contrairement à l'étude de Hailat et al [1] qui rapporte une légère leucocytose ce qui est en accord avec notre étude.

Sur le plan biochimique, contrairement à ce qu'il est généralement rapporté, l'hyperbilirubinémie se révèle être un paramètre peu intéressant. On n'observe pas de différences significatives entre les taux de bilirubinémie des groupes piroplasmose positif et piroplasmose négatif. Par contre les chevaux du groupe piroplasmose positif présentent des taux de GGT et d'ASAT significativement supérieurs à ceux du groupe témoin ce qui est concordant avec ce que l'on trouve dans la littérature [1 ; 2 ; 3]. Ces paramètres témoignent d'une souffrance hépatique lors de piroplasmose.

#### ***E. Limites de cette étude***

Notre étude comporte des limites en particulier de part le fait que c'est une étude rétrospective. Certaines informations n'ont pas été systématiquement demandées ou ont pu se perdre. On peut cependant considérer que ce risque est limité étant donné la bonne gestion des dossiers à la Clinéquine. Il pourrait être intéressant de faire maintenant une étude prospective.

Notre groupe témoin n'est pas non plus idéal et introduit un biais dans notre étude. En effet, nos témoins (c'est-à-dire Piroplasmose négatif) sont des individus qui ne sont pas sains. Bien que

piroplasmose négatifs, ces individus présentaient un tableau clinique ou hémato-biochimique ayant laissé suspecter au clinicien responsable la possibilité d'une piroplasmose sous jacente et qui a motivé la réalisation d'un test PCR piroplasmose, qui s'est finalement révélé négatif.

La littérature rapporte la présence de porteurs sains. Il est donc parfois difficile de faire la part des choses chez les chevaux PCR positifs entre ceux qui présentent une forme atypique de piroplasmose et ceux qui sont simplement porteurs sains et qui sont atteints d'une autre pathologie ayant des signes cliniques et hémato-biochimiques similaires. Certains de nos cas pourraient théoriquement être des faux positifs, c'est-à-dire inclus à tort dans notre groupe piroplasmose positif.

Il peut y avoir aussi le cas de l'équidé porteur de piroplasmes, atteint d'une autre pathologie ce qui affaiblit ses défenses immunitaires, et qui développe une piroplasmose en plus de son autre pathologie. Il est d'une part compliqué de reconnaître ces chevaux là et il est d'autre part difficile de savoir quels paramètres sont attribuables à la piroplasmose ou à la maladie concomitante.

Pour terminer, nous avons réalisé dans le cours de ce travail uniquement des statistiques univariées. Il serait sûrement très intéressant de réaliser des statistiques multivariées pour réaliser des ajustements et éliminer les facteurs de confusion et ainsi voir si on retrouve des résultats similaires.

## ***F. Evolution des chevaux piroplasmose positifs***

En ce qui concerne le suivi des chevaux vus en consultation à la Clinéquine, deux sont morts de la piroplasmose ; une jument gestante est décédée suite à un avortement à un mois du terme et un cheval a dû être euthanasié suite à une troisième tentative de traitement contre la piroplasmose au Carbesia®, très mal toléré.

Les signes cliniques disparaissent après un seul traitement chez 17 chevaux (63%). Un seul traitement n'a pas été efficace pour faire disparaître les signes cliniques chez 10 chevaux soit 37% des cas. Par contre chez quatre chevaux (14.8%) l'Imidocarbe n'a pas suffi à faire disparaître les signes cliniques présents chez ces chevaux PCR positifs.

Il est important de noter que pour évaluer le succès du traitement, on a tenu compte de la disparition des signes cliniques et paracliniques et non pas de l'élimination du parasite de l'organisme de l'équidé car un nombre insuffisant de chevaux ont eu des analyses PCR de contrôle suite au traitement. De plus, les chevaux de notre étude vivent en zone endémique, il ne paraît donc pas judicieux d'essayer d'éliminer complètement le parasite de l'organisme.

L'imidocarbe disparaît rapidement du plasma. Douze heures après l'injection initiale, la molécule n'est plus détectable dans le plasma [34]. Il existe aussi différentes souches de *Theileria equi*, dont certaines sont devenues résistantes à l'imidocarbe, seule molécule utilisée depuis plusieurs années pour traiter la piroplasmose équine [35]. On ne connaît pas non plus l'action de l'imidocarbe sur les stades pré-érythrocytaires de *Theileria equi* et elle a été supposée insuffisante [34]. De plus il a été évoqué que la co-infection de *T.equi* et *B.caballi* pourrait diminuer l'efficacité du traitement [35]. Toutes les raisons citées ci-dessus peuvent éventuellement expliquer les échecs de traitement au Carbesia® pour faire disparaître les signes cliniques

## ***G. Effets secondaires du traitement à l'imidocarbe.***

Sur les 27 chevaux traités, seuls deux ont présentés des réactions secondaires au traitement. Un cheval a dû être euthanasié et le deuxième a présenté des coliques violentes. Nous ne rapportons que les effets secondaires importants et les réactions minimales comme un léger gonflement au site d'injection n'ont pas été prises en compte. Si l'on résonne en pourcentage, on a finalement 7.4 % de réactions au traitement dont un cheval qui a dû être euthanasié. Aucun des chevaux traités à la Clinéquine n'ont présenté de réactions secondaires, mais de nombreuses précautions sont prises (plusieurs sites d'injection, administration d'Estocelan® au préalable, mise à jeun et précautions alimentaires, surveillance rapprochée de l'équidé durant le traitement).

