République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'El Harrach-Alger

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

Magistère en Sciences Vétérinaires

***Option* : Microbiologie Médicale Vétérinaire**

Thème:

Contribution à l'étude épidémiologique et prévalence de la piroplasmose équine à Theileria equi dans la région d'Alger et ses environs

Présenté par : **le Dr Benfenatki Amina**

Devant le jury composé de:

Pr KHELEF D.	Professeur	ENSV Alger	**Président**
Pr HAMDI TM.	Professeur	ENSV Alger	**Examinateur**
Dr BITAM I.	Maitre de Conférences A	Université de Boumerdes	**Examinateur**
Dr BOUAYED L.	Maitre de Conférences B	ENSV Alger	**Examinateur**

Directeur de thèse: **Ait Oudhia Kh, Maitre de conférences A, ENSV Alger**

Année universitaire : 2013-2014

Remerciements et Dédicaces

Remerciements

A mon Maitre et Directrice de thèse, le Docteur Ait Oudhia kh.

Vous m'avez fait le grand honneur de diriger ce travail qui est le vôtre.

Votre rigueur scientifique, votre disponibilité et vos conseils si précieux m'ont permis de le mener à terme.

L'immense liberté que vous m'avez donnée et la confiance que vous m'avez accordée m'ont été fort précieuses.

Votre aisance médicale, vos qualités humaines et professionnelles forcent l'admiration. Je suis très fière d'être votre élève.

Permettez-moi, cher Maitre, de vous témoigner ma reconnaissance et mon profond respect.

A notre Maitre, Monsieur le Professeur Khelef D.

Président du jury

Nous vous remercions pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury.

Votre participation en qualité de Président honore cette thèse.

Nous avons toujours admiré en vous vos qualités humaines et professionnelles.

Votre esprit et rigueur scientifiques, votre sagesse et votre générosité, votre intérêt pour la recherche font de vous non seulement un maitre très estimé mais aussi un modèle et un exemple à suivre.

Veuillez trouver ici le témoignage de notre admiration et de notre profond respect.

A notre Maitre, Monsieur le Professeur Hamdi TM.

Votre réputation de rigueur scientifique et de compréhension n'a d'égal que la spontanéité que vous avez témoignée à bien vouloir juger ce travail. Nous vous en remercions.

Vos compétences, votre qualité d'écoute et votre souci constant de faire que la médecine vétérinaire soit plus performante vous honorent. Vous resterez pour nous, un modèle à suivre

Veuillez trouver ici le témoignage de notre admiration et de notre considération.

A Notre Maitre, Monsieur le Docteur Bitam I.

Nous avons été vos élèves et nous sommes fiers aujourd'hui de vous présenter le fruit de ce modeste travail.

Vous nous avez toujours impressionnés par vos qualités d'enseignant, votre valeur scientifique, vos connaissances et votre intérêt pour la recherche.

Votre disponibilité et votre écoute vous honorent. Nous sommes très sensibles au grand honneur que vous nous faites en acceptant d'examiner et de juger ce travail.

Veuillez trouver ici l'expression de notre estime et notre grande considération.

A Madame le Docteur Bouayed L.

Nous n'avons pas eu la chance d'être vos élèves mais nous sommes très honorés de vous compter ce jour parmi les membres de ce jury.

Votre participation en qualité d'examinatrice honore cette thèse et nous vous en remercions.

Votre disponibilité et écoute constantes vous caractérisent déjà.

Veuillez trouver ici l'expression de notre grande gratitude et profond respect.

Je dois également un grand merci à tous ceux, et ils sont nombreux, qui ont contribué à la réalisation de ce travail. Qu'ils veuillent bien trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

A l'ensemble des ***directeurs*** des différents centres équestres et hippiques, qui ont accepté de nous ouvrir leurs centres et mis à notre disposition aussi bien leurs chevaux que leur personnel.

A l'ensemble des ***propriétaires*** d'écuries qui nous ont reçus dans leur propriété et confié leurs biens, aussi bien locaux, chevaux que personnels.

Vous nous avez permis avec l'aide de vos équipes respectives d'effectuer les prélèvements et aidé à recenser le maximum d'informations nécessaires à la réalisation de ce travail, qui est en partie le vôtre.

A Monsieur le ***Dr Boudoukha***, Directeur de l'Institut National de Médecine Vétérinaire d'Alger

Vous nous avez permis d'accéder à un institut référent qui est le vôtre. Vous nous avez ouvert toutes grandes les portes de votre laboratoire central et mis à notre disposition son personnel, afin de réaliser les manipulations nécessaires à la réalisation de ce travail.

Veuillez accepter nos sincères remerciements et notre vive gratitude.

Au ***Pr Benfenatki***, Chef de Service de Médecine Interne de l'EPH de Rouiba

Pour nous avoir accueillis dans son service et mis à notre disposition le laboratoire de cytologie et son personnel, biologistes et spécialistes en Hématologie, qui nous ont permis de traiter les prélèvements et de faire la lecture des frottis sanguins.

Merci à vous, et à vos collaborateurs pour votre aide précieuse et votre disponibilité.

A Monsieur le ***Pr Hacini***

Vous m'avez fait découvrir et aimer le monde de la technicité et du laboratoire, lors de mon passage de quelques mois au sein de votre laboratoire de Contrôle de Qualité.

Vos conseils venus toujours à temps et vos différentes interventions, votre constante écoute et disponibilité m'ont beaucoup aidée dans l'avancement de mon travail .Veuillez accepter ici l'expression de ma vive reconnaissance et de mon profond respect.

Mes remerciements et mon respect vont également :

Au ***Dr Taleb*** du CHPM, pour l'accueil, la générosité et la patience dont il a fait preuve pendant notre passage au niveau du centre.

Au ***Dr Belkadi*** de l'INMV, pour son sourire, son optimisme et ses conseils avisés, qui nous ont été fort utiles pour la lecture de nos résultats.

Au ***Dr Zaouchi***, au ***Dr Bernine*** ainsi qu'à ***Fatma*** et ***Ibtissem*** du service de Médecine Interne de l'hôpital de Rouiba, pour leur aide précieuse dans la lecture des frottis sanguins.

Au ***Dr bezzaz*** et à ***Mourad*** pour leur disponibilité et leur aide dans la réalisation des prélèvements sanguins.

A monsieur ***Sahbaoui Mustapha***, qui nous a aidés lors de notre passage au centre du Caroubier.

A ***Fahed Chouli***, qui a contribué à élargir notre échantillon.

Dédicaces

Cette thèse est dédiée à la mémoire de mon ***papa***, parti trop tôt et avec qui j'avais encore tant à partager, bien qu'il m'ait déjà tellement donné. Par ce travail, je poursuis ma progression sur le chemin vers lequel il m'a toujours guidée.

Une pensée également à la mémoire de mes ***grands parents paternels***.

A ma ***maman***, qui m'a inculqué les bonnes valeurs et l'envie de toujours aller au-delà des obstacles rencontrés. Son amour inconditionnel, sa constante présence et ses conseils sont le fondement de ce travail.

Merci d'avoir cru en moi.

A ma grande sœur ***Hind***, qui m'a toujours été d'un soutien sans faille et d'une grande aide dans tout ce que j'entreprends. Merci pour tout.

A ***Fafa*** qui représente beaucoup pour moi.

A ***Tonton*** et ***Tata*** qui m'ont beaucoup donné et appris, et ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

A ma ***grand mère maternelle*** bien que très malade, a beaucoup contribué par ses prières.

A mes oncles maternels ***Rabah***, ***Djamel, Saadi*** et ***Mourad,*** qui par leur constante bonne humeur m'ont permis de surmonter les difficultés au moment où le moral était au plus bas.

A ma cousine et grande sœur, ***Souad***, pour tous ses conseils et son aide dans chaque étape de ce travail.

A ma chère amie ***Soraya***, qui m'a accompagnée tout au long de ce travail, qui m'a initiée au monde du cheval et avec laquelle j'ai encore tant de choses à partager. Sans toi, ce travail n'aurait pas eu le même charme.

A ***Riad***, qui m'a orienté au moment de l'exploitation de mes résultats.

A mes cousins et cousines ***Manina, Selma***, ***Yasmine***, ***Hakim*** et ***Riad,*** pour m'avoir épaulée et avoir cru en moi.

A ***Hichem***, pour m'avoir si souvent encouragée et qui ne s'est jamais lassé de m'écouter lorsque j'en avais besoin.

A mon ami ***Mustapha***, qui nous a accompagnés dans la plupart de nos déplacements et qui nous a ouvert toutes grandes les portes de sa propriété. Nous avons partagé tellement de bons moments qui nous ont fait oublier les difficultés du terrain.

REMERCIEMENTS ET DEDICACES

A ma grande amie ***Dalia***, qui a toujours trouvé des solutions à mes problèmes au cours de nos fameuses discussions interminables. Merci d'être constamment là pour moi.

Au Dr ***Newfel Bougandoura***, pour sa collaboration lors des prélèvements et pour ses précieux conseils.

A mon coach, ***Monsieur Abidat***, qui m'a inculqué l'amour de l'équitation et qui m'a appris tant de choses dans ce domaine. Grace à vous, mon histoire avec les chevaux durera très longtemps.

A tous mes Maitres et Professeurs qui m'ont transmis leur savoir.

Liste des figures :

Figure 1 : *B.caballi* en microscopie optique (Metayer, 2007)..... 9
Figure 2 : Différentes formes de *B.caballi* (Poisson, 1998) Cité dans (Le Metayer, 2007)..... 10
Figure 3 : Cycle évolutif des *Babesia* (Maslin & Beugnet, 2004) 11
Figure 4 : Cycle évolutif de *B.caballi* (Melhorn & Walldorf, 1988) Cité dans (Le Metayer, 2007)..... 14
Figure 5 : *T.equi* sous microscope optique (Le Metayer, 2007)..... 15
Figure 6 : Différentes formes de *T.equi* (Poisson, 1998) Cité dans (Le Metayer, 2007) 15
Figure 7 : Cycle évolutif de *T.equi* (Melhorn & Walldorf, 1988) Cité dans (Le Metayer, 2007) 17
Figure 8 : Taxinomie des tiques (Fontenille, et al., 2009)..... 19
Figure 9 : Morphologie de la tique, face dorsale (Marchal, 2011)..... 20
Figure 10 : Morphologie ventrale (A) et dorsale (B) du capitulum des Ixodidés d'après (Marchal, 2011; Baxter, 2013) 21
Figure 11 : Différentes formes de capitulum selon l'espèce (Chastel, 2013) 21
Figure 12 : Organe de Haller (Baxter, 2013; Marchal, 2011) 22
Figure 13: Cycle de développement des tiques (Chastel, 2013) 23
Figure 14 : Différents stades de développement des tiques : larve, nymphe, adulte mâle, adulte femelle (Chastel, 2013) 24
Figure 15 : Accouplement des tiques (Baxter, 2013)..... 24
Figure 16 : Représentation schématique de la pénétration de la tique (Chastel, 2013; Baxter, 2013)..... 26
Figure 17 : Interactions entre la tique, l'agent pathogène et l'hôte vertébré (Nuttal & Labuda, 2004)..... 27
Figure 18 : Répartition géographique des piroplasmoses (épizooties, 2014) 29
Figure 19 : Danger de piqure de tiques (Baxter, 2013)..... 30
Figure 20 : Répartition géographique de *D. marginatus* (Le Metayer, 2007) 31
Figure 21 : Répartition géographique de *D. reticulatus* (Le Metayer, 2007)..... 31
Figure 22 : Cinétique des anticorps après infection expérimentale à *B.caballi* (à gauche) et à *T.equi* (à droite)..... 39
Figure 23 : Principaux symptômes au cours de l'affection due à *B.caballi* (Cadore, et al., 1995) Cité dans (Le Metayer, 2007) 43
Figure 24 : Principaux symptômes au cours de l'affection due à T.equi (Cadore, et al., 1995) Cité dans (Le Metayer, 2007)..... 44
Figure 25 : Principe de la PCR (Malardé, 2008)..... 49
Figure 26 : Illustration du principe de la fixation du complément, d'après (Grangeot-Keros, 2003)..... 52
Figure 27 : Principe de la technique ELISA (Technobio, 2008)..... 54
Figure 28 : Représentation de l'arrachement d'une tique à l'aide d'une pince (Baxter, 2013) 59
Figure 29 : Distribution des zones retenues 64

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Tableau brut de l'échantillon global 84
Tableau 2 : Caractéristiques physiques en fonction de l'activité principale 88
Tableau 3 : Caractéristiques sanitaires en fonction de l'activité principale 89
Tableau 4 : Caractéristiques de l'écurie en fonction de l'activité principale 91
Tableau 5 : Caractéristiques de l'environnement en fonction de l'activité principale 92
Tableau 6 : Fréquence de la parasitémie positive en fonction de chaque caractéristique physique et sanitaire 96
Tableau 7 : Fréquence de la parasitémie positive en fonction de chaque caractéristique de l'écurie et de l'environnement 97
Tableau 8 : Répartition des résultats de la parasitémie en fonction des caractéristiques physiques et sanitaires 98
Tableau 9 : Répartition des résultats de la parasitémie en fonction des caractéristiques de l'écurie et de l'environnement 100
Tableau 10 : Fréquence de la séropositivité en fonction de chaque caractéristique physique et sanitaire 102
Tableau 11 : Fréquence de la séropositivité en fonction de chaque caractéristique de l'écurie et de l'environnement 103
Tableau 12 : Résultats de la sérologie en fonction de l'activité principale 104
Tableau 13 : Résultats de la sérologie en fonction des caractéristiques physiques 106
Tableau 14 : Résultats de la sérologie en fonction des caractéristiques sanitaires 107
Tableau 15 : Résultats de la sérologie en fonction des caractéristiques de l'écurie 108
Tableau 16 : Résultats de la sérologie en fonction des caractéristiques de l'environnement 109
Tableau 17 : Facteurs de risque et facteurs protecteurs vis-à-vis de *T.equi* 109
Tableau 18 : Répartition des résultats sérologiques en fonction des résultats des frottis (n) . 109
Tableau 19 : Répartition des résultats des frottis en fonction des résultats sérologiques (%) 110
Tableau 20 : Répartition des résultats sérologiques en fonction de ceux des frottis (%) 110

Liste des graphes :

Graphe 1 : Répartition des différentes races 86
Graphe 2 : Répartition en fonction du sexe 86
Graphe 3 : Répartition en fonction des tranches d'âge 87
Graphe 4 : Répartition des différentes activités 87
Graphe 5 : Répartition des résultats des frottis en fonction de la saison 94
Graphe 6 : Répartition du sexe en fonction des résultats des frottis 95
Graphe 7 : Répartition des résultats des frottis en fonction de l'âge 95
Graphe 8 : Répartition des résultats sérologiques en fonction de l'activité principale 104
Graphe 9 : Répartition des résultats sérologiques en fonction du sexe 105
Graphe 10 : Répartition des résultats sérologiques en fonction de l'âge 105

Liste des photos :

Photo 1 : glacière avec pains de glace 67
Photo 2 : matériel de prélèvement 67
Photo 3 : désinfection, compression de la veine et introduction de l'aiguille 68
Photo 4 : insertion du tube sous vide dans l'aiguille et aspiration du sang 68
Photo 5 : les tubes mis dans la glacière pour leur transport 68
Photo 6 : Matériel de confection des frottis 68
Photo 7 : Récupération de la goutte de sang 69
Photo 8 : Goutte de sang sur lame 69
Photo 9: (a) pose de la lamelle sur la goutte, (b) répartition de la goutte le long de la lamelle, (c, d, e) réalisation du frottis, (f) séchage du frottis par agitation 69
Photo 10 : matériel de récupération des sérums 70
Photo 11 : centrifugeuse 70
Photo 12 : Séparation des composants 70
Photo 13 : Placement des tubes dans la 70
Photo 14 : Dépôt des sérums dans les eppendorfs 71
Photo 15: Congélation des sérums 71
Photo 16 (a,b,c,d,e): Coloration des lames 73
Photo 17: Microscope optique 74
Photo 18: kit cELISA pour la recherche de *Babesia equi* 75
Photo 19 : Composants kit cELISA 76
Photo 20 : (a) embouts pour micropipette, (b) pipette multicanaux 77
Photo 21 : Réactifs et sérums à T° ambiante 77
Photo 22 : Numéroter les microplaques 78
Photo 23 : solution de lavage 78
Photo 24 : eau distillée 78
Photo 25 : Dilution des sérums 79
Photo 26 : Transfert des sérums dans la plaque sensibilisée 79
Photo 27: (a) vider la plaque; (b); (c) laver la plaque avec la solution de lavage 80
Photo 28 : Distribuer les anticorps primaires 80
Photo 29 : (a) solution de substrat; (b) distribution du substrat 81
Photo 30 : (a) solution stop; (b) distribution de la solution stop 81
Photo 31 : lecture au spectrophotomètre 82
Photo 32 (a) et (b) : *T.equi* sous microscope optique (forme arrondie) 93
Photo 33 (a) et (b) : *T.equi* sous microscope optique (forme en croix de Malte) 93
Photo 34 (a) et (b) : *B.caballi* sous microscope optique 94

Liste des abréviations :

ACM : Analyse des composantes multiples.
B.caballi : *Babesia caballi.*
T.equi : *Theileria equi.*
D. marginatus: *Dermacentor marginatus.*
D. reticulatus : *Dermacentor reticulatus.*
R. bursa : *Rhipicephalus bursa.*
CFT : test de fixation du complément.
IFI : immunofluorescence indirecte.
IFD : immunofluorescence directe.
ELISA : enzyme linked-immunosorbent assay.
cELISA : ELISA par inhibition compétitive.
E. coli : Escherichia coli.
AcM : anticorps monoclonaux.
HRP : horseradish peroxydase, peroxydase de raifort.
D.O : densité optique.
I : Inhibition.
ml : millilitre.
µl : microlitre.
OR : odds ratio.
IC : intervalle de confiance.
A.Q.P.S : autre que pur sang.

Liste des annexes :

Annexe 1 : Questionnaire cheval
Annexe 2 : Questionnaire environnement
Annexe 3 : Description de la technique cELISA

Sommaire

SOMMAIRE

Introduction 1

Problématique 4

Première partie : Etude bibliographique 7

I. Historique 7

II. Les parasites 8

1. Taxinomie des parasites 8

2. *B.caballi* 9

2.1. Morphologie 9

2.2. Cycle évolutif 10

2.2.1. Développement chez l'hôte vertébré 11

2.2.1.1. La mérogonie 11

2.2.2. Développement chez la tique 12

2.2.2.1. La gamogonie 12

2.2.2.2. La sporogonie 13

3. *Theileria equi* 14

3.1. Morphologie 14

3.2. Cycle évolutif 15

3.2.1. Développement chez l'équidé : la schizogonie 15

3.2.2. Développement chez la tique 16

3.2.2.1. La gamogonie 16

3.2.2.2. La sporogonie 17

3.3. De *Babesia equi* à *Theileria equi* 18

III. Les vecteurs 18

1.1. Taxinomie 19

1.2. Morphologie des tiques 20

1.2.1. Le capitulum 20

1.2.2. L'idiosome 22

1.3. Cycle évolutif des Ixodina 23

1.4. Les hôtes des tiques 25

1.5. Interactions entre la tique et son hôte 25

1.5.1. Fixation de la tique 25

1.5.2. Composition de la salive 26

1.5.3. Repas de la tique 26

1.6. Interactions entre la tique, son hôte et l'agent pathogène 26
IV. Epidémiologie 28
1. Répartition géographique des piroplasmoses équines 28
2. Répartition géographique des tiques vectrices 29
2.1. Principaux vecteurs 30
2.1.1. *Dermacentor marginatus* 30
2.1.2. *Dermacentor reticulatus* 31
2.1.3. *Rhipicephalus bursa* 31
3. Transmission 32
3.1. Sources de transmission 32
3.1.1. Sources directes : les tiques 32
3.1.2. Sources indirectes : les chevaux infectés 33
3.2. Modes de transmission 33
3.3. Rôle de l'immunité dans la transmission 34
4. Facteurs de réceptivité et de sensibilité 34
4.1. Espèce et âge 34
4.2. Race 34
4.3. Statut épidémiologique de la région 35
V. Impact pathologique de la piroplasmose 35
1. Pathogénie 35
2. Lésions 35
3. Réponse immunitaire de l'hôte 36
3.1. Défense de l'hôte contre la tique 36
3.2. Défenses de l'hôte contre le parasite 36
3.2.1. Immunité à médiation cellulaire 37
3.2.2. Immunité à médiation humorale 37
3.2.2.1. Cinétique des anticorps 38
VI. La maladie : les piroplasmoses équines 40
1. Symptômes 40
1.1. Piroplasmose à *B.caballi* 41
1.1.1. Forme aigue 41
1.1.2. Forme chronique 42
1.2. Piroplasmose à *T.equi* 43

1.2.1. Forme aigue 43
1.2.2. Forme chronique 44
VII. La piroplasmose chez l'homme 45
VIII. Diagnostic 46
1. Epidémiologique 46
2. Clinique 46
3. De confirmation 47
3.1. Diagnostic direct 47
3.1.1. Technique de la goutte épaisse 47
3.1.2. Réalisation de frottis sanguins 47
3.1.3. PCR (Polymerase Chain Reaction) 48
3.1.4. Immunofluorescence directe (IFD) 49
3.2. Diagnostic indirect (examens immunologiques) 50
3.2.1. Test de fixation du complément (CFT) 50
3.2.2. Immunofluorescence indirecte (IFI) 52
3.2.3. Elisa (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) 53
3.2.3.1. Principe général 53
3.2.3.2. Production d'antigènes 54
3.2.3.3. Principe du cELISA 55
4. Différentiel 55
IX. Aspects thérapeutiques et préventifs 55
1. Traitement 55
1.1. Traitement spécifique 56
1.1.1. L'imidocarbe 56
1.2. Traitement symptomatique 57
2. Prophylaxie 57
2.1. Médicale 58
2.1.1. Chimioprévention 58
2.1.2. Vaccination 58
2.2. Sanitaire 58
X. Pronostic 59
Seconde partie : Etude expérimentale 61
I. Objectifs de l'étude 62

