



HAL
open science

Piroplasmose équine : portage et diversité génétique de *Babesia caballi* et *Theileria equi*

Maggy Jouglin, Florian Berquier, Philippe Benezech, Claire Bonsergent, Nathalie de la Cotte, Céline Bizon, Aymeric Bohec, Anne Couroucé, Olivia Guibert, Elodie Lallemand, et al.

► To cite this version:

Maggy Jouglin, Florian Berquier, Philippe Benezech, Claire Bonsergent, Nathalie de la Cotte, et al.. Piroplasmose équine : portage et diversité génétique de *Babesia caballi* et *Theileria equi*. Journées sciences et innovations équines, IFCE, Jun 2023, Saumur, France. hal-04143904

HAL Id: hal-04143904

<https://normandie-univ.hal.science/hal-04143904>

Submitted on 28 Jun 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Laurence
Malandrin

Titulaire d'un PhD-HDR et chargée de recherches INRAE à Nantes, dans l'UMR Oniris/INRAE BIOEPAR, je mène des recherches sur les tiques, les agents infectieux qu'elles transmettent, notamment les parasites intra-érythrocytaires des genres *Babesia* et *Theileria*.

laurence.malandrin@inrae.fr

Partenaire(s)



Financeur(s)



Piroplasmose équine : portage et diversité génétique de *Babesia caballi* et *Theileria equi*

Maggy Jouglin¹, Florian Berquier¹, Philippe Benezech¹, Claire Bonsergent¹, Nathalie de la Cotte¹, Céline Bizon², Aymeric Bohec³, Anne Couroucé², Olivia Guibert³, Elodie Lallemand⁴, Agnès Leblond³, Louise Lemonnier², Aurélia Leroux², Ilaria Marano⁴, Alexandre Muzard^{1,2}, Alexandra Prévôt³, Émilie Quéré⁵, Marthe Thirouin³, Marion Toussaint⁴, Albert Agoulon¹, Laurence Malandrin¹

¹ UMR INRAE/Oniris BIOEPAR, Nantes

² CISCO, Oniris, Nantes

³ VetAgro Sup, UMR EpiA, Lyon

⁴ ENVT, Toulouse

⁵ ENVA, Maisons-Alfort

Type de présentation : oral – projet de R&D

Ce qu'il faut retenir :

La piroplasmose équine est une maladie due à la multiplication dans les hématies de l'un des deux Protozoaires parasites, *Theileria equi* et *Babesia caballi*. En France peu de données sont actuellement disponibles sur le taux de portage sain de ces parasites et sur leur diversité génétique. Dans le cadre du projet PiroGoTick, les quatre écoles nationales vétérinaires françaises ont proposé à des propriétaires de chevaux sans symptômes de piroplasmose de participer au projet en acceptant la réalisation d'une prise de sang.

La détection moléculaire des deux parasites sanguins révèle que plus d'un tiers des équidés testés sont porteurs de *T. equi*, et moins de 5% sont porteurs de *B. caballi*. Un gradient croissant nord-sud de cette prévalence, de 15% à plus de 50%, est mis en évidence en analysant séparément les données des quatre écoles. Le génotypage par séquençage de l'ARNr 18S révèle très peu de diversité génétique avec majoritairement du génotype E pour *T. equi* et exclusivement du génotype A pour *B. caballi*.



© Victoria Shibut - Dreamstime.com

En partenariat avec :



1 Contexte et objectifs

La piroplasmose équine est due à la multiplication de parasites dans les hématies des équidés. Deux protozoaires parasites transmis par les tiques sont responsables de cette maladie, *Babesia caballi* et *Theileria equi*. La piroplasmose se traduit lors de sa phase aigüe par une forte fièvre, de l'ictère (muqueuses jaunes) et de l'anémie, et il est difficile de différencier les symptômes provoqués par les deux parasites (1). *T. equi* a la particularité d'être très difficilement éliminé de l'organisme infecté, que ce soit par le système immunitaire de l'équidé ou avec l'aide d'un traitement approprié (Carbesia®). Les équidés semblent être porteurs à vie de ce parasite une fois infectés lors d'une morsure de tique. *B. caballi*, au contraire, ne semble pas capable de persister dans l'organisme infecté, avec une élimination naturelle ou après traitement.