Cela confirme bien que le traitement à base d'Imidocarbe Dipropionate n'est pas anodin et que le vétérinaire doit toujours effectuer le traitement de façon contrôlée et vigilante. Il faut faire la part des choses entre le bénéfice et le risque lié au traitement. Il n'est pas forcément utile de vouloir absolument éliminer le parasite si le cheval ne présente pas de signes cliniques quand on a un cheval PCR positif. Parallèlement, il est important lorsqu'on décide de traiter un cheval avec du Carbesia® de respecter les protocoles décrits et de prendre ses précautions pour limiter l'apparition de réactions secondaires au traitement et de résistances.



# CONCLUSION

---

La piroplasmose équine causée par les deux protozoaires *Babesia caballi* et *Theileria equi* est une maladie d'actualité. Elle revêt une importance tant d'un point de vue médical qu'économique. Du point de vue médical elle peut entraîner de simples baisses de performances ou aller jusqu'à la mort de l'équidé. Du point de vue économique la piroplasmose est un frein à la vente et l'exportation de chevaux.

Cliniquement on peut observer des formes aiguës de la maladie. Une anémie hémolytique entraîne le plus souvent de la fièvre, des muqueuses ictériques avec une hyperbilirubinémie et un œdème des membres. On constate aussi des formes plus frustes avec des symptômes moins marqués : l'anémie est modérée ; on peut rencontrer un abattement, une baisse de performances et un amaigrissement.

L'objectif de cette thèse est d'étudier les formes frustes et atypiques qui semblent s'exprimer ces dernières années chez les cas vu au sein de la Clinique Equine de l'école vétérinaire de Lyon. Il a été supposé qu'un stress comme une hospitalisation ou une chirurgie par exemple, pouvait provoquer une résurgence des signes cliniques de la maladie chez des animaux porteurs sains du parasite.

L'étude rétrospective et statistique entre un groupe témoin et un groupe piroplasmose positif, hospitalisés à la Clinéquine, a permis de mettre en évidence plusieurs caractéristiques de l'infection piroplasmosique.

*Theileria equi* est significativement plus prévalent que *Babesia caballi*. Sur le plan clinique, le paramètre intéressant révélé par cette étude est la présence d'œdèmes déclives et généralisés. Par contre la température rectale et la couleur des muqueuses n'ont pas montré de différences significatives entre les deux groupes contrairement à ce que l'on pourrait suspecter.

Sur le plan hématologique, l'anémie même modérée se révèle être un paramètre pertinent. La présence d'une leucocytose neutrophilique est un paramètre significatif d'une infection.

Les paramètres biochimiques sont globalement peu intéressants. De façon surprenante l'hyperbilirubinémie ne présente pas de différence significative entre les deux groupes. Par contre une augmentation significative des GGT et des ASAT, pouvant exprimer une souffrance hépatique, est observée au sein du groupe piroplasmose positif.

La moitié des chevaux ayant été testés PCR positif a pu être suivie dans le temps. Sur la base de notre étude, le traitement à l'imidocarbe permet une amélioration clinique dans 85% des cas, et peu de réactions secondaires ont été observées.

Pour préciser notre étude, il pourrait être intéressant d'étudier également le lien entre la piroplasmose et l'influence de la saison, de la localisation géographique ou du type d'habitat des équidés, en utilisant des témoins négatifs non symptomatiques.

**Thèse de Mme DELATTRE Stéphanie**

**Le Professeur responsable  
VetAgro Sup campus vétérinaire**

**Le Président de la thèse**

**Vu et permis d'imprimer**

**Lyon, le 02 JUL. 2014**

**Le Président de l'Université,  
Professeur F.N GILLY**

Agnès BENAMOU-SMITH  
Médecine Interne  
Pôle Equin, ENVL  
Dr Vét, FiD, Dipl. ACVIM/ECEIM

**Le Directeur général  
VetAgro Sup**

Par délégation  
**Pr F. Grain - DEVE**

VetAgro Sup  
Campus Vétérinaire





# BIBLIOGRAPHIE

---

- [1] Hailat N.Q., Lafi S.Q., Al- Darraji A.M., Al-Ani F.K., (1997)  
Equine babesiosis associated with strenuous exercise: clinical and pathological studies in Jordan.  
*Veterinary Parasitology*, (69), 1-8
- [2] Zobba R., Ardu M., Niccolini S., Chessa B., Manna L., Cocco R., Pinna Parpaglia M.L., (2008)  
Clinical and Laboratory Findings in Equine Piroplasmosis.  
*Journal of Equine Veterinary science*, 28,(5), 301-308.
- [3] Rubino G., Cito A.M., Lacinio R., Bramante G., Caroli A., Pierogostini E., Petazzi F. (2006)  
Hematology and Some Blood Chemical Parameters as a function of Tick – Borne Disease (TBD) Signs  
in Horses.  
*Journal of Equine Veterinary science*, 26, (10), 475-480.
- [4] Bahiruddin J.B., Camma C., Rebêlo E., (1999)  
Molecular detection of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in horse blood by PCR amplification of part  
of the 16S rRNA gene.  
*Veterinary Parasitology*, 84, 75-85
- [5] Paxson J., (2008)  
Polymerase Chain Reaction.  
*Compendium Equine*, May, 186-195
- [6] Paxson. J., (2008)  
Evaluating Polymerase Chain Reaction-Based Tests for Infectious Pathogens .  
*Compendium Equine*, July/August, 308-322
- [7] Piroplasmoses Equines, (2005)  
Manuel terrestre de l'OIE 2005, Chapitre 2.5.6., 772-780
- [8] Rampersad J., Cesar E., Campbell M.D., Samlal M., Ammons D., (2003)  
A field evaluation of PCR for the routine detection of *Babesia equi* in horses.  
*Veterinary Parasitology*, 114, 81-87
- [9] Nicolaiewsky T.B., Richter M.F., Lunge V.R., Caunha C.W., Delagostin O., Ikuta N., Fonseca A.S., Da  
Silva S.S., Ozaki L.S., (2001)  
Detection of *Babesia equi* (Laveran 1901) by nested polymerase chain reaction.  
*Veterinary Parasitology*, 101, 9-21
- [10] Rothschild C.M., Knowles D.P., (2007). Chapter 60 : Equine Piroplasmosis.  
In: *Equine Infectious Diseases*, (ed. Sellon DC), Long Mt. Saunders, Elsevier, St. Louis, MO. 465–473
- [11] Pittel P.H., Scrive T., Léon A., (2010).  
Molecular detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in the bone marrow of asymptomatic  
horses.  
*Veterinary Parasitology*, 170, 182-184