1.1. Objectif principal 62
1.2. Objectifs secondaires 62
II. Matériel et méthodes 63
1. Matériel 63
1.1. Zone d'étude et écuries retenues 63
1.2. Critères d'inclusion 64
1.3. Critères d'exclusion 64
2. Méthodes 65
2.1. Collecte des données et utilisation statistique 65
2.1.1. Réalisation des questionnaires 65
2.1.2. Analyse des données 66
2.2. Prélèvements de sang et réalisation des frottis 66
2.2.1. Prélèvements sanguins 66
2.2.2. Réalisation des frottis 68
2.2.3. Récupération des sérums 70
2.2.4. Coloration des lames 72
2.3. Méthodes d'analyse 73
2.3.1. Examen direct 73
2.3.2. Examen immunologique 74
III. Méthodes statistiques 82
1. Analyse univariée 83
2. Analyse bivariée 83
IV. Résultats 83
1. Analyse descriptive de la population étudiée et de son environnement 84
1.1. Etude des caractéristiques de l'échantillon 85
1.1.1. Etude des caractéristiques physiques des chevaux 85
1.1.2. Etude des caractéristiques sanitaires des chevaux 88
1.1.3. Etude des caractéristiques de l'écurie 89
1.1.4. Etude des caractéristiques environnementales 91
2. Impact des différentes caractéristiques sur les résultats 92
2.1. Prévalence de la parasitémie et facteurs de risque pour la piroplasmose à *T.equi*. 93
2.1.1. Caractéristiques physiques et sanitaires 97
2.1.2. Caractéristiques des écuries et de leur environnement 99

2.2. Séroprévalence et facteurs de risque pour la piroplasmose à *T.equi* 101
2.2.1. Description de la population à sérologie positive et de son environnement.. 101
2.2.1.1. Relation entre séropositivité et caractéristiques physiques 103
2.2.1.2. Relation entre séropositivité et caractéristiques sanitaires 106
2.2.1.3. Relation entre séropositivité et caractéristiques de l'écurie 107
2.2.1.4. Relation entre séropositivité et caractéristiques de l'environnement 108
2.3. Etude des corrélations entre les résultats de la parasitémie et ceux de la sérologie 109
2.4. Quelle interprétation donner à l'analyse statistique ? 110
V. Discussion 111
1. Protocole de travail choisi 111
1.1. Ecuries choisies 111
1.2. Effectif retenu 111
1.3. Test diagnostic retenu 112
1.4. Collecte de données 112
1.5. Choix de la période de prélèvement 113
2. Prévalence de la piroplasmose dans Alger et ses environs 113
3. Analyse des facteurs de risque et des facteurs protecteurs 115
3.1. A l'échelle du cheval 115
3.1.1. Séropositivité et caractéristiques physiques 115
3.1.1.1. Sexe, activité et déplacement 115
3.1.1.2. Age 116
3.1.2. Séropositivité et caractéristiques sanitaires 116
3.1.2.1. Séropositivité et signes cliniques 116
3.1.2.2. Séropositivité et autres facteurs sanitaires 117
3.2. A l'échelle des écuries et de leur environnement 118
3.2.1. Séropositivité et gestion des écuries 118
3.2.2. Séropositivité et chevaux à proximité 118
3.2.3. Séropositivité et saison de prélèvement 118
3.2.4. Séropositivité et lutte contre les tiques 119
4. Séropositivité et parasitémie 119
Recommandations et stratégie de lutte contre la piroplasmose 121
Conclusion 123

Perspectives 125
Références bibliographiques 126

Introduction

Introduction

La piroplasmose équine ou babésiose équine est une protozoose infectieuse, non contagieuse à transmission vectorielle ; c'est une zoonose émergente n'atteignant l'homme qu'exceptionnellement.

Elle est provoquée par le développement et la multiplication dans les hématies de l'hôte, de parasites du genre *Babesia* ou *Theileria* inoculés par des tiques (Xie, et al., 2013; Baptistaa, et al., 2013).

Il a été recensé plus de 100 espèces de *Babesia* décrites chez les vertébrés dont 4 sont retrouvées en médecine humaine (Maslin & Beugnet, 2004). On devrait donc parler des babésioses ou des piroplasmoses et non de la babésiose ou de la piroplasmose.

La piroplasmose est présente chez de nombreux animaux domestiques et sauvages. Elle touche particulièrement les bovins, les chiens ainsi que les équidés chez lesquels elle est importante, fréquente et parfois grave. Elle est en revanche rare chez les ovins et exceptionnelle chez les chats (Maslin & Beugnet, 2004; Fontaine & Cadore, 1995).

Babesia est le second parasite le plus souvent retrouvé dans le sang des mammifères après les trypanosomes (Schnittger, et al., 2012).

Les piroplasmoses équines ou babésioses équines sont provoquées par le développement et la multiplication dans les hématies des équidés incluant les chevaux, les ânes, les mulets ainsi que les zèbres, de parasites du genre *Theileria* ou *Babesia* (Xie, et al., 2013; Baptistaa, et al., 2013) qui pénètrent dans les globules rouges des équidés, s'y multiplient et les font éclater. Ces parasites sont transmis à l'équidé par une piqure de tiques dures de la grande famille des Ixodidés principalement *Dermacentor, Rhipicephalus* et *Hyalomma* séjournant habituellement dans les haies, les bois et les broussailles. La tique se déplace alors sur l'animal et le pique. En faisant son repas, la tique injecte par la même occasion à l'animal sa salive qui contient le parasite. Une seule tique peut causer la contamination de plusieurs équidés (Couroucé & Desbrosse, 2010).

La piroplasmose équine est endémique dans les régions tropicales et subtropicales, elle peut également être présente dans les zones tempérées avec des conditions de vie favorables aux tiques. Elle est observée de l'Europe à l'Asie et dans le reste du monde. La prévalence

peut être élevée dans certaines régions, elle est directement liée à la distribution des tiques vectrices qui sont les agents biologiques de transmission de la maladie (Hanns-Jürgen, 1989; Ribeiro, 2013; Silva, et al., 2013; Sevinc, et al., 2008). Elle est plus fréquente au printemps et en automne en raison de la prolifération des tiques en ces périodes (Maurin, 2010). Tous les chevaux sont sensibles à l'infection, cependant elle demeure plus grave chez les chevaux âgés (Maurin, 2010).

L'affection peut revêtir deux aspects cliniques principaux de diagnostic et de pronostic variables. La forme aigue est facilement diagnostiquée par le praticien vétérinaire, devant un tableau de survenue brutale réalisant une anémie hémolytique fébrile et un ictère, conséquence de la lyse des globules rouges, parfois une hémoglobinurie (Hanns-Jürgen, 1989). Le pronostic est dominé par la survenue de complications hépatorénales (Fontaine & Cadore, 1995). Dans la forme aigue, les symptômes cliniques sont tellement évocateurs de l'affection qu'ils autorisent la mise en route du traitement de la maladie, qui sera secondairement confirmée par les examens de laboratoire.

Par contre, dans sa forme chronique qui peut s'installer d'emblée ou suivre une forme aigue passée inaperçue, l'existence de certains signes frustes tels que l'altération de l'état général et une anémie persistante peuvent rester méconnus ou prêter à confusion avec d'autres affections retardant le diagnostic et la prise en charge de l'affection (Maurin, 2010). Dans la forme chronique, seuls les examens paracliniques et notamment les examens de laboratoire permettront le diagnostic de l'affection. La mise en évidence des anticorps spécifiques par sérologie permet de manière certaine le diagnostic de piroplasmose. Beaucoup de progrès ont ainsi été réalisés au cours de ces dernières années sur le plan du diagnostic de l'affection ; la PCR, spécifique, détectant précocement les traces d'ADN du parasite est la méthode la plus spécifique.

Il existe un traitement spécifique de la piroplasmose administré par voie injectable et selon un protocole particulier. Il n'y a pas encore de vaccin contre la piroplasmose chez le cheval. Le meilleur traitement de la piroplasmose chez le cheval reste la prévention qui consiste à éviter l'infestation du cheval par les tiques au moyen de produits antiparasitaires administrés précocement, localement, dès la mise au pré.

La piroplasmose est une zoonose, elle peut causer chez l'homme des symptômes faisant penser au paludisme. Comme pour l'animal, le parasite est transmis par piqure de tiques.

Le statut sérologique de la piroplasmose est le souci de nombreux acteurs sachant qu'elle est un réel problème sanitaire, économique et sportif.

Problématique

Problématique

Les piroplasmoses équines et plus précisément les piroplasmoses du cheval, sont des maladies des chevaux vivant au pré à l'herbe ou tout au moins à l'extérieur, elles sont transmises par piqure de tiques dont il existe plusieurs espèces. Ces tiques sont retrouvées le plus souvent au printemps et à l'automne et affectent plutôt les jeunes chevaux. Ces traits épidémiologiques sont étroitement liés aux vecteurs (les tiques), à certains facteurs intrinsèques de leurs hôtes et à la spécificité des parasites infectants.

La piroplasmose équine peut se présenter sous plusieurs aspects. Mais quelque soit l'aspect clinique de la maladie réalisé, il est important de la diagnostiquer car elle cause chez le cheval une diminution d'appétit provoquant un abattement et une diminution des capacités parfois même la mort de l'animal.

Au début, la piroplasmose humaine était attribuée uniquement à *Babesia microti* et *Babesia divergens*. De nos jours, il devient évident que plusieurs espèces de *Babesia* peuvent transmettre la maladie à l'homme (Schnittger, et al., 2012).

La piroplasmose équine est donc une maladie vectorielle, c'est une zoonose qui peut causer chez l'homme des troubles pouvant conduire à une défaillance multiviscérale.

En dehors de l'impact sanitaire néfaste causé par l'infestation aussi bien chez le cheval que chez l'homme, la piroplasmose représente également un problème d'ordre économique pour l'industrie équine. L'exemple des Jeux Olympiques d'Atlanta de 1996 illustre bien cet état de fait et permet d'apprécier l'ensemble des moyens mis en œuvre pour maintenir une zone indemne lors de l'introduction de chevaux séropositifs. On notera tout d'abord les dépenses liées à la surveillance de la maladie, en plus du fait que cette surveillance a des effets négatifs sur le commerce et le transport des chevaux.

La piroplasmose équine constitue le principal obstacle pour le transport international des chevaux (Ribeiro, 2013; Sevinc, et al., 2008). L'importance de cette maladie a augmenté lorsque les USA n'ont autorisé que l'importation des chevaux à sérologie négative (Hanns-Jürgen, 1989). Les importations et les exportations de chevaux nécessitant des tests sérologiques (Baptistaa, et al., 2013) exigent des dépenses supplémentaires.

Au niveau d'un élevage, son importance réside dans les pertes qu'elle engendre et qui peuvent aller de la baisse de performances à la mort de l'animal, en plus des dépenses fournies pour la prophylaxie et le traitement de la maladie (Ribeiro, 2013; Maslin & Beugnet, 2004). En effet la perte de chevaux dans la forme aigue d'une part, et le rejet des chevaux des compétitions lorsque la maladie se présente sous sa forme latente d'autre part, entrave lourdement l'économie à l'échelle individuelle ou du pays.

Le second volet est d'ordre épidémiologique joué par les animaux porteurs sains, ainsi que les animaux sauvages qui sont le réservoir de la maladie (Maslin & Beugnet, 2004) à l'origine de sa propagation et de sa transmission à l'homme (Schnittger, et al., 2012).

La prévalence de la piroplasmose équine et plus exactement de la piroplasmose du cheval de par le monde est diversement appréciée pour ne pas dire méconnue ; elle est le fruit de quelques études réalisées par ci par là mais ne reflétant nullement la réalité.

Jusque là, peu d'études ont été faites en Afrique où la piroplasmose sévit à l'état hyperendémique (Silva, et al., 2013; Ribeiro, 2013; Hanns-Jürgen, 1989) et aucune étude n'a été faite sur la piroplasmose équine en Algérie. Cette étude nous a semblé importante à réaliser pour plusieurs raisons.

La prévalence des porteurs chroniques, véritables réservoirs du parasite est totalement ignorée dans notre pays. Le développement anarchique des écuries et des centres équestres, le déplacement non contrôlé des chevaux notamment pour la reproduction aggrave la situation épidémiologique.

L'étude de la prévalence de cette maladie va nous permettre de connaitre le pourcentage de chevaux atteints dans une région donnée et de déterminer la provenance de ces chevaux. Ceci nous permettra d'établir la marche à suivre afin de diagnostiquer et d'éviter la prolifération de la maladie qui passe aussi par la lutte contre les vecteurs.

Les moyens de lutte et d'éradication de la piroplasmose équine, bien codifiés dans le monde, sont pratiquement inexistants en Algérie.

Les équins, l'âne, le mulet et le cheval ont été depuis l'antiquité et dans le quotidien en contact permanent avec l'homme. Ce dernier les a utilisés pour le transport aussi bien de marchandises que des personnes par le biais de carrosses, pour les compétitions et l'équitation ainsi que pour l'élevage et la reproduction. Ce contact parfois professionnel ou autre, expose à

l'infestation par le parasite transmis par les tiques à l'origine d'un véritable problème de santé publique.

La prise en charge de la défaillance viscérale chez l'homme est très couteuse alors que les mesures de lutte contre l'infestation par le parasite et son éradication sont bien codifiées et non couteuses. Il devient alors indispensable de bien connaitre l'affection, savoir la diagnostiquer et la traiter précocement.

Comme *T.equi* est plus pathogène et plus présent dans les régions endémiques que *B.caballi* et du fait que les animaux porteurs de *T.equi* le sont à vie alors que ceux porteurs de *B.caballi* ne le sont que pendant quelques années (Baptistaa, et al., 2013), nous avons choisi de procéder dans un premier temps à l'étude de la prévalence de *T.equi* chez le cheval dans la région d'Alger et ses environs.

Première partie : étude bibliographique

Première partie : Etude bibliographique

I. Historique

C'est vers la fin du 19ème siècle et plus exactement en 1888, que Babes fût le premier à découvrir la présence de micro-organismes dans les érythrocytes de bovins vivant en Roumanie, et qui présentaient une hémoglobinurie. Il découvre plus tard la présence de micro-organismes similaires chez les moutons (1892) (Schnittger, et al., 2012; Uilenberg, 2006).

Le nom de *Pyrosoma bigemina* a été donné à l'agent de la fièvre des bovins aux USA, par Smith et Kilborne en 1893, qui ont mis en évidence la relation entre cette fièvre et la présence de parasites intraérythrocytaires. Ils ont par la suite démontré que cet agent était transmis par les tiques ; il s'agissait de la première description d'un arthropode transmettant des micoorganismes à des vertébrés (Schnittger, et al., 2012; Uilenberg, 2006).

Durant la même année, Stracovici a donné à ces trois parasites décrits par Babes, Smith et Kilborne, les noms de *Babesia bovis, Babesia ovis* et *Babesia bigemina* respectivement (Uilenberg, 2006).

Plusieurs noms pour ce genre ont été proposés depuis, *Piroplasma* en est le meilleur. Il fait référence au fait que le parasite prend une forme de poire (« pear » en Anglais) après sa multiplication.

A ce jour, les babésioses et les théilérioses sont regroupées sous le nom de piroplasmoses (Uilenberg, 2006; Schnittger, et al., 2012).

Depuis, plusieurs *Babesia* parasitant le sang d'autres animaux ont été identifiées. Piana et Galli-Valerio ont décrit la présence de *Babesia canis* chez le chien (1895). Chez les équidés, le premier parasite identifié par Laveran en 1901 a été *Babesia equi* (actuellement *T.equi*), puis en 1911 Nutall et Strickland ont mis en évidence *B.caballi* qui est le second parasite piroplasme des chevaux (Le Metayer, 2007).

Plus d'une centaine d'espèces de *Babesia* ont été découvertes grâce aux progrès de la microscopie, de la biologie cellulaire et moléculaire dont quatre chez l'homme (Schnittger, et al., 2012; Uilenberg, 2006).

C'est en 1957 que Skrabalo décrivait le premier cas humain européen de babésiose, chez un malade splénectomisé depuis 11 ans, ce dernier ne survivra pas à la maladie. En 1968, le premier cas américain fut décrit par Scholtens, c'est un cas de babésiose survenu après une splénectomie pratiquée deux ans auparavant (Nozais, 1996).

II. Les parasites

1. Taxinomie des parasites

Les *Babesia* et les *Theileria* sont nommés piroplasmes en raison de leur forme en poire quand ils sont à l'intérieur des globules rouges de l'hôte vertébré. Ils peuvent être facilement différenciés des autres parasites du sang car ce sont des parasites sanguins non pigmentaires. En effet, *Babesia* et *Theileria* digèrent suffisamment bien l'hémoglobine pour ne pas laisser de résidus intra-érythrocytaires contrairement à *Plasmodium* et *Haemoproteus* (Schnittger, et al., 2012).

La classification des piroplasmes se faisait, avant le développement des techniques de biologie moléculaire, selon les caractéristiques biologiques et morphologiques. La présence ou l'absence de schizontes dans le cycle évolutif du parasite permettait de faire la distinction entre *Babesia* et *Theileria* (Schnittger, et al., 2012).

Deux groupes ont été créés, le groupe des *Babesia* caractérisé par l'absence de phase de multiplication extraérythrocytaire, donc l'absence de schizogonie, et une transmission transovarienne du parasite chez la tique ; le groupe des *Theileria* caractérisé par la présence de schizogonie et une absence de transmission transovarienne chez la tique. Un troisième groupe a été créé regroupant les parasites ayant les caractéristiques de *Babesia* avec une transmission transtadiale. *Babesia equi* faisait partie de ce groupe jusqu'à ce qu'il soit prouvé qu'il existait une phase de schizontes dans les lymphocytes (Schnittger, et al., 2012).

D'autres éléments permettent la distinction entre les deux genres. *Theileria* produit après multiplication intraérythrocytaire 4 mérozoïtes contrairement à *Babesia* qui n'en produit que 2 le plus souvent ; les *Theileria* passent par les lymphocytes ou les macrophages avant de pénétrer à l'intérieur des hématies, contrairement aux *Babesia* qui pénètrent directement dans les globules rouges (Marchal, 2011; Uilenberg, 2006).

La piroplasmose équine peut être causée par deux parasites, *T.equi* et *B.caballi*. Ces deux parasites sont différents l'un de l'autre que ce soit dans l'intensité des symptômes qu'ils

causent ou dans leurs morphologie et mode de vie. La différenciation de l'espèce se fait par observation de la taille et de la forme intraérythrocytaire du parasite au microscope (Maslin & Beugnet, 2004). La classification pour *B.caballi* et *T.equi* a été proposée en 1987 par J. Euzeby (Guillot, 2002).

Dans la littérature, *B.caballi* est retrouvé sous la dénomination de *B.caballi* ou de *Piroplasma caballi* dans les anciennes publications alors que *T.equi* était anciennement nommé *Babesia equi*. Dans certaines publications très anciennes *Babesia equi* portait le nom du chercheur français *Nuttalia equi* qui a beaucoup travaillé sur les agents de la piroplasmose dans les années 1910 (Guillot, 2002).

B.caballi et *T.equi* font partie de l'embranchement des Protozoa et de la classe des Sporozoaires. Ils sont tous les deux rattachés au sous-ordre des Babesiina. *B.caballi* appartient à la famille des babesiidés et au genre *Babesia* et *T.equi* appartient à la famille des Theileriidés et au genre *Theileria* (Le Metayer, 2007).

Nous allons étudier les différentes propriétés de chaque parasite.

2. *B.caballi*

2.1. Morphologie

La morphologie de *B.caballi* décrite ci-dessous est celle du parasite lorsqu'il est retrouvé à l'intérieur des globules rouges de l'hôte vertébré. Elle est étudiée après coloration des étalements sanguins au Giemsa et observation par microscopie optique (Le Metayer, 2007).

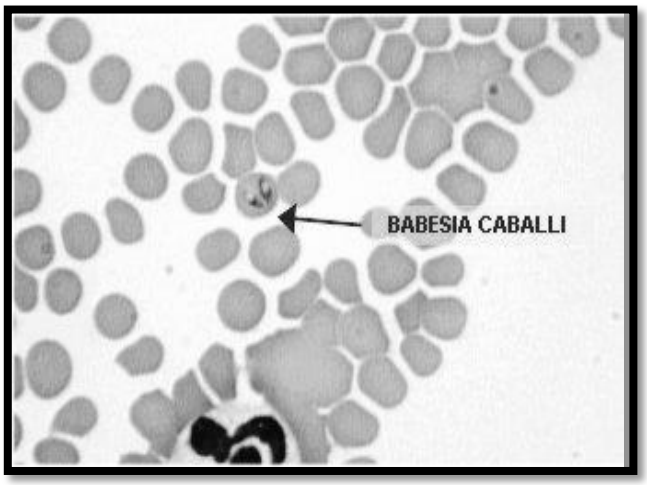


Figure 1 : *B.caballi* en microscopie optique (Metayer, 2007)

B.caballi est un parasite intra-érythrocytaire d'aspect piriforme et parfois sphérique. Il fait partie du groupe des grandes babésies, il a un diamètre de 1,3 à 3 µm et une longueur de 2 à 5 µm et peut atteindre 6 µm de long. Les parasites sont souvent groupés en 2 dans un même érythrocyte et reliés par leur extrémité la plus fine (Hanns-Jürgen, 1989; Le Metayer, 2007).