PiroQuest est un des programmes du projet de recherche PiroGoTick qui s'intéresse à la piroplasmose des équidés et aux tiques vectrices (2). Le programme PiroQuest a pour objectif premier de déterminer la prévalence de chevaux porteurs asymptomatiques de la piroplasmose équine dans différentes régions de France. Il a aussi pour objectifs de caractériser non seulement l'espèce présente, mais aussi de typer les variants génétiques au sein de chacune des deux espèces. Pour les deux parasites, il existe en effet plusieurs génotypes très différents dans le monde entier. Ils sont nommés A à E pour *T. equi* et A, B1 et B2 pour *B. caballi*.

2 Méthode

Des échantillons de sang ont été prélevés sur des équidés présentés dans chacune des quatre écoles vétérinaires françaises situées à Maisons-Alfort, Nantes, Lyon et Toulouse. Chaque école est considérée comme un point focal avec des chevaux localisés aux alentours.

Les chevaux recrutés ont été sélectionnés sur l'absence de symptômes de piroplasmose, en visite pour des motifs autres tels que chirurgie, reproduction, boiterie... Le sang a été prélevé par ponction dans la veine jugulaire dans des tubes stériles héparinés. Les échantillons de sang ont été envoyés à l'unité de recherche BIOEPAR à Nantes pour recherche des parasites.

L'ADN génomique a été extrait à partir des échantillons sanguins, et une PCR nichée spécifique de chacune des deux espèces a été réalisée, permettant d'obtenir des fragments amplifiés de l'ARNr 18S, d'une taille de 910 pb pour *B. caballi* et de 1470 pb pour *T. equi*.

Les fragments amplifiés ont été purifiés et séquencés dans les deux sens en utilisant les mêmes amorces que pour la PCR. Les séquences assemblées ont été comparées avec les séquences présentes dans les bases de données en utilisant l'outil Blastn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) et les taux de similarité ont été obtenus à l'aide du logiciel ClustalW (<https://www.ebi.ac.uk>). Les analyses phylogénétiques ont ensuite été réalisées afin de positionner les séquences de *T. equi* et de *B. caballi* au sein des génotypes déjà décrits dans le monde.

3 Résultats

Les prélèvements sanguins se sont échelonnés de 2019 à 2023. Sur cette période, 561 prélèvements ont été reçus, avec un nombre d'échantillons comparable entre les différentes écoles nationales vétérinaires : 106 à l'ENVA, 169 à Oniris, 153 à VetAgroSup et 133 à l'ENVT (Figure 1).

Les résultats individuels des analyses sont fournis aux participants de façon anonymisée sur le site internet du projet www.pirogotick.fr (2).