- [12] Alhassan A., Pumiddonming W., Okamura M., Hirata H., Battsetseg B., Fusijaki K., Yokayama N., Igarashi I., (2005)  
Development of a single round and multiplex PCR method for the simultaneous detection of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in horse blood. *Veterinary Parasitology*, 129, 43-49
- [13] Heim A., Passos L.M., Ribeiro M.F., Costa-Junior L.M., Bastos C.V., Cabral D.D., Hirzmann J., Pfister K., (2007)  
Detection and molecular characterization of *Babesia caballi* and *Theileria equi* isolates from endemic areas of Brazil. *Parasitology Research*, 102, 63-68
- [14] Kim C.M., Blanco L.B., Alhassan A., Iseki H., Yokoyama N., Xuan X., Igarashi I., (2008)  
Diagnostic real time PRC assay for the quantitative detection of *Theileria equi* from equines blood samples. *Veterinary Parasitology*, 151, 158-163
- [15] R. Rosales R., A. Rangel-Rivas A., A. Escalona A., L.S.Jordan L.S., M.I. Gonzatti M.I., P.M. Aso P.M., T. Perrone T., A. Silva-Iturriza A., A. Mijares A., (2013)  
Detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in Venezuelan horses using Competitive-Inhibition ELISA and PCR. *Veterinary Parasitology*, 196, 37-43
- [16] X. Xuan X., A. Nagai A., B. Battsetseg B., C. Fukumoto C., L.H. Makala L.H., N. Inoue N., I. Igarashi I., T.mikami T., K.fujisaki K., (2001)  
Diagnosis of Equine Piroplasmosis in Brazil by serodiagnostic methods with recombinant antigens. *Journal of Veterinary Medical Science*, 63,1159-1160
- [17] Asgarali Z., Coombs D.K., Mohammed F., Campbell M.D., Ceasar E., (2007)  
A serological study of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in thoroughbreds in Trinidad. *Veterinary Parasitology*, 144, 176-171
- [18] Alhassan A., Thekiso O.M.M., Yokoyama N., Inoue N., Motloang M.Y., Mbatl P.A., Yin H., Katayama Y., Anzai T., Sugimoto C., Igarashi I., (2007)  
Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for diagnosis of equine piroplasmosis. *Veterinary Parasitology*, 143, 155-160
- [19] Massaro W., Palmer G.H., Kappmeyer L.S., Scoles G.A., Knowles D.P., (2003)  
Expression of equi merozoites antigen 2 during the development of *Babesia equi* in the midgut and salivary gland of the vector tick *Boophilus microplus*.  
*Journal of Clinical Microbiology*, 289, 5803-5809
- [20] Knowles Jr D.P., (1996)  
Control of *Babesia equi* Parasitemia. *Parasitology today*, 12, (5), 195-198
- [21] Knowles Jr. D.P. (1996)  
Equine Babesiosis (Piroplasmosis): a problem in the international movement of horses.  
*British Veterinary Journal*, 152, 123-126
- [22] Laveran A., (1901). Contribution à l'étude de *Piroplasma equi*.  
*Comptes rendus des Séances de la Société de Biologie*, 53, 385-388
- [23] Nuttall G.H.F., Strickland C., (1912)  
On the occurrence of two species of parasites in equine piroplasmosis or biliary fever.  
*Parasitology*, 5, 65-83