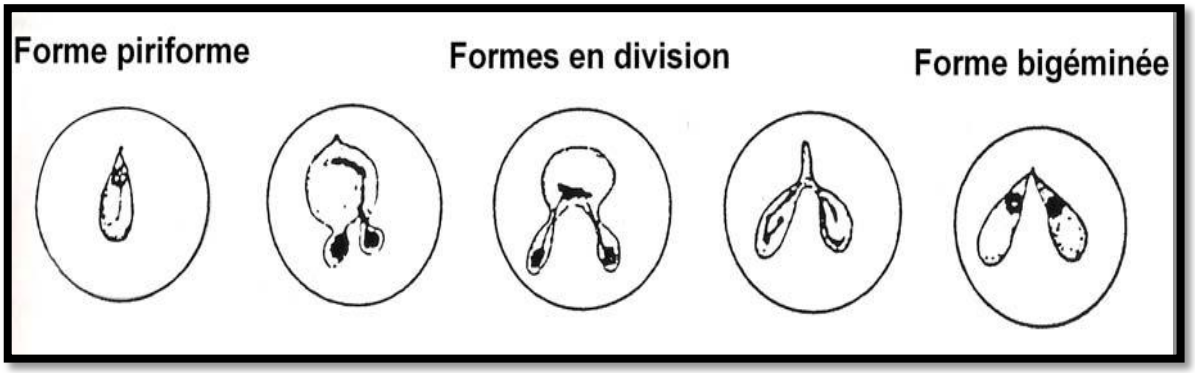


Figure 2 : Différentes formes de *B.caballi* (Poisson, 1998) Cité dans (Le Metayer, 2007)

2.2. Cycle évolutif

Le cycle parasitaire de *B.caballi* est un cycle dixène qui fait intervenir obligatoirement un hôte définitif, une tique dure de la grande famille des Ixodidés. Cette dernière assure la transmission du parasite à l'hôte intermédiaire, l'équidé. C'est donc la combinaison tique-équidé qui assure la pérennité du parasite (Le Metayer, 2007).

Chez ces deux hôtes se déroulent successivement trois stades de reproduction, la **mérogonie** se déroule chez l'hôte vertébré, la **gamogonie** et la **sporogonie** chez la tique (Maslin & Beugnet, 2004).

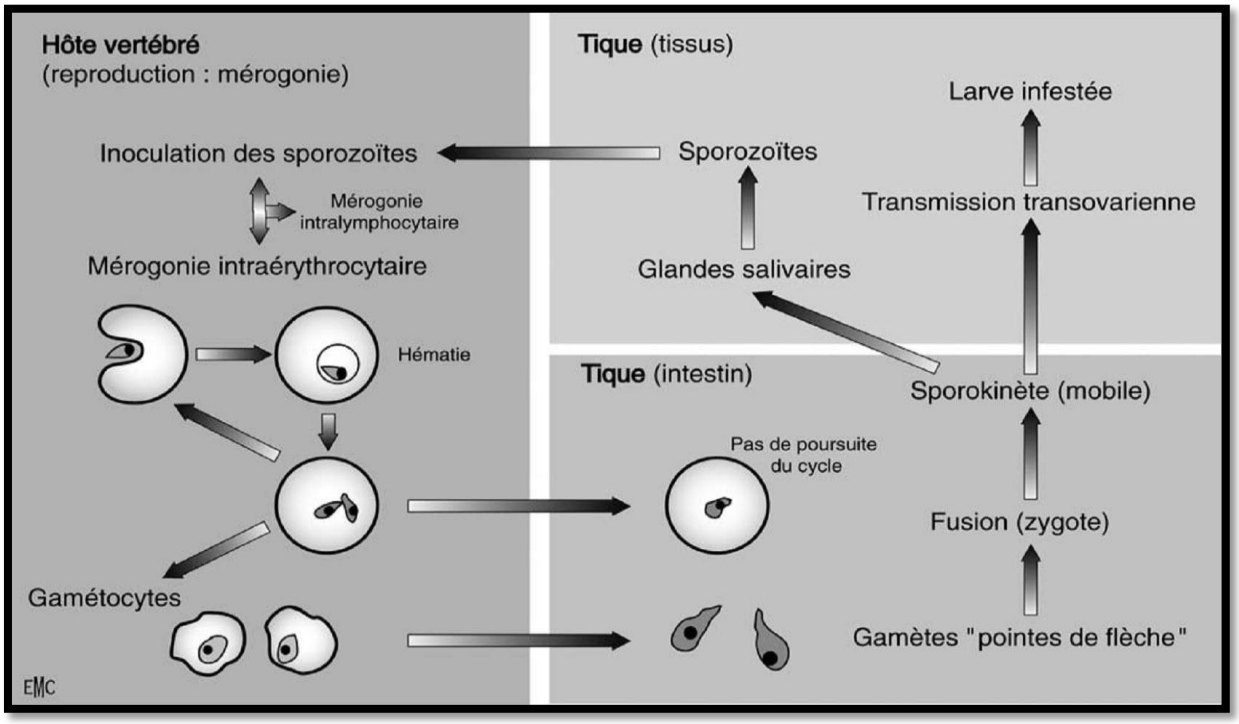


Figure 3 : Cycle évolutif des *Babesia* (Maslin & Beugnet, 2004)

2.2.1. Développement chez l'hôte vertébré

2.2.1.1. La mérogonie

La mérogonie est la seule étape du cycle qui se déroule chez l'hôte vertébré, c'est une reproduction asexuée. La transmission à l'hôte intermédiaire se fait par la tique à la fin du repas sanguin par injection de sporozoïtes. Ces derniers vont rejoindre la circulation sanguine et pénétrer à l'intérieur des globules rouges (Maslin & Beugnet, 2004) (Uilenberg, 2006).

La pénétration des sporozoïtes dans les érythrocytes se fait par invagination et formation d'une vacuole parasitophore qui grossit et donne naissance au trophozoïte adulte. La vacuole disparait par la suite et le parasite sera en contact direct avec le cytoplasme (Maslin & Beugnet, 2004; Le Metayer, 2007).

La multiplication asexuée des trophozoïtes à l'intérieur des érythrocytes permet la formation de cellules filles piriformes : les mérozoïtes par bourgeonnement et scission binaire (mérogonie). Ces derniers détruisent la cellule parasitée, passent dans la circulation sanguine et parasitent d'autres érythrocytes (Maslin & Beugnet, 2004; Le Metayer, 2007) (Uilenberg, 2006).

La multiplication des parasites se poursuivra jusqu'à ce que l'animal meure ou jusqu'à ce que les défenses immunitaires de l'hôte y mettent fin par stérilisation parasitaire. Le cheval joue donc un rôle de réservoir de l'infection et reste porteur du parasite pendant 1 à 3 ans (Uilenberg, 2006; Le Metayer, 2007).

Certains trophozoïtes ne se reproduisent pas, ils vont augmenter de taille et deviennent de potentiels gamétocytes (Maslin & Beugnet, 2004).

Les *Babesia* ne forment pas de pigments dans la cellule parasitée ce qui les distinguent des autres genres (*Haemoproteus et Plasmodium*).

2.2.2. Développement chez la tique

B.caballi est un piroplasme contagieux pour la tique. Cette dernière s'infecte en ingérant un repas sanguin au sein duquel se trouvent des globules rouges parasités par des piroplasmes, des mérozoïtes qui seront détruits par son intestin et des gamétocytes qui vont permettre la poursuite du cycle (Uilenberg, 2006; Le Metayer, 2007). Les tiques de la grande famille des Ixodidae acquièrent et transmettent le parasite lors du repas sanguin (Schnittger, et al., 2012).

2.2.2.1. La gamogonie

La gamogonie est une reproduction sexuée qui se déroule dans le tractus intestinal de la tique. Cette dernière fait intervenir les gamétocytes ingérés lors du repas sanguin. Les éléments piriformes n'étant pas concernés, ils seront alors détruits (Maslin & Beugnet, 2004).

Les gamétocytes se retrouvent dans l'intestin de la tique après lyse des globules rouges les contenant. Ils se transforment alors en corps rayonnés ou étoilés qui sont les gamètes, c'est **la gamogonie** (Uilenberg, 2006; Le Metayer, 2007).

A l'extrémité de chaque gamétocyte se développe une organelle qui donnera à ces derniers un aspect en pointe de flèche. Le rôle de cette organelle est la fusion des gamètes pour la formation d'un zygote ainsi que la pénétration dans les cellules de l'épithélium intestinal (Maslin & Beugnet, 2004).

Les zygotes sont formés par l'union des gamètes deux à deux pendant la gamogonie, ils se multiplient et deviennent des kinètes primaires ou ookinètes mobiles. Ces derniers vont pénétrer dans les cellules de l'épithélium intestinal, s'y divisent en kinètes secondaires ou sporokinètes mobiles ayant une forme vermiculaire (Maslin & Beugnet, 2004; Le Metayer,

2007; Uilenberg, 2006). L'ookinète a une forme arrondie et contient de nombreux sporokinètes sphériques (Nozais, 1996).

2.2.2.2. La sporogonie

La sporogonie est la seconde étape qui se déroule chez la tique, c'est une reproduction asexuée qui se produit dans les glandes salivaires.

Dans cette phase, les sporokinètes mobiles se déplacent à travers l'hémolymphe dans les tissus de la tique et rejoignent les glandes salivaires et divers organes comme les ovaires dans lesquels ils occupent une position intracellulaire (Maslin & Beugnet, 2004; Le Metayer, 2007).

Les sporokinètes qui se trouvent dans un ovocyte sont transmis à la larve issue de ce dernier. C'est la transmission transovarienne de *B.caballi* (Le Metayer, 2007). C'est par ce processus que la tique assure la pérennité du parasite car elle ne prend qu'un seul repas sanguin ; donc la tique infectée ne sera pas la tique infectante, ce seront les larves, les nymphes et les adultes de la génération suivante qui le seront (Maslin & Beugnet, 2004; Uilenberg, 2006; Le Metayer, 2007).

Quand une tique, quelque soit son stade, s'attache à un équidé, il se produira une migration des sporokinètes vers les glandes salivaires. Les cellules infectées deviennent des sporoblastes producteurs de sporozoïtes ; à l'intérieur de ces cellules il y aura multiplication et différenciation des sporokinètes mobiles en sporozoïtes. C'est à ce stade que la tique deviendra infectante après maturation des sporozoïtes (5 jours environ). Les sporokinètes présents dans les glandes salivaires de la larve sont retrouvés dans celles de la nymphe et de la tique adulte, c'est la transmission transtadiale. L'infection de l'hôte se fait par l'intermédiaire de la salive seulement quelques jours après l'attachement de la tique (Uilenberg, 2006; Maslin & Beugnet, 2004; Le Metayer, 2007).

A la fin du repas sanguin, la tique injecte les sporozoïtes à l'hôte intermédiaire, cette transmission est facilitée par la salive qui a des propriétés anti-inflammatoires et immunosuppressives (Maslin & Beugnet, 2004).

Les transmissions transtadiale et transovarienne de *B.caballi* confèrent à la tique un rôle important dans la pérennité du parasite. Une fois que la tique est infectée, elle le reste

toute sa vie et transmet l'infection à sa descendance assurant ainsi la conservation de l'infection (Le Metayer, 2007).

Les équidés ont également un rôle dans le maintien de l'infection, ce sont des réservoirs du parasite.

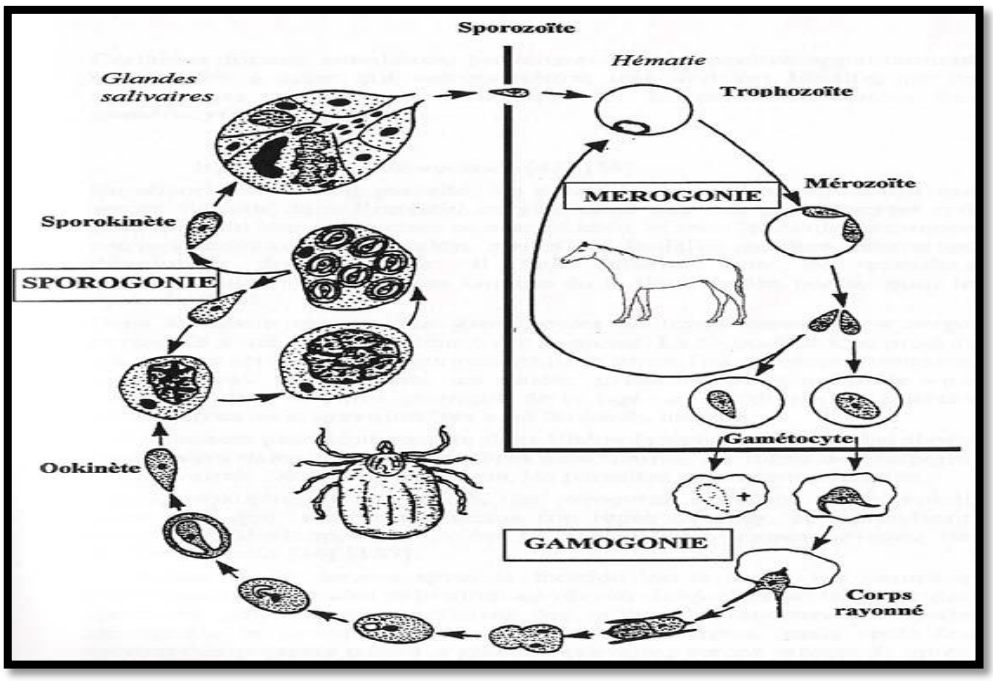


Figure 4 : Cycle évolutif de *B.caballi* (Melhorn & Walldorf, 1988) Cité dans (Le Metayer, 2007)

3. *Theileria equi*

T.equi est un parasite de petite taille, il est plus pathogène que *B.caballi*. Autrefois appelé *Babesia equi*, il a été reclassé en *T.equi* en 1998 pour des raisons que nous allons détailler (Merck, 2008).

3.1. Morphologie

La morphologie de *T.equi* décrite est celle du parasite retrouvé à l'intérieur des globules rouges de l'hôte vertébré. Elle est étudiée après coloration des étalements sanguins au Giemsa et observation par microscopie optique (Le Metayer, 2007).

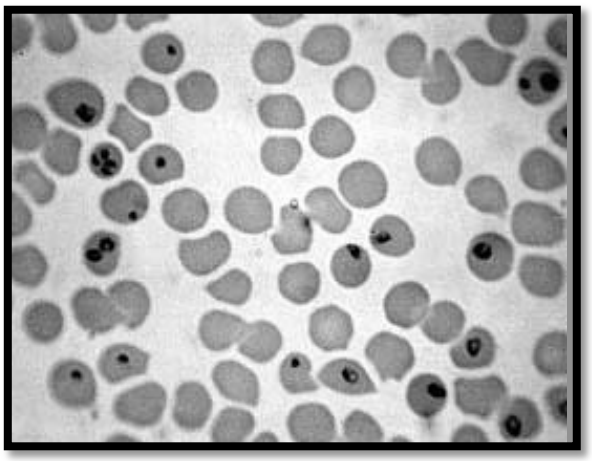


Figure 5 : *T.equi* sous microscope optique (Le Metayer, 2007)

T.equi est un parasite de petite taille qui mesure de 1-2 µm, pouvant aller jusqu'à 4 µm. De forme ronde ou ovoïde parfois en forme de poire, caractérisé par sa formation en tétrade, 4 parasites regroupés en croix de Malte. La longueur du parasite est inférieure au rayon de l'hématie. Ce parasite peut être retrouvé à l'intérieur des globules rouges ou des lymphocytes (Maurin, 2010; Le Metayer, 2007; Hanns-Jürgen, 1989).

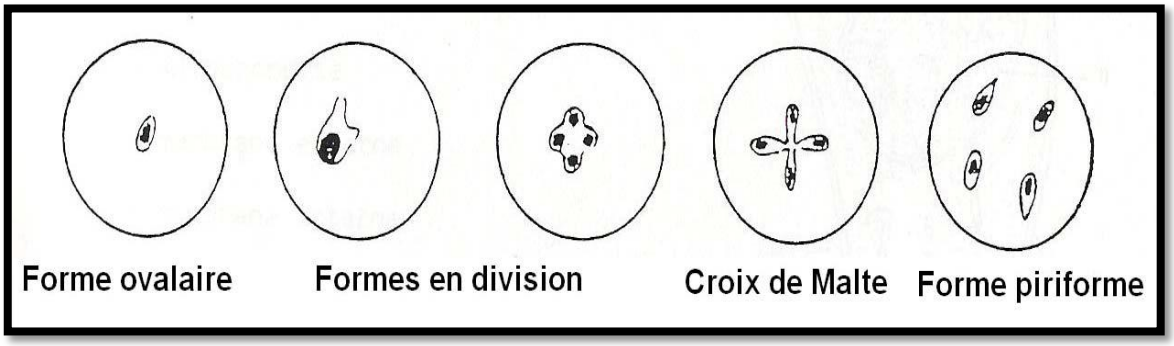


Figure 6 : Différentes formes de *T.equi* (Poisson, 1998) Cité dans (Le Metayer, 2007)

3.2. Cycle évolutif

Le cycle évolutif de *T.equi* est très proche de celui de *B.caballi*. Le parasite est obligatoirement transmis par l'intermédiaire d'une tique dure de la grande famille des Ixodidés.

3.2.1. Développement chez l'équidé : la schizogonie

La tique injecte à la fin de son repas sanguin des sporozoïtes à son hôte vertébré. Contrairement aux sporozoïtes de *B.caballi*, qui une fois injectés dans l'hôte pénètrent

directement dans les globules rouges, les sporozoïtes de *T.equi* pénètrent d'abord à l'intérieur des lymphocytes. Les lymphocytes rejoignent les nœuds lymphatiques qui drainent la région (deux semaines après la morsure) et passent ensuite dans le foie et la rate.

Quelques jours après l'inoculation (5 à 6 jours), les sporozoïtes forment des macroschizontes qui vont se multiplier à l'intérieur des cellules ; ces cellules se dédifférencient en immunoblastes. Les macroschizontes se transforment en microschizontes provoquant la rupture des lymphocytes qui libèrent des centaines de micromérozoïtes piriformes extracellulaires.

Ces structures piriformes envahissent les globules rouges (12ème jour d'infection) et se transforment en piroplasmes (en forme de virgule) qui se multiplieront par bourgeonnement et donneront 4 cellules filles qui forment une tétrade (croix de Malte). Ces éléments peuvent sortir des hématies en les rompant ou en traversant la paroi et peuvent réinfecter d'autres globules rouges puis se transformer en gamétocytes annulaires (Uilenberg, 2006; Le Metayer, 2007).

3.2.2. Développement chez la tique

3.2.2.1. La gamogonie

Les gamétocytes se trouvant à l'intérieur des hématies sont ingérés par la larve ou la nymphe lors du repas sanguin. Ces derniers se transforment dans son estomac en macrogamètes qui proviennent directement des gamétocytes et en microgamètes issus de la division des gamétocytes en quatre parties.

La fécondation se fait par syngamie, donc union d'un macrogamète et d'un microgamète. La formation de zygotes est ainsi obtenue (6jours après le début du repas).

Les zygotes se transforment en kinètes, transformation liée à la métamorphose de la tique. Les kinètes passent dans l'hémolymphe et envahissent exclusivement les glandes salivaires.

Contrairement à la multiplication de *B.caballi,* il n'y a pas d'invasion des autres organes, pas de passage dans les ovaires et les œufs, donc pas de transmission transovarienne.

3.2.2.2. La sporogonie

Une fois que la tique s'attache à un nouvel hôte, les kinètes forment des sporontes puis des sporoblastes par division et enfin des sporozoïtes qui vont murir dans les glandes salivaires. La transmission se fera par injection de salive infectée, c'est la transmission transtadiale. Une larve nouvellement éclose ne peut être ni infectée ni infectante.

La transmission de *T.equi* est uniquement transtadiale, puisque le parasite ne colonise jamais les ovaires de la tique. Si la larve est infectée, la nymphe sera infectante, si c'est la nymphe qui est infectée, c'est la tique adulte qui sera infectante.

La tique perd son infection à *T.equi* une fois qu'elle l'a transmise, l'infection ne persiste pas au prochain stade ni à la génération suivante (Uilenberg, 2006).

Pour *T.equi*, ce sont les chevaux qui jouent un rôle important dans le maintien de l'infection. Les schizontes retrouvés dans les lymphocytes ont une durée de vie élevée, un animal atteint peut le rester durant toute sa vie (Le Metayer, 2007).

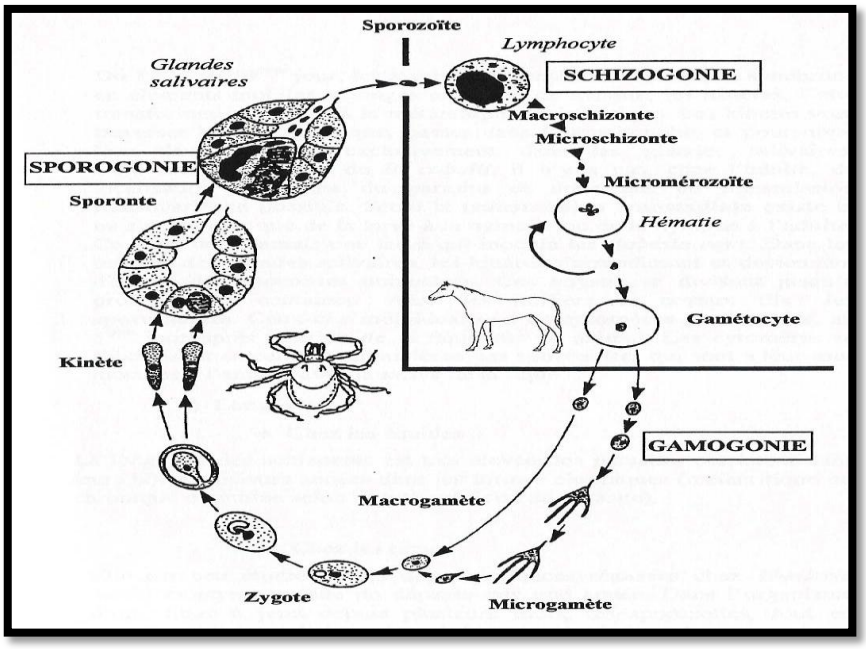


Figure 7 : Cycle évolutif de *T.equi* (Melhorn & Walldorf, 1988) Cité dans (Le Metayer, 2007)

3.3. De *Babesia equi* à *Theileria equi*

A la découverte de ce parasite, il avait été nommé *Babesia equi* mais l'étude de ses propriétés ainsi que de son cycle parasitaire a permis de découvrir qu'il avait plus les propriétés du genre *Theileria* que du genre *Babesia*.