3.1 Prévalence des porteurs asymptomatiques de la piroplasmose équine en France

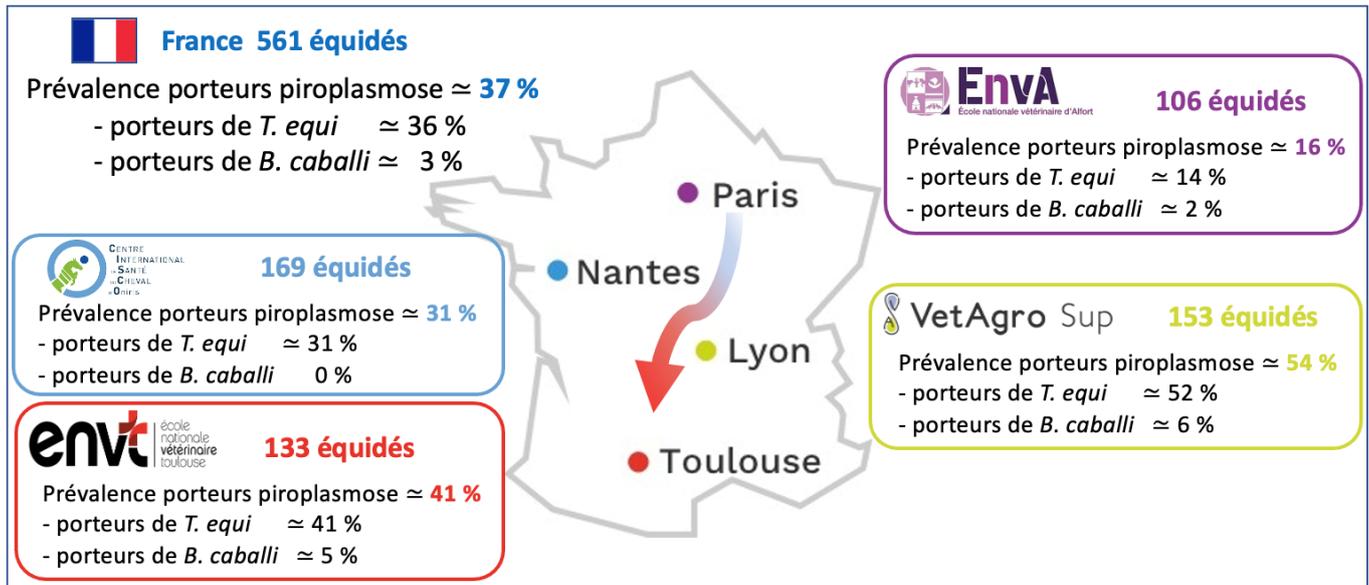
La prévalence des équidés porteurs des parasites responsables de la piroplasmose, sans symptômes, est de 37% environ sur le territoire métropolitain. La majorité d'entre eux est porteur de *T. equi* avec une prévalence d'environ 36%, alors que *B. caballi* est rarement détecté, chez seulement 3% des équidés testés (Figure 1).

Par contre les prévalences sont variables d'un site à l'autre, avec des valeurs plus élevées dans le sud de la France comparativement au nord. Autour du site de Lyon, la proportion des équidés porteurs asymptomatiques

de piroplasmose atteint plus de 50%.

Quelques cas de co-infections par les deux parasites sont mis en évidence dans les régions où la prévalence des porteurs de *T. equi* est élevée.

Figure 1 : échantillonnage et prévalence des équidés reçus dans les quatre écoles nationales vétérinaires, porteurs asymptomatiques des parasites responsables de la piroplasmose



3.2 Génotypage et analyses phylogénétiques

A partir des produits d'amplification de l'ARNr 18S, 193 séquences partielles de *T. equi* et 18 séquences partielles pour *B. caballi* ont été obtenues. Ces séquences ont été utilisées pour typer les variants génétiques des deux espèces et les positionner dans des arbres phylogénétiques (Figure 2).

Les séquences de *T. equi* se répartissent dans deux génotypes, le E et le A, sur les cinq décrits dans le monde. Le génotype E est très largement majoritaire en France avec plus de 95% des isolats. Le génotype E est présent principalement sur le continent eurasiatique.

Les séquences de *B. caballi* sont très similaires entre elles et toutes appartiennent au génotype A de cette espèce qui n'en comporte que 3 (A, B1 et B2).

4 Conclusions et applications pratiques

La prévalence des équidés porteurs de la piroplasmose en France est très élevée avec un gradient croissant nord sud. Cette différence de prévalence sera à mettre en lien non seulement avec les espèces de tiques vectrices de la piroplasmose présentes selon les zones géographiques, mais aussi avec leur abondance.