- [24] A. Brüning. Equine piroplasmosis an update on diagnosis, treatment and prevention. *British Veterinary Journal* 152 (1996) 139-151.
- [25] Churchill R.C., Best D.R., (1976)  
Babesiosis of a horse in Australia. *Australian Veterinary Journal*, 52, 487.
- [26] Callow L.L., McGregor W., Rodwell B.J., Rogers R., Fraser G.C., Mahoney D.F., Robertson G.M., (1979)  
Evaluation of an indirect fluorescent antibody test to diagnose *Babesia equi* infection in horses. *Australian Veterinary Journal*, 55, 555-559.
- [27] Posnett E.S., Ambrosio R.E., (1991)  
DNA probes for the detection of *Babesia caballi*. *Veterinary Parasitology* (1991), 103, 357-365
- [28] Posnett E.S., Fehrnsen J., De Waal D.T., Ambrosio R.E., (1991)  
Detection of *Babesia equi* in infected horses and carrier animals using a DNA probe. *Veterinary Parasitology*, 39, 19-32
- [29] Hirato K., Ninomiya M., Uwano Y., Kuth T., (1945)  
Studies on the complement fixation reaction for equine piroplasmosis. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 77, 204-205
- [30] Bhushan C., Muller I., Friedhoff K.T., (1991)  
Enrichment of *Babesia caballi* infected erythrocytes from microaerophilous stationary-phase cultures using Percoll gradients. *Parasitology Research*, 77, 177-179
- [31] Knowles D.P., Perryman L.E., Goff W.L., Miller C.D., Harrington R., Gorham J.R., (1991)  
A monoclonal antibody defines a geographically conserved surface epitope of *Babesia equi* merozoite. *Infection and Immunity*, 59, 2314-2317
- [32] Knowles D.P., Perryman L.E., Kappmeyer L.S., Hennager S.G., (1991)  
Detection of equine antibody based competitive inhibition ELISA. *Journal of Clinical Microbiology*, 29, 2056-2058
- [33] Zaugg J.L., Lane V.M., (1992)  
Efficacy of buparvaquone as a therapeutic and clearing agent of *Babesia equi* of European origin in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 8, 542-544
- [34] Belloli C., Crescendo G., Lai O., Carofiglio V., Marang O., Ormas P., (2002)  
Pharmacokinetics of imidocarb dipropionate in horses after intramuscular administration. *Equine veterinary Journal*, 34, (6), 625-629
- [35] Rothschild C.M., (2013)  
Equine Piroplasmosis. *Journal of Equine Veterinary Science*, 33, 497-503
- [36] Guimaraes A.M., Lima J.D., Ribeiro M.R., (1998)  
Sporogony and experimental transmission of *Babesia equi* by *Boophilus microplus*. *Parasitology research*, 84, 323-327
- [37] Short M.A., Clark C.K., Harvey, J.W., Wenzlow N., Hawkins I.K., Allred D.R., Knowles D.P., Corn J.L., Grause J.F., (2012). Outbreak of equine piroplasmosis in Florida. *Scientific Report, JAVMA*, 240, (5), 588-595

- [38] Brown G.M., (1979)  
Equine piroplasmosis complement fixation test antigen production. USDA,APHIS, National Services laboratories.  
Diagnostic Reagents Laboratory, Ames, Iowa. NVSL Diagnostic Production Guide N° R-72/73/74.
- [39] Butler C.M., Nijhof A.M. , Van der Kolk J.H., De Haseth O.B., Taoufik A., Jongejan F., Houwers D.J., (2008) Repeated high dose imidocarb dipropionate treatment did not eliminate *Babesia caballi* from naturally infected horses as determined by PCR-reverse line blot hybridization.  
Veterinary Parasitology, 151, 320-322
- [40] Donnelly J., Joyner L.P., Graham-Jones O., Ellis C.P., (1980)  
A comparison of the complement fixation and immunofluorescent antibody tests in a survey of the prevalence of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in horses in the Sultanate of Oman. 1980.  
Tropical Animal Health and Production, 12 , 50-60
- [41] Frerichs W.M. and Holbrook A.A. dipropionate, (1974)  
Treatment of equine piroplasmosis (*B. caballi*) with Imidocarb dipropionate  
Veterinary Research, 95, 188-189.
- [42] Georges C., Chuckwudozi D.E., Sparagano O., Pargass I., Campbell M., d'Abadie R., Yabsley M.J., (2011). A case of transplacental transmission of *Theileria equi* in a foal in Trinidad  
Veterinary Parasitology, 175, 363-366
- [43] Florida Department of Agriculture and Consumer Services Division of Animal Husbandry, (2009)  
Annual Report 2008-2009
- [44] Allsopp M.T.E.P., Lewis B.D., Penzhorn B.L., (2007)  
Molecular evidence for transmission of *Theileria equi* from carrier mares to their apparently healthy foals. Veterinary Parasitology, 148, 130-136
- [45] Scoles. G.A., Hutcheson.H.J, Schlater J.L , Hennager S.G, Pelzel A.M, Knowles D.P, Corn J.L., (2011)  
Equine piroplasmosis associated with *Amblyomma cajenense* ticks, Texas, USA  
Emerging Infectious Diseases, 17, 1903-1905
- [46] Ayele G, Rolf K.S, Sunitha J, Renate W, Nissy A.G, Shyna K.E, Yilkal A, Fikru R, Ulrich W. (2013)  
Piroplasmosis in Donkeys – A Hematological and Serological Study in Central Ethiopia.  
Journal of Equine Veterinary Science, 33, (1), 18-21
- [47] Mehlhorn H, Schein E.  
Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi* Mehlhorn, Schein 1998.  
Parasitology research, 1998, 84, 467-75
- [48] Grause J.F, Ueti M.W, Nelson J.T, Knowles D.P, Kappmeyer L.S., (2013)  
Efficacy of Imidocarb dipropionate in eliminating *Theileria equi* from experimentally infected horses.  
The Veterinary Journal, 196, 541-546.
- [49] Schwint O.N., Ueti M.W., Palmer G.H., Kappmeyer L.S., Hines M.T., Cordes R.T., Knowles D.P., Scoles G.A., (2009). Imidocarb dipropionate clears persistent *Babesia caballi* infection with elimination of transmission potential. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 53, 4327-4332.
- [50] Salim B., Bakheit M.A., Kamau J., Sugimoto C., (2013)  
Current status of equine piroplasmosis in the Sudan. Infection, Genetics and Evolution, 16, 197-199.