Contrairement à ce parasite, *Babesia* ne se reproduit que dans les globules rouges. La transmission transtadiale a été prouvée expérimentalement avec *Rhipicephalus turanicus* et *Hyalomma anatolium* alors que la transmission transovarienne a échoué. La découverte de la schizogonie à l'intérieur des lymphocytes des chevaux en 1981 pouvait justifier et faire basculer ce parasite dans le genre *Theileria* (Uilenberg, 2006).

Alors qu'Euzéby et Uilenberg le nommait déjà *T.equi* respectivement dès 1988 et 1986, Melhorn et Shein restaient prudents et le classaient comme *Babesia* avec des étapes intralymphocytaires en 1993. C'est seulement en 1998 que ces derniers adhèrent à la conclusion qu'il appartenait au genre *Theileria* (Uilenberg, 2006).

III. Les vecteurs

Les vecteurs de la piroplasmose équine sont nombreux, ce sont des tiques dures qui appartiennent à la grande famille des Ixodidae (Perez-Eid, 2009). Plusieurs espèces peuvent transmettre la maladie, 14 ont jusqu'à présent été identifiés comme vecteurs de *T.equi* et de *B.caballi*. Ces espèces font partie des genres *Hyalomma, Boophilus, Dermacentor* et *Rhipicephalus* (Camacho, 2005; Xie, et al., 2013). *Anocentor nitens* peut transmettre *B.caballi* par voir transovarienne à des générations successives (Merck, 2008; Maslin & Beugnet, 2004). *Amblyomma cajennense* a été récemment identifiée comme vecteur de *T.equi* aux Etats Unis (Silva, et al., 2013).

Les tiques sont des parasites hématophages qui se fixent sur des hôtes vertébrés pour prendre leur repas sanguin. Elles sont considérées comme des vecteurs car en plus de leur action parasitaire, elles transmettent des agents pathogènes d'un individu à un autre. Les tiques, les agents pathogènes et les hôtes vertébrés constituent le système vectoriel (Chastel, 2013).

Les tiques sont également parfois considérées comme des réservoirs de plusieurs agents pathogènes. En effet, elles peuvent assurer le maintien de ces agents pendant plusieurs générations, ceci est assuré par la transmission transovarienne, comme c'est le cas pour

B.caballi. Elles assurent également la transmission transtadiale d'autres agents pathogènes qui persisteront durant les mues de la tique, comme c'est le cas pour *T.equi* (Chastel, 2013).

Lors du repas sanguin, la tique sécrète plusieurs substances qui l'aident à contrecarrer les défenses immunitaires de l'hôte et lui permettent de s'y fixer et de prendre son repas de sang. Dans la composition de sa salive, des immunosuppresseurs, des anticoagulants, des fibrinolytiques ainsi que des anti-inflammatoires sont retrouvés (Chastel, 2013).

1.1. Taxinomie

Les tiques appartiennent à l'ordre des Ixodida qui regroupe 3 sous-ordres dont celui des Ixodina ou tiques dures. Ce dernier, dans lequel sont retrouvés tous les vecteurs des piroplasmoses équines, comprend la famille des Ixodidae et celle des Amblyommidae (Perez-Eid, 2009).

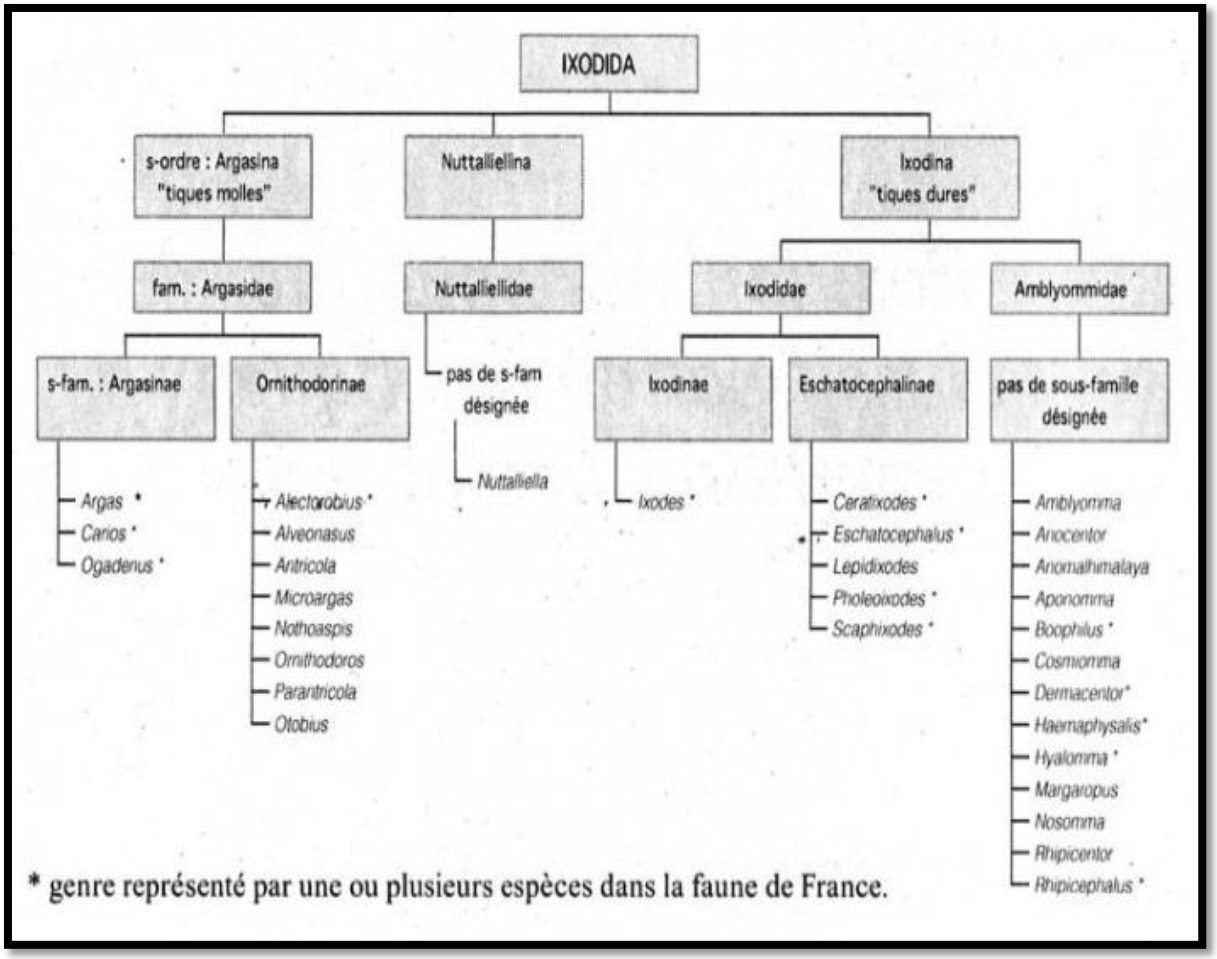


Figure 8 : Taxinomie des tiques (Fontenille, et al., 2009)

1.2. Morphologie des tiques

Les Ixodidae ont une grande taille par rapport aux autres acariens. Les tiques évoluent selon 4 stades et diffèrent par leur morphologie et leur taille d'un stade à un autre : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte (Marchal, 2011).

Le corps de la tique peut être divisé en deux parties, le capitulum ou gnathosome vers l'avant et l'idiosome vers l'arrière du corps.

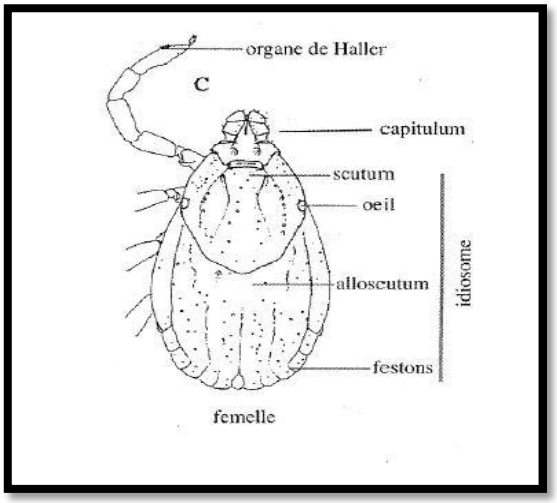


Figure 9 : Morphologie de la tique, face dorsale (Marchal, 2011)

1.2.1. Le capitulum

Il forme la partie antérieure du corps, il est composé d'une base, d'un organe perforateur (le rostre), d'un hypostome dentelé et de deux chélicères qui constituent les pièces buccales. Les chélicères se trouvent en position dorsale, ils servent pour la perforation et la dilacération des tissus permettant ainsi à l'hypostome, organe d'alimentation se trouvant en position ventrale de s'ancrer solidement dans les tissus grâce à ses dents. Le rostre est constitué d'une paire de pédipalpes qui portent des soies servant d'organe sensoriel grâce aux chémorécepteurs qu'elles possèdent (Marchal, 2011; Chastel, 2013).

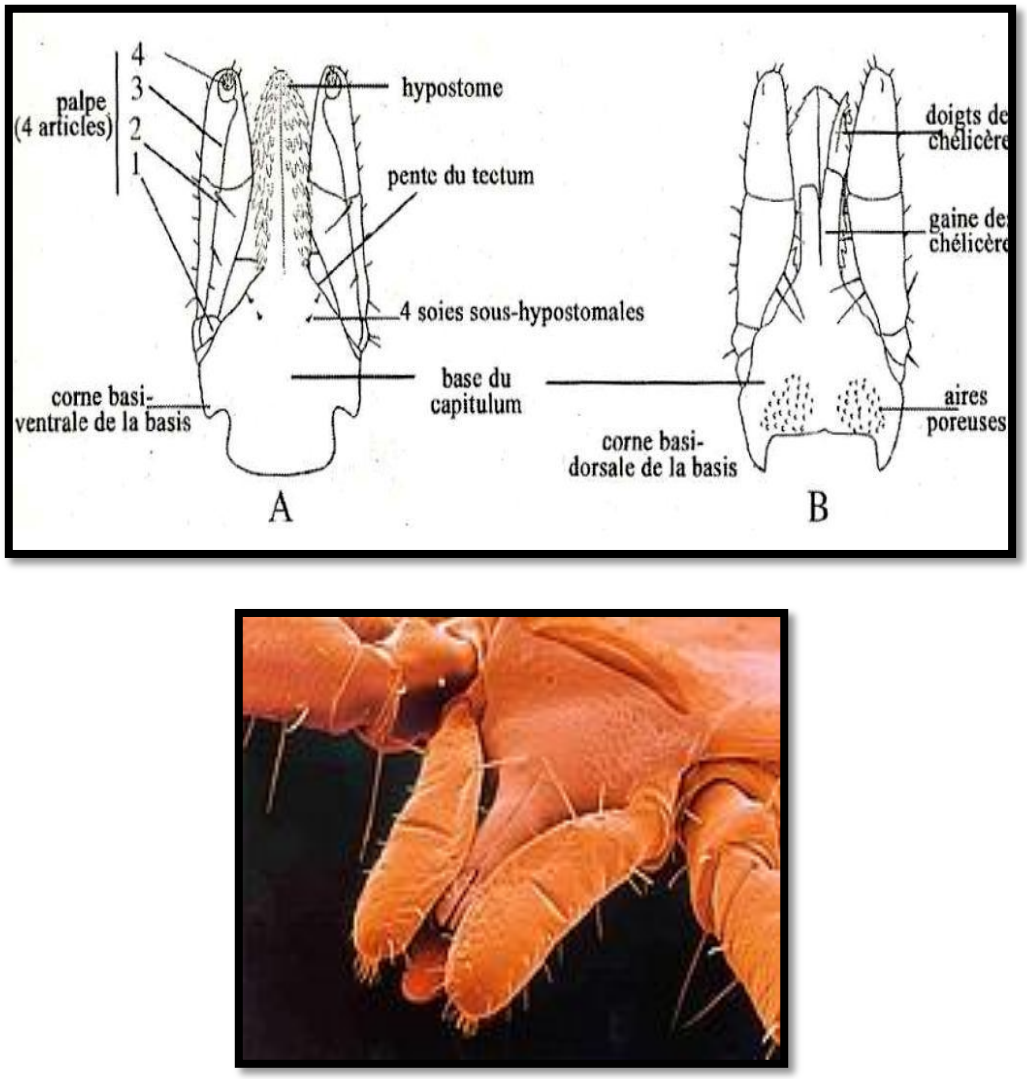


Figure 10 : Morphologie ventrale (A) et dorsale (B) du capitulum des Ixodidés d'après (Marchal, 2011; Baxter, 2013)

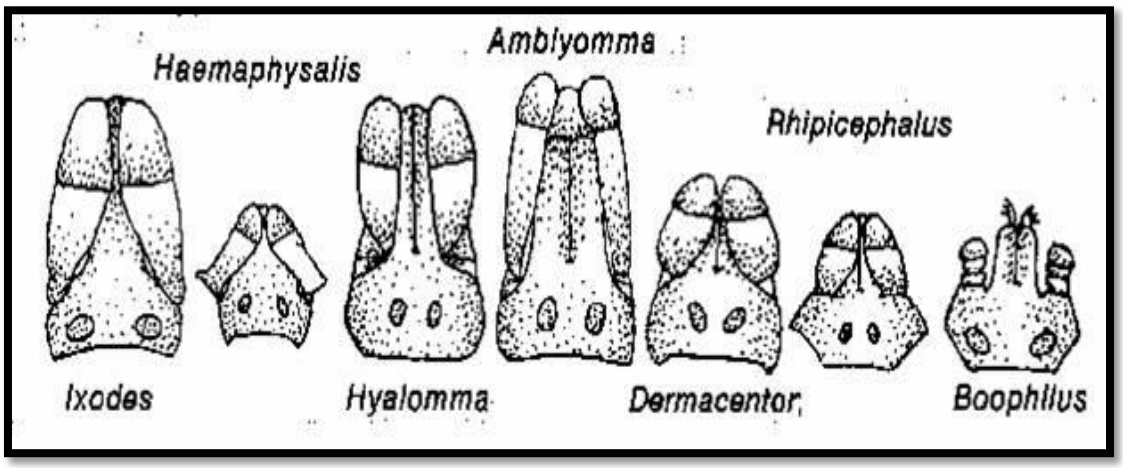


Figure 11 : Différentes formes de capitulum selon l'espèce (Chastel, 2013)

1.2.2. L'idiosome

Les Ixodidés sont appelées tiques dures car leur idiosome est composé de parties tégumentaires souples et de parties sclérifiées, contrairement aux tiques molles (Marchal, 2011).

L'idiosome forme la partie postérieure du corps, sur sa face dorsale se trouve le scutum qui est une partie sclérifiée dont la taille varie selon le sexe et l'espèce. Chez les femelles, le scutum ne couvre que la moitié de l'idiosome, ce qui permet la réplétion, alors que chez les mâles, la sclérification concerne toute la face dorsale, c'est le conscutum (Marchal, 2011).

Sur la face ventrale de l'idiosome se trouvent les pattes, 4 paires chez les nymphes et les adultes et 3 paires chez les larves. Les pattes sont composées de 6 parties : un coxa, un trochanter, un fémur, une patelle, un tibia, un tarse terminé par une ventouse (pulville) et 2 griffes.

Le tarse de la première paire de pattes possède un organe sensoriel appelé organe de Haller (figure 12). Cet organe est sensible à l'hygrométrie, aux phéromones, au CO2, et à d'autres substances. Les poils sont également sensibles aux vibrations et aux variations de la température (Chastel, 2013; Marchal, 2011).

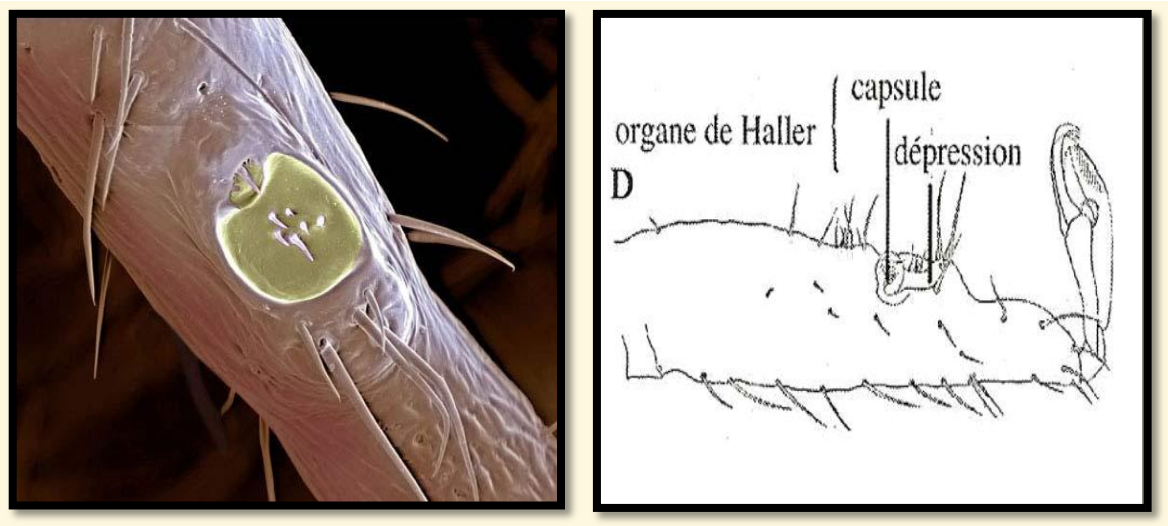


Figure 12 : Organe de Haller (Baxter, 2013; Marchal, 2011)

1.3. Cycle évolutif des Ixodina

Le cycle évolutif des Ixodina se déroule en trois étapes ou trois stases (figure 13) :

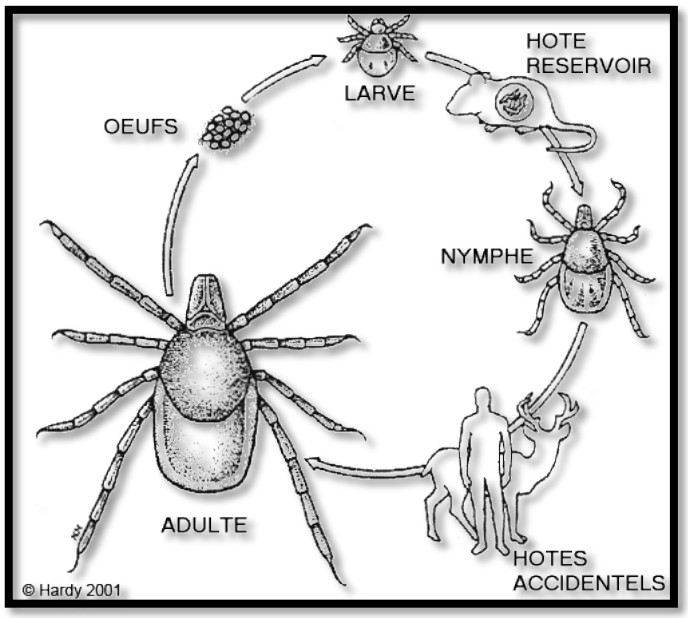


Figure 13: Cycle de développement des tiques (Chastel, 2013)

La **larve** est issue de l'œuf, elle est gonflée et molle et a une taille inframillimétrique, à peine perceptible à l'œil nu. La larve durcit au bout de quelques jours et se met à la recherche d'un hôte. Elle se fixe sur son hôte, prend lentement son repas sanguin puis se laisse tomber sur le sol afin de digérer et effectuer sa mue (pupaison) qui durera de 2 à 8 semaines.

Après la mue, la larve devient une **nymphe,** possédant 4 paires de pattes et mesurant 1 mm à jeun, la nymphe se met alors à la recherche d'un nouvel hôte. Après le repas, la nymphe mesure 2 mm, elle se détache et tombe au sol pour subir sa mue.

La nymphe devient alors une **tique adulte** mesurant 3 à 4 mm (figure 14).

Figure 14 : Différents stades de développement des tiques : larve, nymphe, adulte mâle, adulte femelle (Chastel, 2013)

Après la copulation (figure 15), la tique prend un dernier repas sanguin, se gorge pleinement de sang jusqu'à avoir la taille d'un petit pois. Elle pond ensuite de 1000 à 20000 œufs puis se dessèche et meurt (Chastel, 2013).

Figure 15 : Accouplement des tiques (Baxter, 2013)

La durée moyenne du cycle est de 2 à 4 ans et peut aller jusqu'à 7 ans.

Le cycle décrit précédemment est un cycle triphasique, chaque gorgement est effectué sur un hôte différent. Certaines espèces possèdent un cycle diphasique où la larve s'attache à

un premier hôte, prend son repas et mue en nymphe, la nymphe prend son repas sur le même hôte puis se détache, elle mue à son tour puis l'adulte effectue son repas sur un deuxième hôte. D'autres encore possèdent un cycle monophasique, dans ce cas, tout le cycle se déroulera chez le même hôte (Chastel, 2013).

1.4. Les hôtes des tiques

Certaines espèces de tiques sont monotropes, elles se fixent toujours sur la même espèce d'hôte pour effectuer leur repas sanguin et ce quelque soit leur stade de développement. D'autres sont dites ditropes car les larves et les nymphes de ces espèces ont un tropisme pour une espèce d'hôte alors que la tique adulte se fixe sur une autre espèce (Chastel, 2013). Les tiques ne prennent qu'un seul repas par stase.

1.5. Interactions entre la tique et son hôte

1.5.1. Fixation de la tique

La fixation de la tique sur son hôte se fait grâce à la pénétration de l'hypostome dans les tissus de l'hôte. La tique va d'abord se déplacer sur le corps de l'animal afin de trouver une zone vascularisée puis commence sa fixation. Ce sont les chélicères qui en dilacérant l'épiderme permettent à l'hypostome d'y pénétrer, une substance visqueuse est ensuite sécrétée (le cément) afin de consolider cette fixation. La salive aide également en digérant les tissus autour de l'hypostome afin de faciliter sa pénétration (Chastel, 2013).