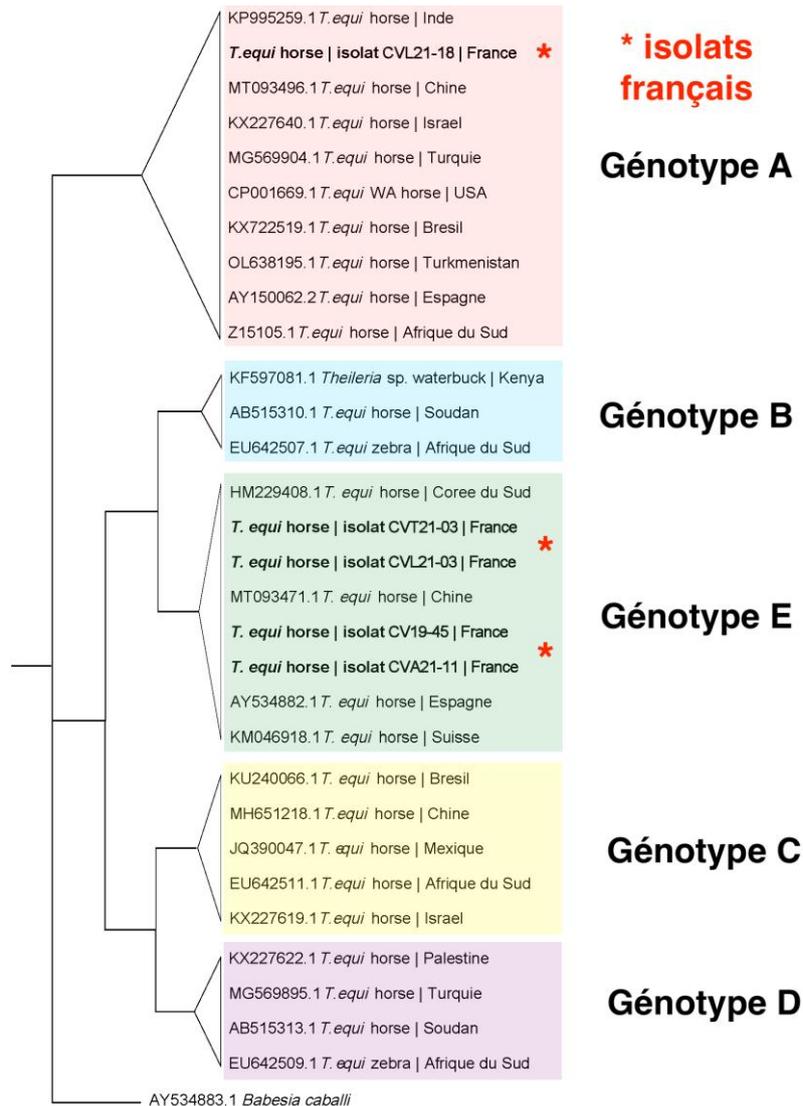
La prévalence des équidés porteurs de *T. equi* est de loin la plus élevée par rapport à celle des porteurs de *B. caballi*, ce qui confirme bien le maintien de l'infection à vie pour le premier et la possibilité de l'élimination soit immunitaire soit par traitement pour le second.

Le portage élevé de *T. equi* pose problème pour le diagnostic moléculaire des cas de piroplasmose, un résultat positif pouvant être obtenu pour un équidé symptomatique comme asymptomatique, conduisant à un traitement inutile et/ou à un faux diagnostic, laissant sans traitement la cause réelle des symptômes.

Une très faible diversité génétique des isolats de *T. equi* et *B. caballi* a été mise en évidence en France. La présence prépondérante du génotype E de *T. equi* soulève également le risque de problèmes de diagnostic. En

effet, une des cibles utilisées pour le diagnostic sérologique comme moléculaire, *ema-1*, pourrait s'avérer très différente de celle du génotype A utilisé comme référence. Cette différence pourrait induire des faux négatifs, par absence de réactions sérologiques croisées ou d'amplification moléculaire.

Figure 2 : Arbre phylogénétique des séquences partielles du gène de l'ARNr 18S de *T. equi*



5 Pour en savoir plus

- (1) Tirosh-Levy S, Gottlieb Y, Fry LM, Knowles DP, Steinman A. 2020. Twenty years of equine piroplasmosis research: global distribution, molecular diagnosis, and phylogeny.
- (2) www.pirogotick.fr