- [51] Kumar S., Kumar R., Sugimoto C., (2009)  
A perspective on *Theileria equi* infections in donkeys. *Journal Veterinary Research*, 56, 171-180
- [52] Wise N.N., Ueati M.W., Kappmeyer L.S., Hines M.T., Stephen N.W., Davis W., Knowles D.P., (2012)  
In vitro activity of ponazuril against *Theileria equi*. *Veterinary Parasitology*, 185, 282-285.
- [53] Frierichs, W.M., Allen P.C., Holbrook A.A., (1973)  
Equine piroplasmiasis (*Babesia equi*): therapeutic trials of imidocarb dihydrochloride in horses and donkeys. *Veterinary Research*, 93, 73-75.
- [54] Hutcheon D., (1985). Biliary fever. *Ag. J. Cape of Good Hope*, 8, 17-18
- [55] De Waal D.T., Van Heerden J., (2004). Equine piroplasmiasis.  
In: Coetzer J.A.W, Tustin R.C. (Eds.), *Infectious Disease of livestock*. Oxford, Southern Africa, 425-434
- [56] Du Plessis J.L., Basson P.A., (1996)  
Babesiosis in aborted equine foetuses : a report on two cases in South Africa.  
*J. South Afr. Vet. Med. Assoc.* , 37, 267-269.
- [57] Erbsloh J.K.E., (1975) Babesiosis in the newborn foal.  
*Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 23, 725-726
- [58] Guimaraes A.M., Lima J.D., Tafuri L., Ribeiro M.F.B., Sciavucco C.J.S., Bothelho A.C.C., (1997)  
Clinical and Histopathological aspects of splenectomized foals infected by *Babesia equi*.  
*Journal of Equine Veterinary Science*, 17, (4), 211-216
- [59] Holbrook A.A., Johnson A.J., Madden P.A., (1968)  
Equine Piroplasmiasis: Intraerythrocytic Development of *Babesia caballi* (Nuttall) and *Babesia equi* (Laveran), *American Journal of Veterinary Research*, 2, 297-303
- [60] Mahoney D.F., Wright I.G., Frerichs W.M, Groenendyk S., O'Sullivan B.M., Roberts M.C., Waddell A.M. (1977).  
The identification of *Babesia equi* in Australia. *Australian Veterinary Journal*, 53, 461-464
- [61] Knowles D.P., Kappmeyer D.P., Perryman L.E., (1994)  
Specific immune responses are required to control parasitemia in *Babesia equi* infection.  
*Infection and Immunity*, 5, 1909-1913
- [62] Battsetseg B., Xuan X., Ikadai H., Rodriguez Bautista J.L., Byambaa B., Boldbaatar D., Battur B., Battsetseg G., Batsukh Z., Igarashi I., Nagasawa H., Mikami T., Fujisaki K, (2001)  
Detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in *Dermacentor nuttalli* ticks.  
*International Journal for Parasitology*, 31, 384-386.
- [63] Friedhoff K.T., (1988).  
Transmission of *Babesia*.  
In: Ristic, M. (Ed.), *Babesiosis of Domestic Animals and Man*. CRC Press, Boca Raton. FL, 23-45
- [64] Stiller D., Coan M.E., (1995).  
Recent developments in elucidating tick vector relationships for anaplasmosis and equine piroplasmiasis. *Veterinary Parasitology*, 57, 85-89

- [65] Silva M.G., Telmo G., Suarez C.E., Knowles D.P., (2013)  
Repertoire of *Theileria equi* immunodominant antigens bound by equine antibody.  
*Molecular and Biochemical Parasitology*, 188, 109-115
- [66] Keber C.E., Labruna M.B., Ferreira F., De Waal D.T., Knowles D.P., Gennari S.M., (2009)  
Prevalence of equine piroplasmosis and its association with ticks infestation in the state of Sao Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 18, 1-8.
- [67] Ueti M.W., Palmer G.H., Kappmeyer L.S., Statfield M., Scoles G.A., Knowles D.P., 2005. Ability of the vector tick *Boophilus microplus* to acquire and transmit *Babesia equi* following feeding on chronically infected horses with low-level parasitemia. *Journal of Clinical Microbiology*; 43: 3755-9.
- [68] Tenter A.M., Friedhoff K.t., (1986)  
Serodiagnosis of experimental and natural *Babesia equi* and *B. caballi* infections.  
*Veterinary parasitology* 20, 46-61
- [69] Mantran. A., Votion D.M., Amory H., (2004)  
Piroplasmose : une réalité belge?  
In : 21<sup>ème</sup> Journée d'étude. Belgian Equine Practitioners Society, Liège Belgique
- [70] Boldbaatar D., Xuan X., Battsetseg B., Igarashi I., Battur B., Batsukh Z., Bayambaa B., Fujisaki K., (2005), Epidemiological study of equine piroplasmosis in Mongolia.  
*Veterinary Parasitology*, 127, 29-32
- [71] Butler C.M., Sloet van Oldruitenborg – Oosterbaan M., Stout T.A.E., Van der Kolk J.H., Van den Wollenberg L., Nielen M., Jongejan F., Werners A.H., Houwers D.J., (2012)  
Prevalence of the causive agents of equine piroplasmosis in the South West of The Netherlands and the identification of two autochthonous clinical *Theileria equi* infections.  
*The Veterinary Journal* 193, 381-385
- [72] Salim B., Bakheit M.A., Kamau J., Sugimoto.  
Current status of equine piroplasmosis in the Sudan. *Infection, Genetics, and Evolution*, 16, 191-199.
- [73] Sigg L., Gerber V., Gottstein B., Doherr M.G., Frey C.F., (2010)  
Seroprevalence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in the Swiss horse population.  
*Parasitology International*, 59, 313-317
- [74] Xuan X., Chahan B., Huang X., Yokoyama N., Hakwale Makala L., Igarashi I., Fujisaki K., Maruyama S., Sakai T., Mikami T., (2002)  
Diagnosis of equine piroplasmosis in Xinjiang province of China by the enzyme-linked immunoabsorbent assays using recombinant antigens. *Veterinary Parasitology*, 108, 179-182.
- [75] Kouam M. K., Kantzoura V., Gajadhar A.A., Theis J.H., Papadopoulos E., Theodoropoulos G., (2010), Seroprevalence of equine piroplasms and host-related factors associated with infection in Greece. *Veterinary Parasitology*, 169, 273-278
- [76] Garcia-Bocanegra I., Arenas-Montes A., Hernandez E., Adazek U., Carbonero A., Almeria S., Jaen-Tellez J.A., Gutierrez-Palomino P., Arenas A., (2013)  
Seroprevalence and risk factors associated with *Babesia caballi* and *Theileria equi* infection in equids.  
*The Veterinary Journal*, 172-178