La pénétration se fait lentement grâce à l'action combinée des chélicères et de la salive jusqu'à arriver aux capillaires et aux vaisseaux lymphatiques qu'ils vont rompre et créer une cavité séro-lymphatique dans laquelle la tique va pomper le contenu (figure 16). La sécrétion de cément se fait tout au long de la pénétration afin de permettre la consolidation de cette fixation (Chastel, 2013).

A la fin du repas, le retrait de l'hypostome se fait par libération d'un espace autour de celui-ci dans lequel il peut être retiré sans difficulté. La tique se laissera alors tomber par terre pour terminer son cycle.

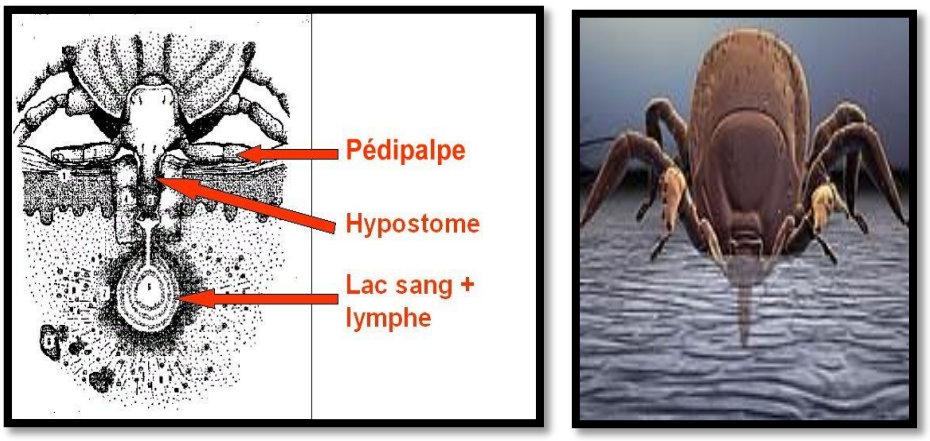


Figure 16 : Représentation schématique de la pénétration de la tique (Chastel, 2013; Baxter, 2013)

1.5.2. Composition de la salive

La salive est sécrétée chez la tique par deux glandes salivaires se trouvant de chaque coté de la partie supérieure du corps. La salive est constituée de protéines, de lipoprotéines, de lipides et de glycoprotéines ; ces derniers lui confèrent ses différentes propriétés : vasodilatatrice, anticoagulante, immunosuppressive et antalgique (Chastel, 2013).

1.5.3. Repas de la tique

Le gorgement de la tique se fait lentement. Ce sont des phases d'aspiration entrecoupées de brèves phases d'injection de salive. Durant les deux premiers jours, la tique double ou triple sa taille et décuple son poids ; puis la tique passe à une phase d'absorption rapide qui se termine au moment du détachement vers le 6ème jour où la taille de la tique sera décuplée et son poids 100 fois supérieur à son poids initial.

La salive est sécrétée chez la tique tout au long du gorgement, elle permet de creuser les tissus et produit le cément qui renforce l'encrage de l'hypostome.

1.6. Interactions entre la tique, son hôte et l'agent pathogène

La tique, l'hôte et l'agent pathogène qu'elle lui transmet sont appelés « le système vectoriel ». Nuttal et Labuda ont schématisé ces interations sous forme d'un triangle (figure 17).

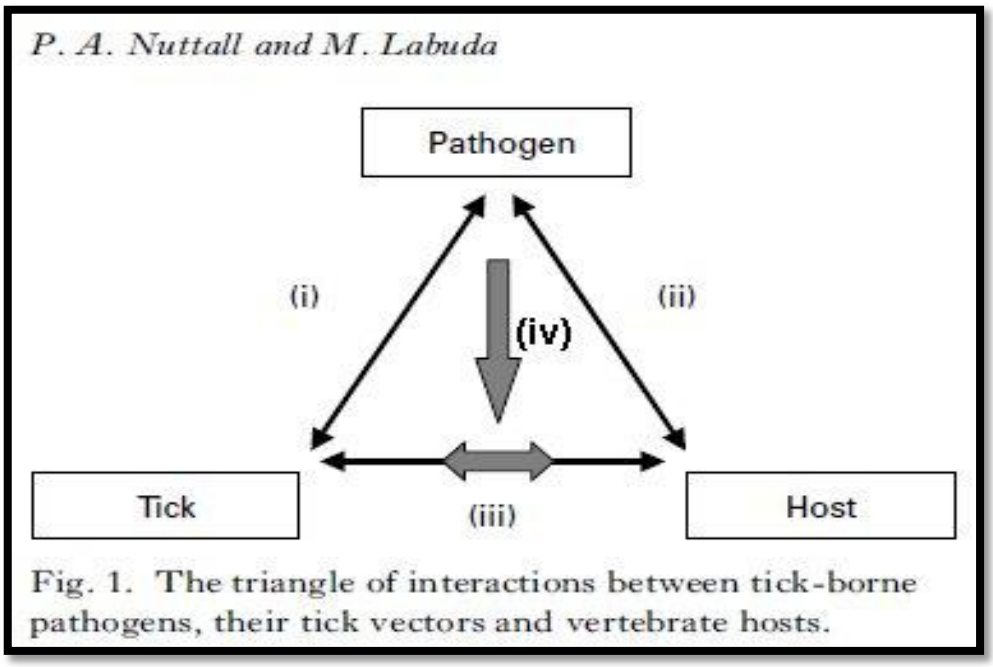


Figure 17 : Interactions entre la tique, l'agent pathogène et l'hôte vertébré (Nuttal & Labuda, 2004)

Le premier coté du triangle (i) représente les interactions entre la tique et l'agent pathogène, c'est-à-dire l'infection de la tique par le pathogène et sa réplication dans son organisme. Le deuxième coté (ii) représente les interactions entre le pathogène et l'hôte vertébré c'est-à-dire son infection par l'agent pathogène qui dépend du statut immunitaire de l'hôte et du tropisme de l'agent pathogène pour cet hôte. Le troisième coté (iii) représente les interactions qui existent entre la tique et l'hôte c'est-à-dire la sécrétion de certaines substances par la tique qui permettent de contourner les défenses de l'hôte. En déprimant les défenses immunitaires de l'hôte, la salive crée un environnement favorable pour la pénétration des pathogènes, ce phénomène est appelé SAT : Saliva-Activated Transmission (Chastel, 2013; Nuttal & Labuda, 2004).

Les interactions existantes entre le pathogène et le couple vecteur-hôte (iv) montrent que la survie de certains pathogènes et leur transmission dépendent de l'activité immunosuppressive des tiques vectrices. En effet, des études ont montré que le pourcentage de survie de certains agents pathogènes à l'intérieur de l'hôte vertébré, était fortement augmenté lorsque cet agent était transmis par une tique, alors qu'il était plus bas si l'agent pathogène était directement injecté chez l'hôte, c'est la SAT (transmission activée par la

salive) ou capacité de l'agent pathogène à exploiter les propriétés immunosuppressives de la salive de la tique qui le transmet (Nuttal & Labuda, 2004).

IV. Epidémiologie

1. Répartition géographique des piroplasmoses équines

Les piroplasmoses équines ont une distribution mondiale. Le plus souvent endémiques dans les régions tropicales et subtropicales, elles sont aussi observées dans les régions tempérées (Baptistaa, et al., 2013; Silva, et al., 2013). La maladie a été décrite dans le sud de l'Europe, en Asie, en Afrique, en Amérique centrale et en Amérique du sud, ainsi qu'au sud des Etats Unis (Merck, 2008; Xie, et al., 2013; Silva, et al., 2013). Il a été relevé que seulement 10% des chevaux dans le monde vivaient dans des régions indemnes de piroplasmoses (Schnittger, et al., 2012).

Les piroplasmoses équines sont enzootiques en Asie exceptés au Japon et en Sibérie. Des prévalences élevées en Inde, au Proche et Moyen Orient, en Chine, en Mongolie et en Corée sont constatées.

- **En Afrique :**

L'affection à *T.equi* est hyperenzootique sur tout le continent africain. L'affection à *B.caballi* est fréquente au nord de l'Afrique et au Soudan. Des études réalisées en Afrique du sud révèlent une prévalence de 47 à 79,7% pour *T.equi* et de 26 à 52,1% pour *B.caballi* selon les régions (Le Metayer, 2007).

La répartition géographique de la piroplasmose équine et ses caractères épidémiologiques dépendent de la répartition des tiques vectrices, de leur biologie et de leur activité saisonnière (Maslin & Beugnet, 2004; Silva, et al., 2013; Le Metayer, 2007).

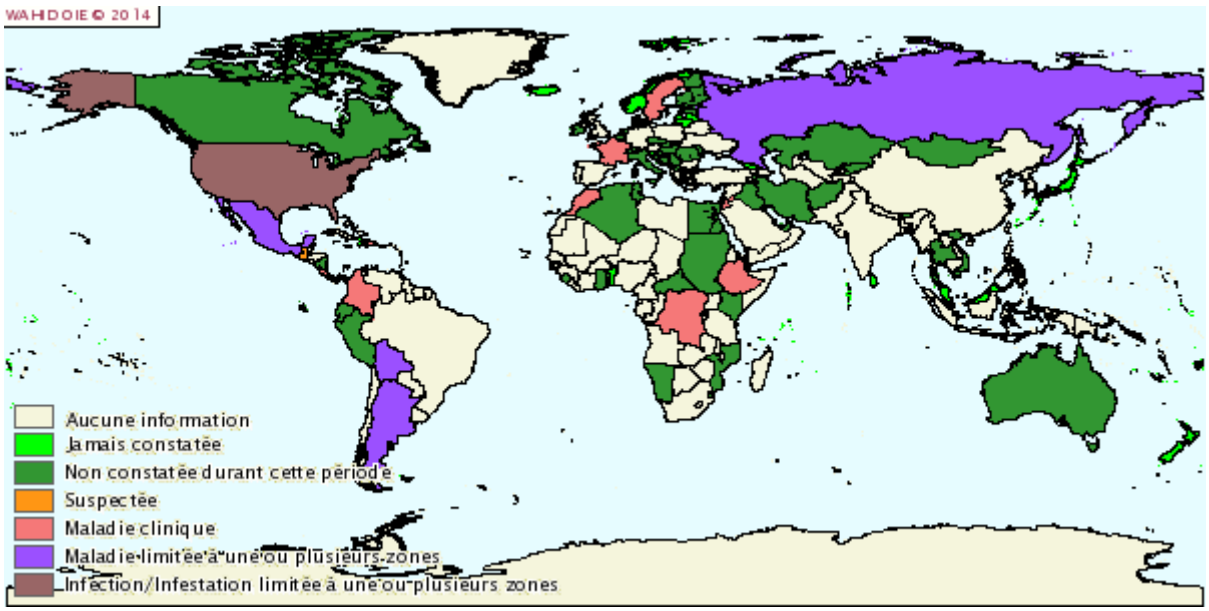


Figure 18 : Répartition géographique des piroplasmoses (épizooties, 2014)

2. Répartition géographique des tiques vectrices

Les piroplasmoses équines sont transmises par 14 espèces de tiques dures de la grande famille des Ixodidés. L'étude de la répartition de ces tiques est importante pour connaitre la répartition des piroplasmoses équines. Ces espèces font partie des genres *Dermacentor, Rhipicephalus* et *Hyalomma*.

En Europe, en Afrique et en Asie, *B.caballi* est transmis par au moins 6 espèces de tiques des genres *Dermacentor* et *Hyalomma* et *T.equi* par 8 espèces des trois genres. Les tiques des genres *Hyalomma* et *Rhipicephalus* sont prédominantes dans le sud de l'Europe, en Afrique du Nord et au Moyen-Orient (Le Metayer, 2007).

En France et en Europe, *Dermacentor reticulatus* et *Dermacentor marginatus* sont les deux espèces vectrices de *B.caballi*, ce sont des tiques triphasiques et ditropes (larve et nymphe se nourrissent sur les petits mammifères et l'adulte sur le cheval). Elles sont retrouvées dans les lisières des forêts (figure 18), les haies et les prairies herbeuses avec une activité maximale au printemps et en automne. La transmission de *T.equi* est en revanche assurée par *Rhipicephalus bursa*, tique diphasique et monotrope (l'hôte est toujours un équidé) (Guillot, 2002). Dans la région méditerranéenne, *Dermacentor marginatus* est considéré comme principal vecteur des piroplasmoses équines, actif pendant les saisons sèches et humides (Le Metayer, 2007).

Figure 19 : Danger de piqure de tiques (Baxter, 2013)

2.1. Principaux vecteurs

2.1.1. *Dermacentor marginatus*

D. marginatus est une espèce thermophile, très largement répandue dans la région méditerranéenne, elle vit pendant les saisons fraiches et humides. Le rôle de *D. marginatus* comme vecteur pour les piroplasmoses équines est bien établi en Europe. L'activité des adultes est surtout observée de fin Janvier à début mai et celle des nymphes de septembre à octobre (Le Metayer, 2007).

La répartition géographique de cette espèce (figure 19) montre qu'elle est présente dans le nord de notre pays ; elle peut donc être responsable de la transmission de la piroplasmose équine.

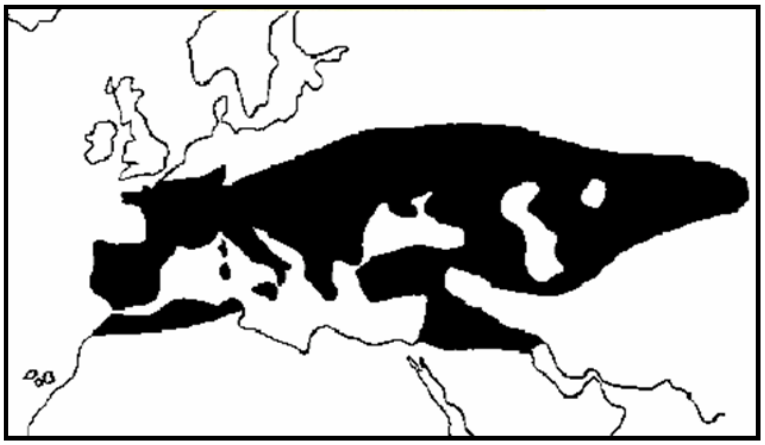


Figure 20 : Répartition géographique de *D. marginatus* (Le Metayer, 2007)

2.1.2. *Dermacentor reticulatus*

C'est une espèce ayant les mêmes caractéristiques biologiques que *D. marginatus*. Les adultes de cette espèce apparaissent en octobre et disparaissent en juillet avec un pic d'activité en février-mars et les nymphes apparaissent en juillet.

Cette espèce sert de vecteur à l'ouest de la France et dans la région méditerranéenne, elle est surtout active pendant les saisons sèches et chaudes (Le Metayer, 2007).

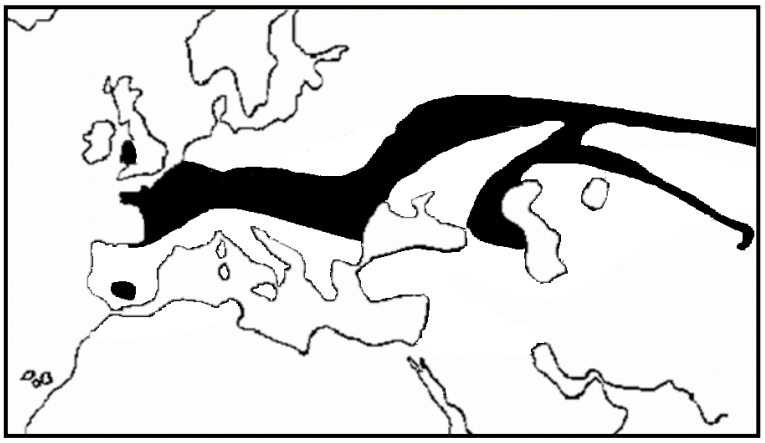


Figure 21 : Répartition géographique de *D. reticulatus* (Le Metayer, 2007)

2.1.3. *Rhipicephalus bursa*

C'est une espèce qui possède une sélectivité parasitaire, elle est diphasique monotrope. *R.bursa* est thermophile, elle se répand autour du bassin méditerranéen. C'est une espèce active pendant les saisons sèches et chaudes (Le Metayer, 2007).

3. Transmission

La transmission de la piroplasmose équine se fait par l'intermédiaire de tiques vectrices dans la plupart des cas. Elle peut cependant être transmise d'un cheval à un autre par voie iatrogène, cette transmission reste occasionnelle (Le Metayer, 2007).

3.1. Sources de transmission

Il existe des sources directes de transmission des piroplasmoses équines, les tiques, et des sources indirectes qui sont les chevaux porteurs. Pour *T.equi* c'est le cheval qui représente la plus grande source de transmission alors que pour *B.caballi* c'est la tique qui est le réservoir principal de l'infection. Les éléments infectants se trouvent à l'intérieur des hématies chez le cheval et dans la salive chez la tique vectrice (Le Metayer, 2007).

3.1.1. Sources directes : les tiques

La transmission du parasite se fait par l'intermédiaire d'un vecteur qui est la tique. Cette dernière permet la dissémination du parasite à travers ses repas sanguins sur différents chevaux. C'est donc par le biais des piqures de tiques vectrices que la transmission du parasite se fait habituellement. La tique se contamine par ingestion de sang provenant d'un cheval infecté, elle va ensuite contaminer un autre cheval lors de son prochain repas sanguin par l'intermédiaire de sa salive. Le risque de contamination est donc très faible en l'absence de la tique vectrice (Le Metayer, 2007).

Dans le cas de *B.caballi*, la tique peut transmettre le parasite aux générations suivantes par voie transovarienne, il existe alors une grande diffusion de l'infection par la descendance de la tique. Le cheval n'étant infectant que sur une très courte période pour la tique, c'est donc la tique qui est à l'origine de la pérennisation du cycle de *B.caballi* (Guillot, 2002).

Pour *T.equi* par contre, il n'existe pas de transmission transovarienne, mais le cheval peut rester porteur durant de nombreuses années. De plus, même avec une parasitémie très faible, la nymphe se contamine très facilement. Il a en effet été démontré que 85 à 92% des nymphes se nourrissant sur un cheval porteur peuvent ensuite transmettre le parasite en dépit d'une faible parasitémie (Guillot, 2002).

3.1.2. Sources indirectes : les chevaux infectés

De nombreuses études menées sur le long terme montrent que *B.caballi* persiste chez le cheval pendant plus de six mois mais il est possible que le parasite ne soit jamais totalement éliminé (Guillot, 2002).

Pour *T.equi*, il semble qu'une parasitémie discrète persiste tout au long de la vie du cheval ; les études les plus longues démontrent la persistance de l'infection un an et demi post infection (Guillot, 2002). Dans l'association tique-cheval, c'est le cheval par son portage latent de très longue durée qui représente le réservoir pérenne pour *T.equi*.

3.2. Modes de transmission

La transmission du parasite est une transmission vectorielle, elle se fait par l'intermédiaire d'un vecteur qui est la tique. Cette dernière assure la transmission active du parasite et permet sa dissémination à travers ses repas sanguins sur différents chevaux. La morsure par une tique représente le mode transmission habituel et principal de *B.caballi* et de *T.equi*. Cette transmission ne peut se produire qu'après plusieurs jours de fixation sur l'hôte, temps nécessaire à la tique pour devenir infectante (Guillot, 2002).

L'utilisation du vecteur facilite la rencontre entre l'hôte et l'agent pathogène et permet la transmission du parasite grâce aux interactions qui existent entre les trois piliers du système vectoriel, à savoir, la tique, le parasite et l'hôte vertébré (Chastel, 2013).

D'autres modes de transmission peuvent exister mais leur importance n'est pas très grande vu le pourcentage réduit de transmission par ces voies. La contamination par transfusion de sang provenant d'un cheval infecté ou la contamination après utilisation d'une aiguille contaminée peut se faire de façon exceptionnelle (Guillot, 2002).

L'infection du fœtus équin in utéro par voie transplacentaire au cours de la vie embryonnaire est également possible, elle peut conduire à un avortement, ou à la naissance d'un poulain infecté (Le Metayer, 2007).

Chez la tique, les nymphes et les adultes sont reconnues comme étant les plus infectantes. Cependant, lorsqu'il y'a une transmission transovarienne, les larves peuvent également transmettre la maladie.

La transmission transtadiale du parasite signifie que ce dernier est transmis de stase en stase, alors que dans la transmission transovarienne, la propagation du parasite se fait d'une tique à une autre, la tique transmet la maladie à sa descendance, d'une génération à une autre, cette transmission est dite verticale (Chastel, 2013).

3.3. Rôle de l'immunité dans la transmission

Il est clairement bien démontré que l'état immunitaire des chevaux influe sur la survenue de maladies et que la sensibilité à la maladie en cas de contact avec le parasite est augmentée dans tous les cas d'immunodépression. C'est ainsi que les chevaux ayant été traités par de fortes doses de corticoïdes ou ayant été splénectomisés meurent dans les quelques jours suivant l'infection car ne pouvant pas lutter contre la multiplication des parasites au sein de leurs hématies. La survenue de rechutes cliniques de piroplasmose n'est également pas rare lors de la présence de maladies intercurrentes surtout lors d'exercices physiques importants suite à des compétitions, lors d'un stress du type transport ou chez les poulinières en fin de gestation ou en lactation (Le Metayer, 2007).

4. Facteurs de réceptivité et de sensibilité

La réceptivité d'un animal pour cette affection dépend aussi bien de facteurs propres à l'animal que du milieu dans lequel il se trouve (Le Metayer, 2007).

4.1. Espèce et âge

Tous les équidés sont susceptibles d'héberger *B.caballi* et *T.equi* mais le cheval est l'espèce la plus sensible. Les poulains sont plus résistants à l'infection dans les zones enzootiques que les adultes et présentent le plus souvent une forme subclinique probablement en raison de la présence d'anticorps maternels transmis via le colostrum à ces derniers (Le Metayer, 2007), en revanche, en zone indemne, le poulain reste très sensible (Guillot, 2002).