- [77] Seo M, Yun S., Choi S., Cho G., Park Y., Kwon O., Cho K., Kim T.H., Jeong K., Park S., Kwon S., Kwak D., (2011) Seroprevalence of equine piroplasms in the Republic of Korea. *Veterinary Parasitology*, 179, 224-226
- [78] Acici M., Umur S., Guvenc T., Arslan H.H., Kurt M., (2008) Seroprevalence of equine babesiosis in the Black Sea region of Turkey. *Parasitology International*, 57, 198-200
- [79] Battsetseg B., Susana L., Xuan X., Claveria F., Byambaa B., Battur B., Boldbaatar D., Batsukh Z., Khaliunaa T., Battsetseg G., Igarashi I., Nagasawa H., Fujisaki K., (2002) Detection of equine *Babesia spp.* gene fragments in *Dermacentor nuttalli* Olenov 1929 infesting Mongolian horses, and their amplification in egg and larval progenies. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64, 727-730
- [80] Madden P.A., Holbrook A.A., (1968) Equine piroplasmosis : Indirect fluorescent antibody test for *Babesia caballi*. *American Journal of Veterinary Research*, 29, 117-123
- [81] Xuan X., Larsen A., Ikadai H., Tanaka T., Igarashi I., Nagasawa H., Fuisaki K., Toyoda Y., Suzuki N., Mikami T., (2001), Expression of Babesia equi merozoite antigen 1 in insect cells by recombinant baculovirus and evaluation of its diagnostic potential in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology* 39; 705-709
- [82] Ikadai H., Xuan X., Igarashi I., Tanaka S., Kanemaru T., Nagasawa H., Fuisaki K., Toyoda Y., Suzuki N., Mikami T., (1999), Cloning and expression of 48-kDa *Babesia caballi* merozoite rhoptry protein and potential use of the recombinant antigen in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology* 37; 3475-3480.
- [83] Ikadai H., Osorio C.R., Xuan X., Igarashi I., Kanemaru T., Nagasawa H., Fuisaki K., Suzuki N., Mikami T., (2000), Detection of *Babesia caballi* infection by enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant 48-kDa merozoite rhoptry protein. *International Journal of Parasitology* 30; 633-635
- [84] Criado-Fornelio A., Martinez-Marcos A., Buling-Sarana A., Barbara-Carretero J.C.,(2003) Molecular studies on Babesia, Theileria and Hepatozoon in Southern Europe: part I. Epizootiological aspects. *Veterinary Parasitology*, 113, 189-201
- [85] Leblond A., Pradier S., Pitel P.H., Fortier G., Boireau P., Chadouef J., Sabatier P., (2005) An epidemiological survey of equine anaplasmosis (*Anaplasma phagocytophilum*) in Southern France *Revue Scientifique et Technique*, 24, 899-908
- [86] Kappmeyer L.S., Perryman L.E., Hines S.A., Basler T.V., Katz J.B., Hennager S.G., Knowles D.P., (1999), Detection of equine antibodies to Babesia caballi recombinant B.caballi rhoptry-associated protein 1 in a competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 37, 3285-3290
- [87] Knowles D.P., Kappmeyer L.S., Stiller D., Hennager S.G., Perryman L.E., (1992) Antibody to a recombinant merozoite protein epitope identifies horses infected with *Babesia equi*. *Journal of Clinical Microbiology*, 30, 3122-3126

- [88] Hornok S., Edelhofer R., Folvari G., Joachim A., Farkas R., (2007)  
Serological evidence for *Babesia canis* infection of horses and an endemic focus on *B. caballi* in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, 55, 491-500
- [89] Hunfeld K.P., Hildebrandt A., Gray J.S., (2008)  
Babesiosis: recent insights into an ancient disease, *International Journal of Parasitology*, 38, 1219-1237
- [90] Metcalf E.S. (2001) The role of international transport of equine semen on disease transmission. *Animal Reproduction Science*, 68, 229-237
- [91] Meynard J.A., Goudichaud J.A., (1972)  
Diagnosis of Acute Equine Piroplasmosis. Proceedings of the Third International Conference on Equine Infectious Disease, Paris; 462-466
- [92] Holbrook A.A., Frerichs W.M., Allen C., (1972)  
Laboratory Diagnosis of Equine Piroplasmosis. Proceedings of the Third International Conference on Equine Infectious Disease, Paris, 467-475
- [93] Taylor W.M., (1972)  
Chemotherapy of Equine Piroplasmosis. Proceedings of the Third International Conference on Equine Infectious Disease, Paris, 476-483
- [94] Kuttler K.L., Zaugg J.L., Gipson N.C.A. (1987)  
Imidocarb and parvaquone in the treatment of piroplasmosis (*Babesia equi*) in equids. *American Journal of Veterinary Research*, 48, 1613-16
- [95] Ueti M.W., Mealey, R.H., Kappmeyer L.S., Bunn T.O., (2012)  
Reemergence of the apicomplexan *Theileria equi* in the United State: Elimination of persistent infection and transmission risk. *PLoS One*, 7, e44713
- [96] Butler C., (2013)  
Can *Theileria equi* be eliminated from carrier horses?  
*The Veterinary Journal*, 196, Guest Editorial, 279
- [97] Salama A.A., Mahmoud A., Moussa A.A., Nayel M.A., El-Sify A., Terkawi M.A., Hassan H.Y., Yokoyama N., Igarashi I., (2013)  
Evaluation of in vitro and in vivo inhibitory effects of fusidic acid on *Babesia* and *Theileria* parasites. *Veterinary Parasitology*, 191, 1-10
- [98] Koch R., (1904)  
Rhodesian investigations. *Cape Agricultural Journal*, 24, 33-45
- [99] Mehlhorn H., Schein E., (1984)  
The piroplasms : Life cycle and sexual stages. *Advances in Parasitology*, 23, 37-103
- [100] Simpson C.F., et al, (1967). Comparative morphologic features of *Babesia caballi* and *Babesia equi*. *American Journal Veterinary Research*, 28, 1693-1697
- [101] Simpson C.F., Bilo C.E., Stolikes H.E., (1963). Electron microscopy of canine and equine *Babesia*. *American Journal of Veterinary Research*, 24, 408-414

- [102] Poitras E., Houde A., (2002) La PCR en temps reel: principes et applications. *Reviews in Biology and Biotechnology*, 2, (2), December, 2-11.
- [103] Bose R., Jorgensen W.K., Dalgliesh R.J., Friedhoff K.T., de Vos A.J., (1995)  
Current state and future trends in the diagnosis of Babesiosis. *Veterinary Parasitology*, 57, 61-74
- [104] Holman P.J., Frerichs W.N., Chieves L., Wagner G.G., 1993. Culture confirmation of the carrier status of *Babesia caballi*-infected horses. *Journal of Clinical Microbiology*; 31, 698-701
- [105] Zwegarth E., Just M.C., De Waal D.T., (1997)  
In vitro cultivation of *Babesia equi*: detection of carrier animals and isolation of parasites. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 64, 51-56
- [106] Friedhoff K.T., Tenter A.M., Muller I., (1990).  
Hemoparasites of equines : impact of international trade of horses.  
*Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, 9, 1187-1194.
- [107] Diagnostik megacor, (page consultée le 26 mars 2014)  
Site de Diagnostik megacor, [en ligne]  
Adresse URL : <http://www.megacor.at/product.html>
- [108] Donnelly J., Phipps L.P., Watkins K.K, (1982)  
Evidence of Maternal antibodies to *Babesia equi* and *Babesia caballi* in foals of seropositive mares. *Equine Veterinary Journal*, 14,126-128
- [109] Rhebein G., Heidrich-Joswig S., (1983)  
Use of schizont and piroplasm antigen of *Babesia equi* in the indirect immunofluorescence antibody and complement fixation tests. *Veterinary Parasitology* 12, 135-44.
- [110] McGuire T.C., Van Hoosier G.L. Jr, Henson J.B., (1971) The complement-fixation reaction in equine infectious anemia : demonstration of inhibition by IgG (T)  
*Journal of Immunology.*, 107, 1738-1744
- [111] Götz, F., (1982) Untersuchungen über die Brauchbarkeit von ELISA, IFAT, IHA und KBR zum Nachweis von *Babesia equi* Infektionen. Dissertation. Veterinary Faculty, University of Munich.
- [112] Böse R, Hentrich B. (1994)  
Identification of antigens diagnostic for European isolates of *Babesia equi* by two-dimensional electrophoresis and Western blot. *International Journal of Parasitology*, 24, 341-346.
- [113] Brüning A, (1994)  
Serodiagnosis of equine piroplasmiasis by ELISA. PhD Thesis, University of London.
- [114] OIE *World Animal Health Information Database* (WAHID) Interface (Page consultée le 07 février 2014), site du WAHID [en ligne]  
Adresse URL :  
[http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap)
- [115] Kent.A, Cordes.T, Freier.J, Isaac.F, James A., Knowles D.P., Knowles R.C., (2008)  
In : *Equine Piroplasmiasis and the 2010 World Equestrian Games*. Washington, DC, Veterinary Services Animal and Plant Health Inspection Service. US Department of Agriculture.