4.2. Race

La race ne semble pas influer sur la réceptivité de la maladie, toutes les races d'une même zone endémique pouvant être touchées (Guillot, 2002).

4.3. Statut épidémiologique de la région

Dans une zone d'endémie où le nombre de tiques vectrices est assez élevé, la population hôte acquière une tolérance naturelle à l'infection. Les jeunes animaux ont une immunité passive grâce aux anticorps protecteurs et subissent moins de stress que les adultes (courses, compétitions), ils sont donc plus résistants que ces derniers et présentent en général des formes sub-cliniques. Cette situation est appelée situation endémique stable car, dans ce cas, la plupart des animaux sont infectés quand ils sont jeunes et ont peu ou pas de signes cliniques. Par contre, dans les zones indemnes de piroplasmoses, les jeunes animaux sont plus sensibles que les adultes et présentent, comme les animaux sains nouvellement introduits dans des zones d'enzootie, des formes cliniques aigues et sévères (Uilenberg, 2006; Le Metayer, 2007).

La recrudescence de la piroplasmose s'explique par l'introduction de races sensibles dans les régions endémiques, et également par le nombre de tiques peu suffisant pour maintenir une stabilité endémique en raison de la lutte contre les vecteurs (Uilenberg, 2006).

V. Impact pathologique de la piroplasmose

1. Pathogénie

Une fois que le parasite s'est introduit dans l'organisme de l'animal, il va pénétrer au niveau des hématies et s'y multiplier. Cette multiplication va causer une destruction massive des globules rouges. Le taux d'hématocrite va diminuer et l'apparition d'un ictère est constatée, d'une hémoglobinurie (surtout si *T.equi*) et d'une monocytose sanguine (Hanns-Jürgen, 1989). Dans le cas où c'est une infection à *T.equi*, les sporozoïtes vont initialement pénétrer les cellules mononucléaires dans le sang périphérique avant d'infecter les globules rouges (Silva, et al., 2013).

Le mécanisme de persistance du parasite chez l'hôte est encore mal connu, il a été retrouvé dans la moelle osseuse de certains chevaux (Ribeiro, 2013).

2. Lésions

Les lésions viscérales observées sont la conséquence de la destruction des globules rouges, (Maslin & Beugnet, 2004) :

- une splénomégalie avec une rate congestionnée, hypertrophiée de couleur rouge sombre.
- Une néphrite bilatérale avec congestion, nécrose et hémorragie sous-capsulaire. Une glomérulonéphrite ainsi qu'une dégénérescence tubulaire sont également notées.
- Une vascularite diffuse cutanée, pulmonaire, hépatique, médullaire et encéphalique.

3. Réponse immunitaire de l'hôte

3.1. Défense de l'hôte contre la tique

La tique, en se fixant sur son hôte, provoque des lésions cutanées. Ces lésions stimulent les défenses immunitaires de l'hôte ainsi que les facteurs de l'hémostase provoquant des réactions inflammatoires ainsi que des réactions d'hypersensibilité. Dans ce cas, on observera une vasoconstriction est observée avec une agrégation plaquettaire à ce niveau, ainsi que l'arrivée massive des macrophages dont le rôle est la digestion des débris et des basophiles qui vont libérer de l'histamine et d'autres substances provoquant l'inflammation.

Si la tique veut prolonger son séjour sur l'hôte, elle doit obligatoirement contrer ses défenses. Pour cela, elle se sert de sa salive qui contient plusieurs molécules lui permettant de diminuer les réactions inflammatoires et de se fixer sans douleur.

La tique lutte contre la vasoconstriction en libérant des substances vasodilatatrices, elle sécrète également des substances qui peuvent inhiber la cascade de l'agrégation plaquettaire et de la coagulation à différents niveaux.

Ainsi, profitant du détournement des défenses immunitaires de l'hôte par la tique, de nombreux organismes vivants peuvent être transmis de la tique vers l'hôte vertébré en étant injecté avec la salive de la tique (Chastel, 2013).

3.2. Défenses de l'hôte contre le parasite

L'immunité mise en place lors d'une infection à *B. caballi* ou *T. equi* fait intervenir les 2 types d'immunité: à médiation cellulaire et à médiation humorale.

3.2.1. Immunité à médiation cellulaire

L'immunité à médiation cellulaire a pour rôle de lutter contre la multiplication des parasites dans un organisme infecté où les lymphocytes T jouent un rôle central ; elle est indispensable au bon déroulement de la réponse immunitaire.

Dans le cas de la piroplasmose, la présence de cette réponse peut être démontrée par un test intradermique faisant intervenir une réaction d'hypersensibilité retardée à des antigènes de *T.equi et* mettant en évidence une infiltration de cellules mononucléées au point d'injection.

De plus, il est connu que la phagocytose des hématies parasitées se produit à l'intérieur de la rate ; cette érythrophagocytose assurée par les macrophages spléniques permet de maintenir la parasitémie à des niveaux très faibles. C'est ainsi qu'un cheval splénectomisé est incapable de combattre la maladie et meurt dans les 10 à 12 jours post-infection (Guillot, 2002).

3.2.2. Immunité à médiation humorale

Chez des poulains immunodéprimés manquant de lymphocytes B et T matures, l'infection est impossible à combattre et ce malgré l'intégrité de l'ensemble des paramètres intervenant dans l'immunité à médiation cellulaire (système du complément fonctionnel, macrophages, lymphocytes T natural killer et rate intacte). La réponse immunitaire spécifique ne se développant pas, la parasitémie n'est pas contrôlée chez ces poulains.

L'injection d'un sérum immun chez un animal naïf confère à ce dernier une immunité spécifique contre l'espèce de *Babesia* ou de *Theileria* neutralisée par le sérum. Cette protection envers une infection quelque soit l'espèce considérée est partielle et de courte durée.

Ce transfert passif a également a été objectivé pour la première fois de la mère au poulain en 1982 par Donnelly et Phipps, par la mise en évidence d'anticorps fixant le complément chez des poulains de moins d'un an nés en Angleterre, zone indemne de piroplasmose, de mères importées du Portugal. Le taux d'anticorps chez ces juments infectées demeurait constant alors que le taux d'anticorps des poulains diminuait progressivement pour disparaître totalement habituellement vers l'âge de quatre mois, mais pouvant persister jusqu'à 9 mois après la naissance.

De plus, les poulains issus de mères indemnes développent la maladie alors que les poulains nés de mères infectées ne présentent pas, en général, de signes cliniques de piroplasmose lorsqu'ils sont mis en contact pour la première fois avec le parasite. Cela traduit un transfert passif d'immunité via le colostrum. Les équidés ne sont pas réceptifs à la maladie avant l'âge de 8 mois.

Lorsqu'un cheval s'infecte pour la première fois, il développe une réaction immunitaire par production d'anticorps. Les anticorps n'apparaissent que lorsque le cheval est porteur du parasite ; dans ce cas, le cheval est dit séropositif. Il est par contre dit séronégatif s'il ne porte pas de parasites soit parce qu'il est naïf vis-à-vis de ces derniers, ou redevenu négatif suite à un traitement médical approprié. La guérison clinique après une primo-infection laisse place à une immunité acquise avec présence d'anticorps inhibiteurs spécifiques du parasite concerné. Ces anticorps vont empêcher qu'il y ait une nouvelle infection par le même parasite : Cette immunité acquise est dite "immunité de coïnfection ou immunité de prémunition" (Guillot, 2002). Les infections successives donnent naissance à une immunité qui n'empêche pas l'infestation parasitaire mais empêche l'expression clinique (Maslin & Beugnet, 2004).

En effet, les animaux élevés en zone d'endémie sont plus résistants que ceux élevés en région indemne (Hanns-Jürgen, 1989). Cet état est assuré dans les zones d'enzootie par les réinfestations périodiques des chevaux par les tiques. La maladie revêt un tableau clinique aigu s'il s'agit d'un cheval nouvellement introduit, c'est chez ces animaux nouvellement infestés que des accès de piroplasmose sont observés (Maslin & Beugnet, 2004). Par contre, grâce aux réinfections répétées, les chevaux de la région acquièrent une bonne résistance vis-à-vis de l'infection.

3.2.2.1. Cinétique des anticorps

Sur des chevaux infectés expérimentalement par *B.caballi* ou *T.equi* ou après primo-infection (figure 21), le taux d'anticorps augmente en début d'infection jusqu'à atteindre un pic, puis diminue secondairement pendant la phase chronique de la maladie (Guillot, 2002). En fait le taux d'anticorps ou plus précisément la cinétique des anticorps est variable selon le test diagnostique utilisé et ce par rapport au seuil de détection et selon le parasite en cause.

Après infection par *B.caballi*, les anticorps sanguins sont dépistés dès le 7ème jour post-infection avec un pic dès le 30 à 45ème jour post infection (Tenter & Friedhoff, 1986) ; le taux des anticorps diminue ensuite progressivement après 3 à 6 mois et se maintient à un taux

faible tant que le cheval reste porteur du parasite (Soule, 1995). Le dépistage des anticorps se fait sur une période plus longue pour *T.equi* (Guillot, 2002).

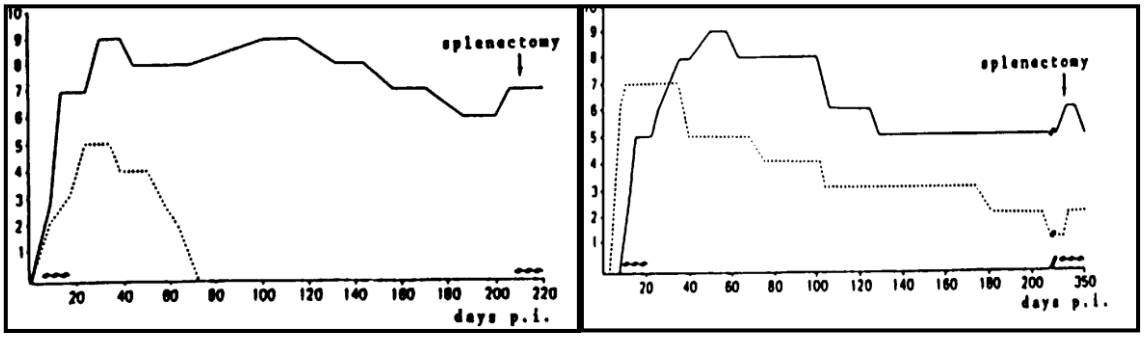


Figure 22 : Cinétique des anticorps après infection expérimentale à *B.caballi* (à gauche) et à *T.equi* (à droite)

Cet état chronique pouvant persister pendant plusieurs années, ou toute la vie s'il s'agit de *T.equi*, est assuré dans les zones d'enzootie par les réinfestations périodiques des chevaux par les tiques, mais n'empêche nullement la survenue d'une infection avec une espèce différente. Il n'existe pas d'immunité croisée entre B.caballi et T.equi, donc l'immunité développée contre un des deux parasites ne protège pas contre une infection de l'autre (Le Metayer, 2007).

Cependant en cas de dépression immunitaire lors de stress, de maladies intercurrentes, de gestation ou de lactation, cet état chronique asymptomatique peut laisser place à de possibles rechutes (Maslin & Beugnet, 2004). Dans ce cas, le taux d'anticorps sériques augmente plus rapidement qu'après une primo-infection. Après splénectomie, qui entraine également une dépression de l'immunité, il y a réapparition de parasites circulants et le cheval demeure porteur chronique.

L'immunité persistera tant que les antigènes babésiens stimuleront les défenses humorales et cellulaires (Hanns-Jürgen, 1989), c'est-à-dire tant que la parasitémie est présente. Même en l'absence de parasites sur les frottis sanguins des chevaux atteints, un taux d'anticorps spécifiques dans le sérum est maintenu en raison de la survie d'un très petit nombre de parasites chez l'hôte. Cet état définit ce qui est communément appelé les piroplasmoses équines inapparentes.

Ces piroplasmoses subcliniques peuvent survenir d'emblée à l'occasion d'infection avec faible parasitémie ou grâce à la diminution de la parasitémie après réaction immunitaire

de l'animal. Cet état persiste une à plusieurs années après l'infection : de 1 à 3 années pour *B.caballi*, plusieurs années voire à vie pour *T.equi*. Un cheval apparemment sain peut être porteur de piroplasmes même en absence de piroplasmes sur les frottis sanguins et est considéré comme source du parasite et réservoir pour la transmission aux animaux sains. Ces animaux porteurs sains peuvent être détectés par la mise en évidence des anticorps sériques, témoins d'une infection sous jacente grâce à de nombreux tests (Guillot, 2002; Sevinc, et al., 2008).

VI. La maladie : les piroplasmoses équines

Les piroplasmoses équines peuvent revêtir différentes formes cliniques. Elles se présentent parfois sous des formes inapparentes ou asymptomatiques et d'autres fois, elles causent des symptômes peu spécifiques. Quelque soit le parasite en cause, la piroplasmose peut se manifester sous un mode aigu ou chronique ; la forme suraigüe est rare.

1. Symptômes

Les symptômes de la piroplasmose équine sont très variés et peu spécifiques pour permettre de poser le diagnostic de piroplasmose (Baptistaa, et al., 2013).

La maladie est caractérisée par l'apparition d'une monocytose et d'une anémie hémolytique avec une diminution de l'hématocrite et de l'hémoglobine ainsi qu'une augmentation de la bilirubine (Maurin, 2010).

L'intensité des différents symptômes varie avec l'espèce parasitaire en cause, l'âge de l'animal, son statut immunitaire et l'existence de maladies intercurrentes. Elle peut aussi varier selon des facteurs génétiques. La maladie est caractérisée par un syndrome hémolytique et anémique suraigu à chronique (Schnittger, et al., 2012; Le Metayer, 2007).

La forme suraigüe est rare, elle peut provoquer la mort en très peu de temps, parfois en 2 à 3 jours (Hanns-Jürgen, 1989), 30 à 90 % des érythrocytes sont parasités (Maslin & Beugnet, 2004). Cette infection se retrouve surtout chez les chevaux qui n'ont jamais été en contact avec le parasite en particulier avec *T.equi* (Silva, et al., 2013). Les jeunes chevaux sont les plus concernés par cette forme, ils sont retrouvés morts sans signes cliniques préalables (Le Metayer, 2007).

La forme chronique de piroplasmose est asymptomatique sur le plan clinique et diagnostiquée par les tests sérologiques.

1.1. Piroplasmose à *B.caballi*

La parasitémie est souvent faible lorsqu'il s'agit de *B.caballi*, inférieure à 1%. Il est donc difficile de détecter les parasites sur les frottis sanguins colorés (Le Metayer, 2007).

1.1.1. Forme aigue

La forme aigue est la forme la plus rencontrée lors d'affections à *B.caballi*.

La période d'incubation est variable, elle dure de 6 à 21 jours parfois jusqu'à 30 jours, avec une moyenne de 7 à 12 jours (Maurin, 2010; Le Metayer, 2007; Hanns-Jürgen, 1989). Au début de la maladie, le cheval reste vif et son appétit est conservé, quelques jours plus tard, un abattement et une démarche instable sont constatés (Hanns-Jürgen, 1989).

B.caballi cause l'apparition d'un syndrome fébrile avec une dépression, une anorexie et une fièvre continue pouvant atteindre 41,5°C. Cette soudaine hyperthermie est de courte durée, elle dure un à deux jours. La température redescendra ensuite aux alentours de 40°C et se maintiendra en plateau pendant une dizaine de jours (Couroucé & Desbrosse, 2010; Le Metayer, 2007; Maurin, 2010; Maslin & Beugnet, 2004; Hanns-Jürgen, 1989).

L'apparition d'une anorexie, un abattement, une congestion des muqueuses ainsi qu'une polypnée et une tachycardie sont également notés. D'autres symptômes liés au syndrome hémolytique peuvent apparaitre par la suite. L'anémie apparait vers le 5ème jour, les muqueuses deviennent pâles et le taux d'hématocrite diminue. Le sub-ictère est inconstant et l'hémoglobinurie, quand elle existe, est d'apparition tardive (8-9ème jour) (Le Metayer, 2007; Maslin & Beugnet, 2004; Ribeiro, 2013).

La parasitémie est présente durant cette période mais son taux n'est pas proportionnel à l'atteinte de l'animal, elle peut être élevée chez un cheval ne présentant que peu de signes cliniques et inversement (Le Metayer, 2007).

La maladie peut s'accompagner d'autres signes moins spécifiques, digestifs (entérite, coliques…), respiratoires (congestion et œdème pulmonaires), nerveux (parésie, ataxie), circulatoires (œdèmes des régions déclives).

L'évolution se fera en 8 à 10 jours vers une rémission dans la plupart des cas. En l'absence de traitement, des complications parfois sévères (cardiopathie, néphropathie, CIVD…) peuvent survenir. La mort survient chez 30% des chevaux et touche surtout les chevaux âgés (Le Metayer, 2007).

1.1.2. Forme chronique

Cette forme peut apparaitre d'emblée, faire suite à la forme aigue ou survenir lors de rechutes des formes inapparentes.

Elle est caractérisée par la survenue d'une perte de poids progressive ainsi qu'un mauvais état général. Une plus grande tendance à maigrir est observée avec *B.caballi* qu'avec *T.equi* (Silva, et al., 2013).

La réduction du nombre de globules rouges et la diminution de leur capacité à transporter l'oxygène explique la baisse des performances, la fatigue et l'intolérance à l'effort. Il est également observé une inappétence, des œdèmes des régions déclives (Le Metayer, 2007), une fièvre légère surtout après le travail (Hanns-Jürgen, 1989).

Dans cette forme, l'anémie est permanente parfois accompagnée d'un subictère et le portage du parasite persistera pendant quelques mois à quelques années (Maslin & Beugnet, 2004). La parasitémie fluctue entre $10^{3,3}$ et $10^{6,0}$ parasites par ml de sang (Silva, et al., 2013).

Certains animaux peuvent être guéris cliniquement et rester porteurs asymptomatiques du parasite pendant quelques années, ils peuvent évidemment transmettre le parasite à d'autres animaux et sont responsables de la persistance de l'infection. Les parasites sont présents chez ces animaux en nombre réduit dans le sang si bien qu'ils ne sont pas détectables par frottis sanguins (Camacho, 2005; Ribeiro, 2013).

Les porteurs asymptomatiques peuvent rechuter si l'animal est victime d'une immunodépression due au stress ou à une maladie intercurrente. Une diminution des performances et une perte de poids sont observés (Ribeiro, 2013) (Couroucé & Desbrosse, 2010).

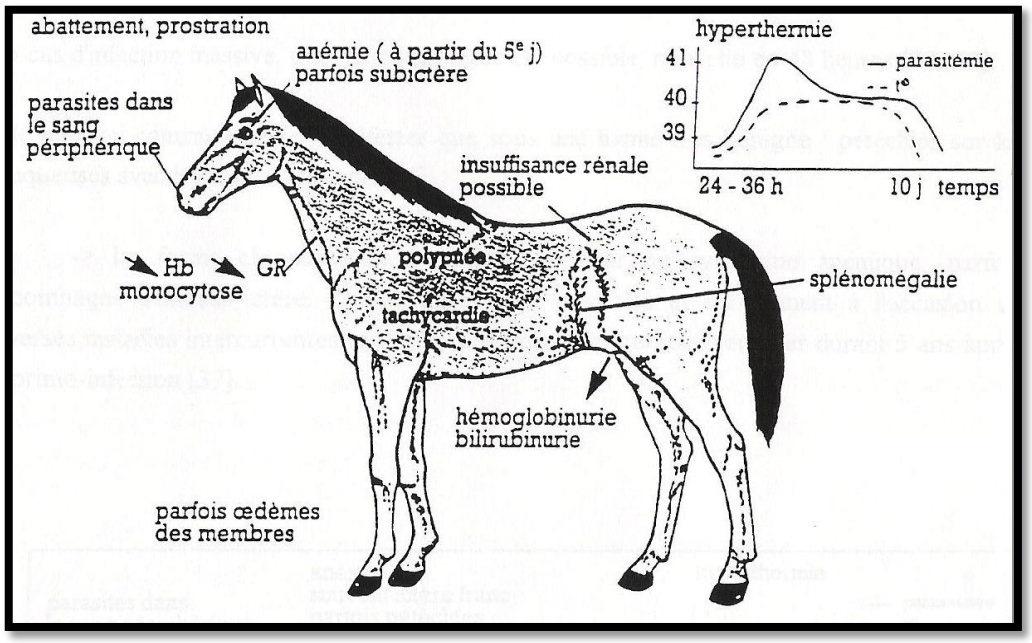


Figure 23 : Principaux symptômes au cours de l'affection due à *B.caballi* (Cadore, et al., 1995) Cité dans (Le Metayer, 2007)

1.2. Piroplasmose à *T.equi*

Dans ces affections, le taux de parasites sanguin est plus élevé que pour les affections à *B.caballi*. Ce taux est compris entre 1 et 7% et peut même atteindre 80% si l'animal est très immunodéprimé (Le Metayer, 2007).

1.2.1. Forme aigue

La période d'incubation dure de 12 à 19 jours, au terme de laquelle apparaitront des signes d'une intensité et d'une gravité plus élevées que pour *B.caballi*.

Une fois que la maladie est installée, un ictère franc et intense est observé, ainsi qu'une anémie sévère, une lymphocytose et une éosinopénie (Le Metayer, 2007). L'hémoglobinurie reste rare avec *T.equi* et il n'y a pas de complications respiratoires ou nerveuses (Maslin & Beugnet, 2004; Le Metayer, 2007), en revanche, des complications circulatoires telles que des pétéchies et des œdèmes des régions déclives sont notés (Hanns-Jürgen, 1989; Couroucé & Desbrosse, 2010; Maurin, 2010; Ribeiro, 2013; Le Metayer, 2007)

L'évolution de cette forme se fait, en 8 à 12 jours, vers la mort dans 20 à 50% des cas en l'absence de traitement (Maslin & Beugnet, 2004; Le Metayer, 2007). Si l'animal survit à la crise aigue, il passera souvent à la phase chronique. Le cheval devient alors porteur

asymptomatique du parasite et sera un réservoir de l'infection (Silva, et al., 2013; Alhassan, et al., 2005).