- [116] Kerber C.E., Ferreira F., Perreira M.C., (1999).  
Control of equine piroplasmosis in Brazil, *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 66, 123-127
- [117] Tenter A.M., Otte M.J., Gonzalez C.A., et al, (1988)  
Prevalence of piroplasmosis in equines in the Colombian province of Cordoba.  
*Tropical Animal Health and Production*, 20, 93-8
- [118] OIE : World organisation for Animal Health (page consultée le 19 juin 2014)  
Site de l'OIE, [en ligne]  
Piroplasmoses Equines, (2014), Manuel terrestre de l'OIE 2014. Chapitre 2.5.8.  
Adresse URL :  
[http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health\\_standards/tahm/2.05.08\\_EQUINE\\_PIROPLASMOSIS.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/2.05.08_EQUINE_PIROPLASMOSIS.pdf)
- [119] OIE : World organisation for Animal Health (page consultée le 24 septembre 2014)  
Site de l'OIE, [en ligne]  
Piroplasmoses Equines (2014). Code sanitaire pour les animaux terrestres. Chapitre 12.7  
Adresse URL :  
[http://www.oie.int/index.php?id=169&L=1&htmfile=chapitre\\_equine\\_piroplasmosis.htm](http://www.oie.int/index.php?id=169&L=1&htmfile=chapitre_equine_piroplasmosis.htm)
- [120] Poisson G., (1998)  
Les Babébioses équinées.  
Thèse pour le diplôme d'Etat de Docteur Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, 74p
- [121] Taylor M.A., Coop R.L., Wall R.L., (2007)  
*Veterinary Parasitology*. Third Edition, 295-297
- [122] Bussieras J., Chermette R., (1992)  
Abrégé de Parasitologie Vétérinaire, Fascicule II, Protozoologie vétérinaire.  
Edité par le service de parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort., 186p
- [123] Euzeby J., (1990)  
Theileriose des Equidés.  
*Protozoologie médicale comparée*, vol III, Fasc 2. Lyon: Fondation Mérieux, 71-86
- [124] Thompson P.H., (1969)  
Ticks as vectors of equine piroplasmosis.  
*Journal of the American Veterinary Medical Association*, 155, 454-457
- [125] Zenner L, Bourgouin G, Calait-Cardinal M.P., (2011)  
Cours sur les acariens. Service de parasitologie de Vetagrosup, campus vétérinaire de Lyon.
- [126] De Waal D.T., (1992)  
Equine piroplasmosis : a review. *British Veterinary Journal*, 148, 6-14
- [127] Holbrook A.A., (1969) Biology of Equine Piroplasmosis.  
*Journal of the American Veterinary Medical Association*, 155, 453-454
- [128] Maurer F.D., (1962) Equine piroplasmosis-another emerging disease  
*Journal of the American Veterinary Medical Association*, 141, 699-702



- [129] Ambawat H.K., Malhotra D.V., Kumar S., (1999)  
Erythrocytes associated haemato-biochemical changes in *Babesia equi* infections experimentally produced in donkeys. *Veterinary Parasitology*, 85, 319-24
- [130] Buge Sylvain, (2008)  
Les diptères parasites du cheval : étude de l'efficacité de la deltaméthrine en pour-on vis-à-vis de l'infestation par les mouches chez les chevaux. Thèse d'exercice vétérinaire, Lyon
- [131] Cadore J.L., Bourdoiseau G., Beugnet F., (1995)  
Symptômes et traitement des babébioses équine. *Le point vétérinaire*, 55, 123
- [132] Singh B., Gautam O.P., Banerjee D.P., (1981)  
Immunization of donkeys against *Babesia equi* infection using killed vaccine  
*Veterinary parasitology*, 8, 113-136
- [133] Benamou-Smith A. (2009)  
Urgences hématologiques: transfusion sanguine et banque du sang.  
*Pratique Vétérinaire Equine*, 41, numéro spécial, 63-71
- [134] Le Gall A. (1992) Point sur les babésioses équine : nouveaux aspects de la symptomatologie et des traitements. *Concept-services aux vétérinaires : la lettre confidentielle aux vétérinaires*, numéro spécial
- [135] Le Maytayer G.A., (2007)  
Séroprévalence des piroplasmoses équine en France entre 1997 et 2005.  
Thèse pour le Doctorat vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- [136] Daix C., RESPE, (2014)  
Le syndrome «Piro-Like» en France : étude des prévalences et de la répartition géographique à partir de données de laboratoire. Journée de la Recherche Equine, 18 mars 2014, Paris, France.
- [137] Sandersen C., Pitel P.H., Amory H. (2007)  
Diagnostic Différentiel du Syndrome "Piro-Like" chez les Equidés.  
In : *Proceedings of the Annual Meeting of the Belgian Equine Practitioners Society – Leuven, Belgium*, 97-108





**NOM PRENOM :** DELATTRE Stéphanie

**TITRE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUES ET RETROSPECTIVE DE  
CHEVAUX TESTES POSITIFS A LA PIROPLASMOSE A LA  
CLINEQUINE**

**Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire :** Lyon, 14 Novembre 2014

**RESUME :**

La piroplasmose équine est causée par les deux hémoparasites, *Theileria equi* et *Babesia caballi*. C'est une maladie vectorielle qui infecte les érythrocytes des équidés et qui est transmise par des tiques dures Ixodidées.

Elle est largement répandue dans le monde et la plupart des pays, dont la France, sont considérés comme endémiques. Elle revêt une importance tant d'un point de vue médical qu'économique.

La forme classique aigue de la piroplasmose est facilement reconnue et se traduit par un œdème des membres, de l'ictère et de l'anémie.

Nous avons réalisé une étude rétrospective, chez des chevaux vus en consultation à la Clinéquine et testés PCR positif pour la piroplasmose, pour tenter de caractériser les formes chroniques et atypiques de la piroplasmose en étudiant les paramètres cliniques et hématobiochimiques. Nous avons aussi tenté d'évaluer les réactions au traitement et l'évolution à long terme.

**MOTS CLES :**

- Cheval
- Symptômes
- Hématologie
- Biochimie
- *Theileria*
- *Babesia*

**JURY :**

Président :	Monsieur le Professeur Dominique PEYRAMOND
1er Assesseur :	Monsieur le Professeur Agnès BENAMOU-SMITH
2ème Assesseur :	Monsieur le Professeur Marie-Pierre CALLAIT-CARDINAL

**DATE DE SOUTENANCE :** 14 Novembre 2014

**ADRESSE DE L'AUTEUR :** 42 Chemin des vignes  
74 370 Metz-Tessy