L'infection à *T.equi* cause des formes plus graves avec l'apparition de symptômes plus importants accompagnés d'une fièvre rémittente moins marquée, à allure cyclique. La mort peut survenir en 24 à 48h (Couroucé & Desbrosse, 2010; Le Metayer, 2007; Maslin & Beugnet, 2004; Maurin, 2010).

1.2.2. Forme chronique

Dans cette forme, les symptômes sont peu spécifiques et ont une faible intensité. Elle peut apparaitre d'emblée mais fait souvent suite à la guérison de la forme aigue ; elle peut également constituer une rechute clinique chez les animaux porteurs sains et présentant une immunodépression ou à l'occasion de maladies intercurrentes (Le Metayer, 2007).

Le syndrome anémique est prédominant avec une anémie et un sub-ictère. L'animal montrera une inappétence, une fatigue et une intolérance à l'effort (Le Metayer, 2007).

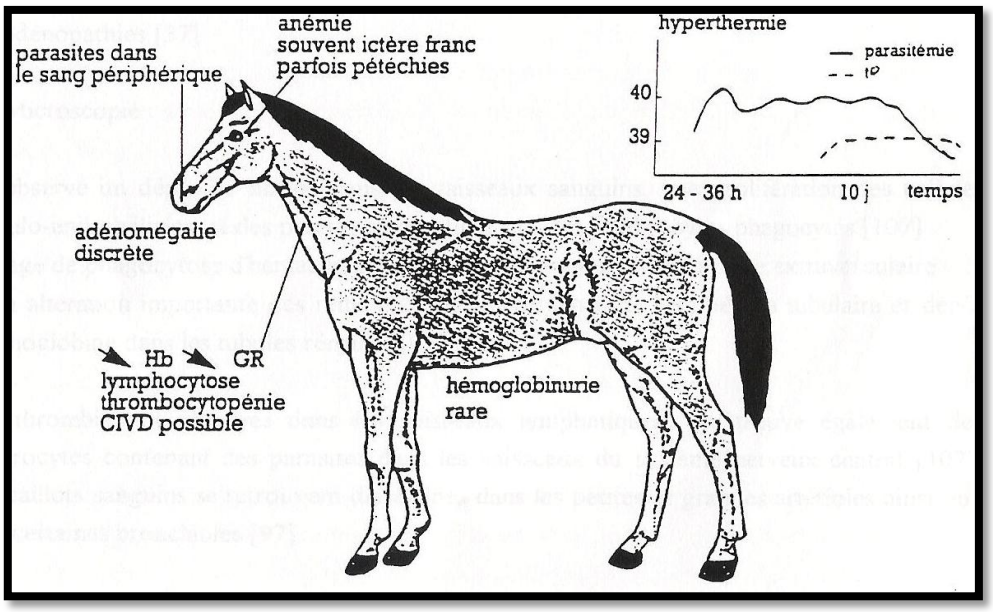


Figure 24 : Principaux symptômes au cours de l'affection due à T.equi (Cadore, et al., 1995) Cité dans (Le Metayer, 2007)

VII. La piroplasmose chez l'homme

La piroplasmose humaine est considérée comme une zoonose émergente, le premier cas a été relevé dans les années 1960. Depuis, un grand nombre de cas a été rapporté (Schnittger, et al., 2012).

La piroplasmose humaine, tout comme les piroplasmoses animales, est transmise par piqûres de tiques vectrices du parasite. Elle peut être due à différentes espèces de *Babesia* et de *Theileria* incluant *B.caballi* et *T.equi*. En Amérique du Nord, les cas de piroplasmoses humaines sont fréquemment dus à *Babesia microti* (Jassoum & Fong, 2000).

La plupart des cas de piroplasmose humaine sont recensés dans les régions tempérées du monde. La maladie a déjà été décrite au Canada et aux Etats Unis ainsi qu'en Europe, où la France et la Grande Bretagne sont les pays les plus touchés. Elle est également présente dans quelques pays d'Afrique et d'Asie notamment l'Egypte, l'Afrique du sud, la Chine et le Taiwan (Maslin & Beugnet, 2004). Les cas humains surviennent particulièrement aux endroits où les élevages bovins sont intensifs.

En plus de la transmission par piqûres de tiques, quelques cas où la transmission a été faite lors d'une gestation par transmission transplacentaire ont été décrits (Maslin & Beugnet, 2004) ou à l'occasion de transfusions sanguines, les *Babesia* demeurant viables dans les banques de sang (Jassoum & Fong, 2000).

La piroplasmose humaine possède un tableau clinique varié pouvant aller de la forme asymptomatique à une forme grave parfois mortelle. Cette variation dépend du statut immunitaire de l'hôte (Schnittger, et al., 2012).

La forme la plus connue est caractérisée par de la fièvre, une hémoglobinurie, une hémolyse intravasculaire et une insuffisance rénale (Jassoum & Fong, 2000). Les infections aigues sont le plus souvent observées chez les personnes ayant une diminution de l'immunité comme les personnes splénectomisées, les personnes âgées et les nouveaux nés, chez lesquels des complications peuvent être rencontrées comme une sévère hémolyse, une détresse respiratoire ainsi qu'une défaillance multi viscérale pouvant aller jusqu'à la mort (Schnittger, et al., 2012).

Le diagnostic microscopique est parfois difficile car le parasite ressemble à l'agent du paludisme. Le premier cas de piroplasmose humaine formellement reconnu a été décrit en 1957 par Skrabalo et Deanovic (Gorenflot & Piette, 1981).

VIII. Diagnostic

Le diagnostic des piroplasmoses équines passe d'abord par les caractéristiques épidémiologiques et cliniques de ces affections, mais il est surtout basé sur les tests de laboratoire étant donné le caractère aléatoire et non spécifique des symptômes.

1. Epidémiologique

Le diagnostic se base non seulement sur l'observation des symptômes mais également sur les éléments épidémiologiques tels que la saison et la zone d'activité des tiques (Maslin & Beugnet, 2004). Il faut donc toujours penser à la piroplasmose dans les régions d'enzootie lorsque les chevaux présentent des symptômes similaires à ceux décrits précédemment. La suspicion est plus grande quand cet animal vit au pâturage et si des tiques sont retrouvées sur le corps du cheval (Le Metayer, 2007; Hanns-Jürgen, 1989).

En zone indemne, la maladie est suspectée en présence de symptômes similaires si le cheval a effectué un séjour en zone enzootique (Le Metayer, 2007).

2. Clinique

Les symptômes des piroplasmoses équines ne sont pas très spécifiques, il faudra cependant suspecter la maladie en présence d'un cheval présentant un syndrome fébrile accompagné d'une anémie hémolytique avec anorexie et abattement (Le Metayer, 2007). Le diagnostic clinique est plus facile si la maladie est dans sa phase aigüe que si elle est sous sa forme chronique (Fontaine & Cadore, 1995; Maurin, 2010). Dans tous les cas, la présence de chevaux présentant un amaigrissement et une anémie discrète devra systématiquement faire évoquer le diagnostic de piroplasmose équine (Le Metayer, 2007).

La différentiation entre la maladie causée par *T.equi* et celle causée par *B.caballi* reste difficile cliniquement, la distinction est cependant importante pour l'élaboration d'un traitement adéquat (Xie, et al., 2013; Baptistaa, et al., 2013). Les piroplasmoses associées à *T.equi* sont plus répandues que celles dues à *B.caballli*, cependant du fait des similitudes de biotope des tiques vectrices, les deux parasites sont souvent associées (Baptistaa, et al., 2013).

L'hyperthermie est plus marquée et plus courte avec *B.caballi*, elle est maintenue au dessus de 40°C pendant toute la phase aigue. Avec *T.equi*, la température est intermittente et l'ictère est plus franc.

Afin de différentier ces deux affections et avoir un diagnostic plus sur, il faudra utiliser les méthodes de laboratoire.

3. De confirmation

La piroplasmose équine peut être diagnostiquée soit directement, par identification du parasite sur des frottis sanguins colorés, ou indirectement par la mise en évidence des anticorps dirigés contre le parasite dans le sérum (Fontaine & Cadore, 1995; Baptistaa, et al., 2013).

Le choix de la méthode de diagnostic est orienté d'une part par le contexte clinique (phase aigue ou chronique de l'affection), d'autre part selon qu'il s'agisse d'études épidémiologiques, de dépistage à l'échelle individuelle ou entrant dans le cadre d'une réglementation spécifique.

3.1. Diagnostic direct

Ce diagnostic est basé sur la détection du parasite par différentes méthodes, il est surtout utilisé en phase aigue lorsque les anticorps ne sont pas détectables en raison de leur quantité insuffisante.

3.1.1. Technique de la goutte épaisse

Cette technique consiste à déposer une goutte de sang sur une lame porte-objet, à la laisser sécher. Cette goutte est ensuite fixée à 80° pendant 5 minutes puis colorée au Giemsa pendant 30 minutes. La lame est ensuite observée au microscope optique (OIE, 2005).

3.1.2. Réalisation de frottis sanguins

Dans les formes aigues, la mise en évidence du parasite au sein des hématies est possible par l'observation au microscope de frottis sanguins préalablement colorés au Giemsa (Sevinc, et al., 2008). Ces derniers sont préparés par étalement de sang périphérique prélevé par piqure au niveau du bout du nez (Maurin, 2010; Le Metayer, 2007; Camacho, 2005).

La différenciation lors de l'examen microscopique se base sur les caractéristiques phénotypiques comme la taille du parasite, le nombre de cellules filles formées par la division

des mérozoïtes. Les formes décrites ci après sont recherchées à l'intérieur des hématies (Schnittger, et al., 2012).

T. equi : apparait sous forme d'inclusions intra érythrocytaires, de forme ovoïde et d'une taille de 1-2 µm, généralement regroupés par groupe de 4 mérozoïtes par cellule (croix de Malte) (Maurin, 2010; Schnittger, et al., 2012).

B. caballi : apparait sous forme d'inclusions intra érythrocytaires, piriformes, d'une taille de 2x3 µm et regroupées par paires (Maurin, 2010).

Cette technique, de réalisation facile et rapide et de moindre cout, a cependant certaines limites : elle ne permet pas une identification précise du parasite, a une sensibilité limitée et ne différentie pas d'une manière fiable entre les deux parasites.

L'observation du parasite est difficile, même durant la phase aigue, étant donné le faible taux parasitaire surtout en présence de *B.caballi* (parasitémie en dessous de 1% et période de dépistage courte). Le diagnostic est plus probable avec *T.equi* où la parasitémie est plus élevée, il reste quand même inconstant. Il devient beaucoup moins évident en cas d'infection mixte ou chez les porteurs sains avec une faible parasitémie ; dans ce dernier cas, le risque de faux négatifs est élevé car le parasite se trouve dans les organes profond et n'est donc pas détectable par frottis sanguins (Salim & Hassan, 2008; Alhassan, et al., 2005; Baptistaa, et al., 2013; Asgarali, et al., 2007; Le Metayer, 2007). En cas de frottis sanguins négatifs, il ne faut pas exclure d'emblée la maladie mais il faut confirmer le diagnostic par l'utilisation d'autres moyens (Xie, et al., 2013).

3.1.3. PCR (Polymerase Chain Reaction)

La PCR a été appliquée pour la détection des parasites causant la piroplasmose équine (Alhassan, et al., 2005). Cette technique, utilisant un prélèvement effectué sur tube EDTA, de spécificité plus élevée que le diagnostic microscopique (Xie, et al., 2013) permet de différencier de façon formelle entre *T.equi* et *B.caballi*.

Le principe de cette technique est l'amplification d'un segment d'ADN précis in vitro, c'est l'ADN d'intérêt, elle permet après plusieurs cycles d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN choisie ou d'ADN cible. Il s'agit de réaliser une succession de réactions de réplications qui mettent en œuvre des amorces « primers », ces amorces

permettent de définir la séquence à amplifier qui est repérée même si elle est présente en quantité infime dans le mélange. L'amplification est exponentielle (Voge, 2002).

Chaque cycle est constitué de trois étapes, une dénaturation de l'ADN par chauffage afin de séparer les deux brins, une hybridation des amorces au niveau des extrémités de la séquence cible puis une élongation grâce à l'ADN polymérase (Bibliomer, 2009).

Les sondes d'ADN sont disponibles pour le diagnostic direct (Camacho, 2005). Cependant, la PCR prend plus de temps et requiert l'utilisation de procédures complexes (Alhassan, et al., 2005).

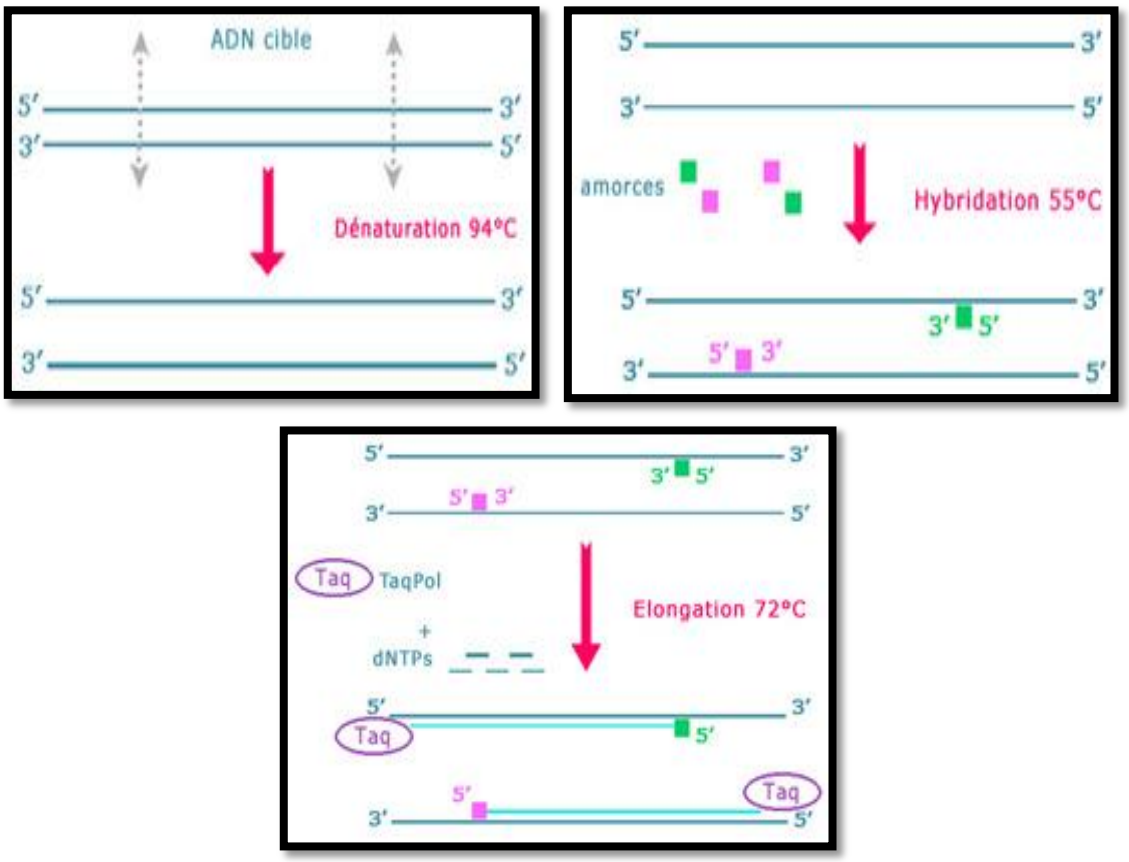


Figure 25 : Principe de la PCR (Malardé, 2008)

3.1.4. Immunofluorescence directe (IFD)

L'IFD permet la détection du parasite à l'intérieur des hématies, la technique consiste à déposer sur une lame une goutte de sang prélevée à partir d'une zone périphérique, à fixer cette goutte avec de l'alcool puis à la recouvrir d'une solution de globulines anti-piroplasmes préalablement liées à un marqueur fluorescent, l'isothiocyanate de fluorescéine.

Ces lames sont par la suite observées sous un microscope muni d'une lumière ultraviolette, les piroplasmes vont apparaitre fluorescents à l'intérieur des hématies. Cet examen va permettre la différentiation entre *B.caballi* et *T.equi* selon leur taille et leur disposition à l'intérieur des érythrocytes. Cette méthode n'est sensible qu'en cas de piroplasmose aigue et est inefficace dans le cas de piroplasmose chronique ou inapparente (Le Metayer, 2007).

3.2. Diagnostic indirect (examens immunologiques)

Le diagnostic indirect est utile dans les formes chroniques de la maladie, la parasitémie étant faible dans ces cas là, il sera alors difficile d'identifier les parasites par la méthode directe.

Ce diagnostic permet non seulement de confirmer qu'il y a eu contact entre l'animal et le parasite mais il permet également la détection des infectés latents (Maslin & Beugnet, 2004; Camacho, 2005).

Plusieurs études ont montré que les tests sérologiques étaient plus spécifiques et plus sensibles que l'identification au microscope (Xie, et al., 2013). Ces tests sont parfois limités par les réactions croisées des anticorps et ne peuvent pas être utilisés pendant la phase clinique de la maladie car les anticorps ne sont sécrétés qu'après 6 à 8 jours (Alhassan, et al., 2005; Le Metayer, 2007).

Plusieurs tests sérologiques pour la détection des anticorps spécifiques peuvent être utilisés, ils regroupent le test ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay), le test de fixation du complément (CFT) et l'immunofluorescence indirecte (IFI). Une méthode d'ELISA compétitif a récemment été développée utilisant des antigènes recombinants, cette méthode est plus spécifique que l'IFI et la fixation du complément (Sevinc, et al., 2008).

3.2.1. Test de fixation du complément (CFT)

Ce test constitue la méthode de diagnostic sérologique la plus anciennement employée. Développé en 1945, il est considéré depuis 1969 comme le test officiel pour le dépistage des piroplasmoses équines aux Etats Unis, en France et dans d'autres pays afin de contrôler les importations des équidés dans les zones indemnes de la maladie (Le Metayer, 2007).

Cette méthode de diagnostic permet la détection de *B.caballi* et de *T.equi* sans réactions croisées entre les deux parasites. La détection des anticorps est possible à partir du

20ème jour pour *B.caballi* et du 30ème jour pour *T.equi*, suivie ensuite d'une diminution progressive de leur taux. Le cheval peut rester positif pendant 18 mois s'il s'agit de *B.caballi* et peut le rester pendant une ou plusieurs années si c'est *T.equi* qui est en cause (Le Metayer, 2007).

Ces anticorps, les hémolysines, sont capables de se fixer sur les hématies contenant le parasite en présence du complément, ils vont détruire l'hématie et libérer l'hémoglobine. Afin de les détecter, des antigènes spécifiques de *T.equi* ou de *B.caballi* préparés à partir d'érythrocytes parasités sont utilisés.

Le complément est capable de se fixer sur les complexes antigène-anticorps. Le sérum à tester est dilué puis mis en contact avec du complément et les antigènes correspondants. Après incubation, des hématies sont ajoutées au mélange.

Le complément ainsi ajouté en quantité limitée va se fixer sur les complexes immuns et ne sera donc plus disponible pour se fixer sur les hématies sensibilisées par des anticorps anti hématies, ne pouvant plus entrainer leur lyse.

La présence d'anticorps va donc se traduire par une absence de lyse des hématies. Si, au contraire, une hémolyse est détectée, cela témoigne de l'absence d'anticorps, le complément va donc agir avec le système hémolytique et créer une hémolyse, la réaction est alors négative (Le Metayer, 2007; Grangeot-Keros, 2003). Les résultats sont qualitatifs.

La réaction de fixation du complément est de moins en moins utilisée pour le diagnostic et ce en raison de sa faible sensibilité et sa difficulté de réalisation, elle tend à être remplacée par les techniques immunoenzymatiques (Grangeot-Keros, 2003).

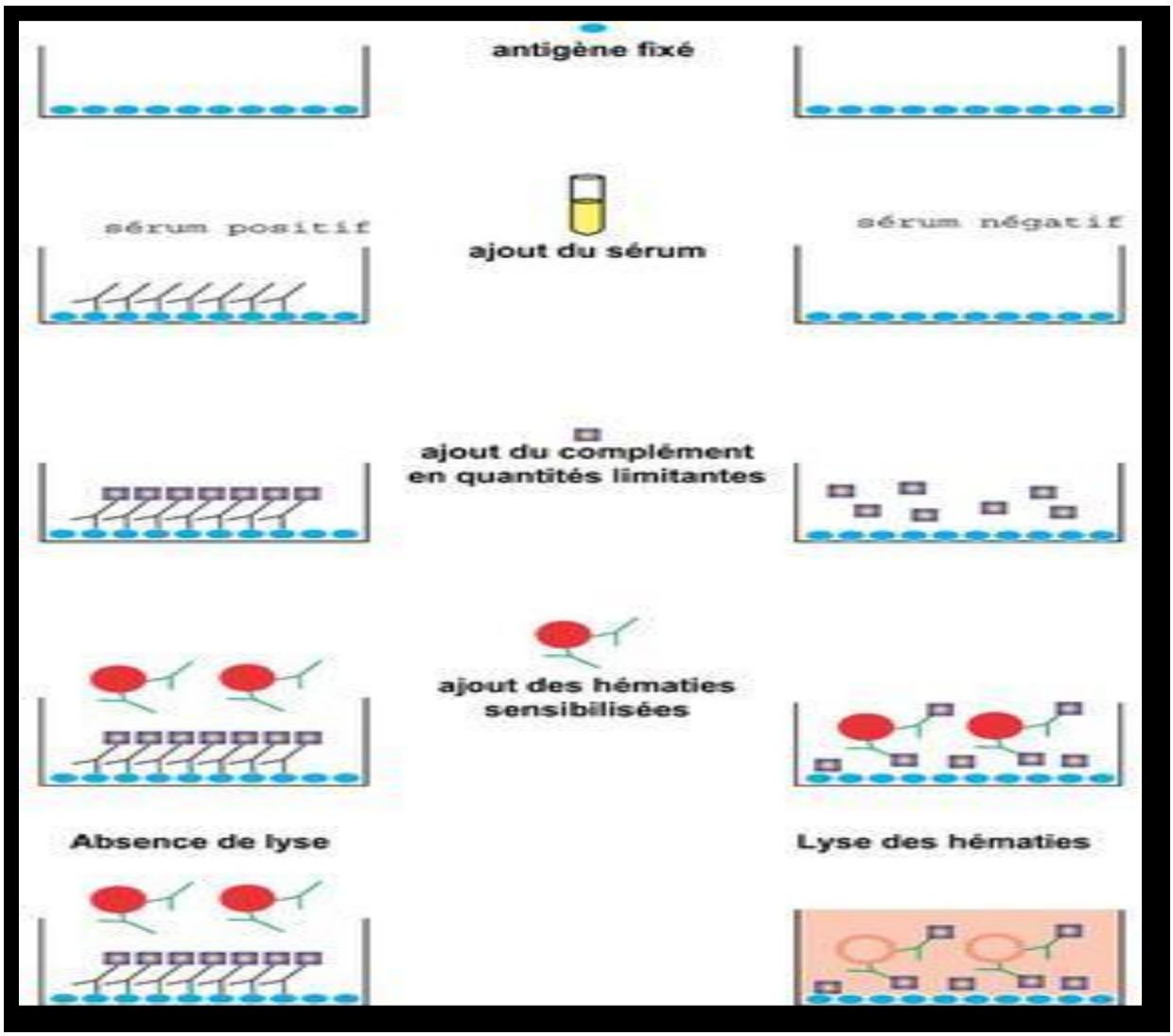


Figure 26 : Illustration du principe de la fixation du complément, d'après (Grangeot-Keros, 2003)

3.2.2. Immunofluorescence indirecte (IFI)

Le principe de l'IFI est de mettre en évidence le complexe anticorps-antigène en utilisant un conjugué fluorescent dirigé contre les anticorps de l'espèce animale (Visee, 2007).

Du sang provenant d'animaux parasités est utilisé pour cela, ce sang est fixé sur des lames de verre qui présenteront 12 puits. Pour *T.equi*, les antigènes proviennent de cultures de schizontes ou d'hématies parasitées alors que les antigènes de *B.caballi* sont obtenus par étalement de sang parasité prélevé sur tube EDTA (Le Metayer, 2007).

Des dilutions du sérum sont effectuées, elles seront placées dans les différents puits. Les anticorps se trouvant éventuellement dans le sérum sont mis en contact par cette méthode avec les antigènes préalablement fixés sur la lame. Lorsqu'il y a une réaction anticorps-antigène, les anticorps fixés sont révélés grâce à des antiglobulines marquées par le fluorochrome et à un contre colorant (le conjugué) qui se fixent sur le complexe.

Lorsqu'une fluorescence de couleur jaune-verte est observée pendant la lecture sous microscope à fluorescence, cela témoigne d'une réaction positive. L'intensité de la fluorescence est fonction du pourcentage d'anticorps présents dans le sérum (Visee, 2007; Le Metayer, 2007).

Une réaction positive est facilement reconnaissable, en revanche, une solide expérience est requise pour la différenciation entre une réaction faiblement positive et une réaction négative (OIE, 2005).

Des fluorescences non spécifiques dues à des impuretés dans le sérum peuvent être observées. Il existe également certaines réactions croisées en raison de la présence d'antigènes communs entre les différents protozoaires. Le seuil de positivité est fixé à la dilution 1/80.

Cette méthode présente une spécificité et une sensibilité élevées et permet la détection des infestations chroniques présentant une faible parasitémie indétectable par frottis sanguin. C'est une technique peu couteuse qui établit un diagnostic différentiel entre les deux piroplasmes, elle permet la détection des anticorps du 8ème jour au 18ème mois pour *B.caballi* et du 14ème jour jusqu'à plus de 500 jours post-infection pour *T.equi*. Par cette méthode, un diagnostic plus tardif qu'avec le CFT peut être obtenu (Le Metayer, 2007; Chadufaux, 2008).

Malgré sa grande sensibilité, cette méthode n'est utilisée pour le diagnostic que pour compléter le CFT car elle nécessite la présence d'un personnel qualifié et l'interprétation est subjective et longue (Visee, 2007; Le Metayer, 2007).

3.2.3. Elisa (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

3.2.3.1. Principe général

Cette technique repose sur une réaction immuno-enzymatique dans laquelle un conjugué, formé de l'anticorps de détection couplé à une enzyme, sert de révélateur. La fusion entre l'antigène et l'anticorps est visualisée grâce à la présence de l'enzyme. En effet, l'enzyme

couplée aux anti-anticorps équins permet la révélation de la fusion et ce par la production d'une réaction colorée après l'ajout du substrat (figure 26) (Technobio, 2008).

Cette technique ne peut pas être utilisée pour un diagnostic discriminant entre *B.caballi* et *T.equi*, en raison des réactions croisées et de nombreux faux positifs (Chadufaux, 2008). De plus, cette technique utilisant une enzyme la rend dépendante de la température, du pH et de la lumière (Technobio, 2008).

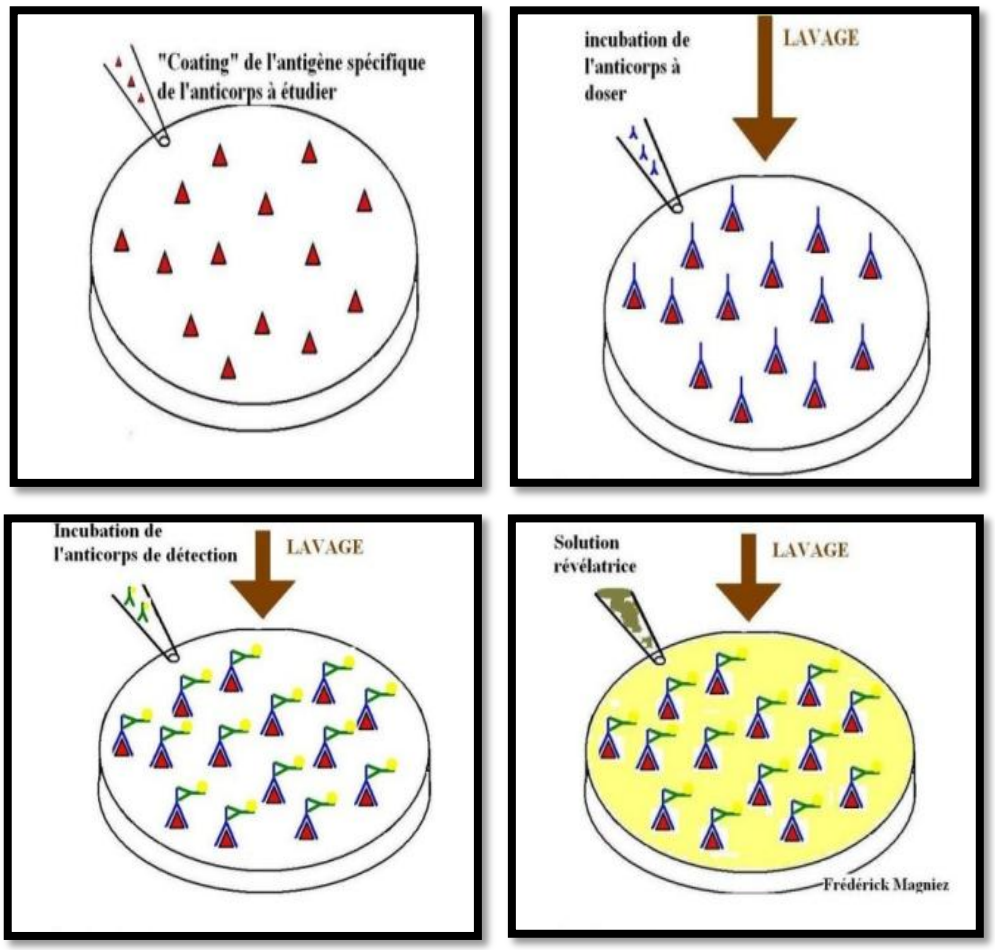


Figure 27 : Principe de la technique ELISA (Technobio, 2008)

3.2.3.2. Production d'antigènes

Les antigènes utilisés dans ce test sont des protéines recombinantes. La protéine recombinante du mérozoïte de *T.equi* (EMA-1) est produite chez la bactérie *E.coli* et dans des cellules d'insectes infectées par un *Baculovirus*. L'antigène recombinant de *B.caballi* est produit chez *E.coli*, c'est une protéine de rhoptrie (RAP-1).

EMA-1 et un anticorps monoclonal (AcM), dirigé contre un épitope d'une protéine de surface du mérozoïte, sont utilisés dans un cELISA pour *T. equi*. Ce test ne pose pas le problème de la pureté antigénique puisque la spécificité d'un tel test dépend uniquement de l'AcM utilisé (OIE, 2005).

3.2.3.3. Principe du cELISA

Un test cELISA utilisant des protéines recombinantes de mérozoïtes de *B.caballi* et de *T.equi* ainsi que des AcM spécifiques de ces protéines a vu le jour.

Ce test spécifique grâce à l'utilisation d'AcM permet de différentier entre *B.caballi* et *T.equi* (OIE, 2005). C'est une méthode qui possède une grande sensibilité par l'utilisation d'anticorps secondaires et une grande précocité, les anticorps peuvant être détectés dès le deuxième jour post infection (Technobio, 2008).

Les résultats sont lus par spectrophotométrie, ils sont donc objectifs car ne dépendent pas de l'appréciation d'une personne (Le Metayer, 2007; Visee, 2007).

4. Différentiel

La piroplasmose équine peut être confondue avec d'autres affections provoquant les mêmes symptômes que ce soit en présence d'une forme aigue ou chronique. Le diagnostic différentiel doit se faire avec toutes les maladies provoquant une **anémie hémolytique** telles que l'anémie infectieuse, la leptospirose et l'artérite virale (Couroucé & Desbrosse, 2010). Il doit également se faire avec la peste équine et la trypanosomose quand la maladie est sous sa forme suraigüe (Hanns-Jürgen, 1989).

IX. Aspects thérapeutiques et préventifs

1. Traitement

Le traitement doit être mis en œuvre le plus précocement possible, il comprend deux volets, un traitement spécifique de la piroplasmose qui doit être supplémenté d'un traitement symptomatique. Le but de ce traitement est d'éviter à l'animal de sombrer dans un état irréversible.

1.1. Traitement spécifique

Le traitement spécifique est représenté par l'administration d'un piroplasmicide ; plusieurs molécules ont été utilisées, l'imidocarbe est la molécule utilisée actuellement (Visee, 2007).

1.1.1. L'imidocarbe

Ce piroplasmicide appartient à la famille des diamines aromatiques, il constitue le traitement de choix contre les piroplasmoses équines. La dose à injecter varie en fonction de l'épidémiologie de la zone concernée et en fonction du parasite en cause. L'injection de l'imidocarbe doit se faire dès l'apparition de la maladie (Couroucé & Desbrosse, 2010; Le Metayer, 2007).

L'imidocarbe se lie aux acides nucléiques de l'ADN des piroplasmes causant sa dénaturation. L'ADN subit ainsi une lésion irréversible qui conduit à la mort du piroplasme. Cette molécule a un métabolisme hépatique et rénal et peut entrainer de nombreux effets secondaires (Visee, 2007).

L'imidocarbe a parfois des effets secondaires comme des coliques, de la diarrhée et de l'hypersalivation et une légère dyspnée qui peuvent apparaitre quelques minutes après l'injection, une prémédication avec de l'atropine suffirait à prévenir ces effets (Visee, 2007). Des troubles nerveux et une nécrose rénale qui peuvent conduire à une issue fatale sont parfois observés (Le Metayer, 2007; Maurin, 2010). Ces effets sont d'autant plus marqués si les doses sont élevées ; la dose de 4,5 mg/ kg chez le cheval ne doit pas être dépassée en association à un antispasmodique afin de limiter la survenue de coliques (Maurin, 2010; Le Metayer, 2007).

En zone endémique où la réexposition est probable, le but du traitement est de diminuer la parasitémie et permettre une rémission clinique sans stériliser l'animal ni diminuer son taux d'anticorps ; une dose de 2,2 mg/kg est alors administrée en IM (Maurin, 2010). Cette faible parasitémie est maintenue afin de garder une immunité associée à la persistance de l'infection et empêcher ainsi sa réapparition (Silva, et al., 2013).

En zone non endémique, en traitant l'animal une stérilisation complète est recherchée. En présence de *B.caballi*, la dose sera de 2,2mg/kg en IM à renouveler une fois à 24 ou 72h d'intervalle ; dans ce cas, la stérilisation parasitaire est obtenue dans 100 % des cas (Maurin, 2010; Le Metayer, 2007).

La dose doit être plus élevée avec *T.equi* car la molécule est moins active sur cette dernière que sur *B.caballi* ; certains auteurs préconisent l'administration de 4 injections à 72h d'intervalle pour obtenir la stérilisation parasitaire, d'autres administrent deux injections à la dose de 4mg/kg en IM à 72h d'intervalle et n'obtiennent la stérilisation parasitaire que chez 60% des chevaux. Ils précisent que même l'administration de 4 doses à la même posologie ne suffisent pas pour obtenir la stérilisation (Maurin, 2010; Le Metayer, 2007).

1.2. Traitement symptomatique

Le traitement symptomatique consiste à soutenir les fonctions vitales de l'animal par une protection hépatorénale, parfois cardiaque. Pour cela, des préparations contenant des vitamines, des minéraux et des acides aminés sont administrées, elles vont permettre de stimuler l'hématopoïèse, de lutter contre l'anémie et protéger les cellules hépatiques (Le Metayer, 2007).

Une fluidothérapie doit parfois être mise en place afin de lutter contre la déshydratation, la diarrhée et l'anorexie, des solutions de Ringer Lactate sont perfusées à un rythme lent (Le Metayer, 2007).

L'administration d'anticoagulants (héparine) en cas de CIVD peut augmenter la perfusion tissulaire. Des réanimations ou des transfusions sanguines sont effectuées lorsque l'hémolyse est sévère (Fontaine & Cadore, 1995; Maurin, 2010).

La mise au repos de l'animal est indispensable pour sa guérison, il faut le mettre dans un endroit calme et aéré (Le Metayer, 2007).

2. Prophylaxie

Des mesures prophylactiques doivent être mises en place afin de limiter l'extension des piroplasmoses équines et de diminuer les couts engendrés par le traitement et les pertes de chevaux de grande valeur économique.

2.1. Médicale

2.1.1. Chimioprévention

Pour prévenir l'apparition de la maladie, une dose d'Imidocarbe peut être administrée, soit 1,7 mg/kg. Le traitement chez un cheval infecté latent peut aboutir à une stérilisation parasitaire, la sérologie sera donc négative (Fontaine & Cadore, 1995).

Ce traitement préventif est surtout utilisé en zone indemne de piroplasmose dans laquelle des tiques vectrices sont présentes, ou chez des chevaux qui ont séjourné en zone enzootique. L'administration d'Imidocarbe se fera dans ce cas en 2 injections à 72h d'intervalle, elle permettra une protection de 3 à 4 semaines et n'aura une action préventive que sur *B.caballi* et en aucun cas sur *T.equi* (Le Metayer, 2007).

2.1.2. Vaccination

Malgré plusieurs tentatives réalisées notamment par Singh en 1981, aucun vaccin n'est encore disponible chez les équidés bien qu'il existe pour d'autres espèces comme chez le chien par exemple. En effet, l'inoculation du parasite après une primo-vaccination ayant utilisé un vaccin composé de corps tués de *B.caballi* n'a laissé place qu'à une immunité de courte durée. De plus, l'immunité provoquée chez un poulain issu d'une mère infectée lui évite de développer la maladie mais n'empêche pas le portage. La question quant à l'efficacité du vaccin reste encore posée ; les techniques nouvelles du type vaccin recombinant pourraient dans l'avenir ouvrir la voie à d'autres perspectives dans ce domaine (Guillot, 2002).

Si un vaccin contre les piroplasmoses équines est mis sur le marché, les chevaux vaccinés poseront problème lors de leur importation dans les pays indemnes de piroplasmoses (Le Metayer, 2007).

2.2. Sanitaire

Le contrôle de l'infection se fait surtout par la détection des chevaux infectés et par l'interdiction de l'importation de ces derniers (Silva, et al., 2013). Le dépistage de la piroplasmose équine est devenu obligatoire pour le mouvement international des animaux à cause de la menace portée sur les chevaux de race pure et les chevaux de course (Schnittger, et al., 2012).

La prophylaxie sanitaire passe d'abord par la lutte contre les tiques :

- Protection contre les tiques par l'utilisation d'insecticides et de répulsifs (Fontaine & Cadore, 1995; Couroucé & Desbrosse, 2010).
- Recherche de la présence de tiques sur le corps de l'animal et destruction de ces dernières (figure 27) (Couroucé & Desbrosse, 2010).
- Destruction des biotopes des tiques en particulier au printemps et en automne (Couroucé & Desbrosse, 2010).

Figure 28 : Représentation de l'arrachement d'une tique à l'aide d'une pince (Baxter, 2013)

L'utilisation d'acaricides dans le milieu extérieur pose des problèmes de couts et de pollution, cette solution n'est donc pas envisageable à long terme. Les acaricides utilisés à répétition engendrent des problèmes de résistances chez les tiques (Le Metayer, 2007).

Une bonne tenue de l'élevage par l'application des mesures sanitaires permet d'avoir des chevaux en bonne santé, ce qui accroit leur résistance aux infections. Ceci passe par une alimentation saine et équilibrée, la mise en quarantaine des nouveaux animaux et une bonne hygiène à l'intérieur des élevages (Le Metayer, 2007).

X. Pronostic

Le pronostic de la maladie dépend du parasite auquel nous sommes confrontés. Il est généralement bon en présence de *B.caballi*, il est en revanche plus réservé lorsqu'il s'agit de *T.equi*, plus réfractaire au traitement. Le pronostic varie également en fonction de l'âge de l'animal et de la précocité de la mise en place d'un traitement piroplasmicide. Le pronostic sera donc favorable si le diagnostic est rapide avec mise en place d'un traitement précocement chez un animal jeune, il sera par contre réservé si l'animal est âgé et surtout s'il a déjà eu

plusieurs accès piroplasmiques ou qu'il souffre d'une autre pathologie (Maurin, 2010; Maslin & Beugnet, 2004).

Seconde partie : étude expérimentale

Seconde partie : Etude expérimentale

Les piroplasmoses équines sont des maladies vectorielles dont le statut est inconnu en Algérie. Ce sont des zoonoses émergentes qui ont fait l'objet de plusieurs études un peu partout dans le monde. Nous avons concentré notre étude sur la prévalence des infections à *T.equi* car elles sont plus répandues que celles à *B.caballi* (Baptistaa, et al., 2013).

N'ayant pas de données concernant la prévalence de cette pathologie dans la population équine en Algérie, nous avons entrepris de faire une étude dans la wilaya d'Alger et ses environs afin de connaitre son statut actuel dans notre pays.

L'étude des parasites, de leurs cycles évolutifs, de leurs modes de transmission ainsi que des méthodes utilisées pour leur diagnostic, nous a permis d'établir un protocole d'étude pour diagnostiquer les piroplasmoses équines, dans le but d'établir leur prévalence dans la wilaya d'Alger et de ses environs.

I. Objectifs de l'étude

1.1. Objectif principal

- Déterminer le statut réel des piroplasmoses équines dans la Wilaya d'Alger et ses environs et établir la séroprévalence de la piroplasmose équine à *T.equi* dans une population de chevaux de cette région.

1.2. Objectifs secondaires

- Etablir des corrélations entre les caractéristiques épidémiologiques, physiques et sanitaires avec le risque d'infection.
- Déterminer s'il existe une relation entre la contamination et l'environnement (présence d'herbe, présence de marécages…).
- Faire ressortir les facteurs de risque et les facteurs protecteurs vis-à-vis de la piroplasmose équine.
- Etablir des concordances entre les résultats des frottis sanguins et ceux de la sérologie.
- Etablir un algorithme de lutte contre la transmission de la piroplasmose.

II. Matériel et méthodes

1. Matériel

Notre étude prospective et descriptive a porté sur un échantillon de 182 chevaux des deux sexes et de différents âges répartis dans la région d'Alger et de ses environs. Le cheval a été choisi parmi les équidés car c'est l'espèce la plus sensible.

Les chevaux proviennent principalement de petites écuries de particuliers. Ces écuries ont été choisies initialement de manière aléatoire, mais au final, nous nous sommes rendus compte qu'elles étaient relativement bien réparties et suffisamment représentatives pour la région choisie, ce dont nous n'étions pas convaincus à priori vu les quelques difficultés d'accès au début de notre travail.

Les chevaux de l'étude sont destinés à différentes activités:

- Chevaux de club et de compétition.
- Chevaux de loisir, de promenade et de randonnée.
- Chevaux d'élevage et de reproduction.

1.1. Zone d'étude et écuries retenues

La zone géographique retenue couvre trois wilayas, Alger, Blida et Boumerdes. Cependant, notre zone d'étude s'étend essentiellement dans la wilaya d'Alger avec le plus fort recrutement.

Alger et ses environs est la zone géographique retenue, cette dernière répond favorablement au développement de l'infection puisque certaines conditions favorables à sa propagation telles que la présence d'humidité, d'herbes, de marécages et de tiques y sont retrouvées.

Les prélèvements ont été faits soit au niveau de centres équestres et hippiques, soit ont concerné les chevaux de particuliers résidant dans ces wilayas.

Afin de nous faciliter l'exploitation des résultats obtenus, la zone d'étude retenue a été subdivisée en 3 parties qui ne correspondent en fait pas aux différentes wilayas.

La zone 1 correspond à la plupart des écuries de la wilaya d'Alger, la zone 2 correspond aux écuries de la wilaya de Boumerdès et des écuries voisines de la wilaya

d'Alger, la zone 3 correspond à celles de Blida incluant également certaines écuries de la wilaya d'Alger les plus proches de cette zone (figure 28).

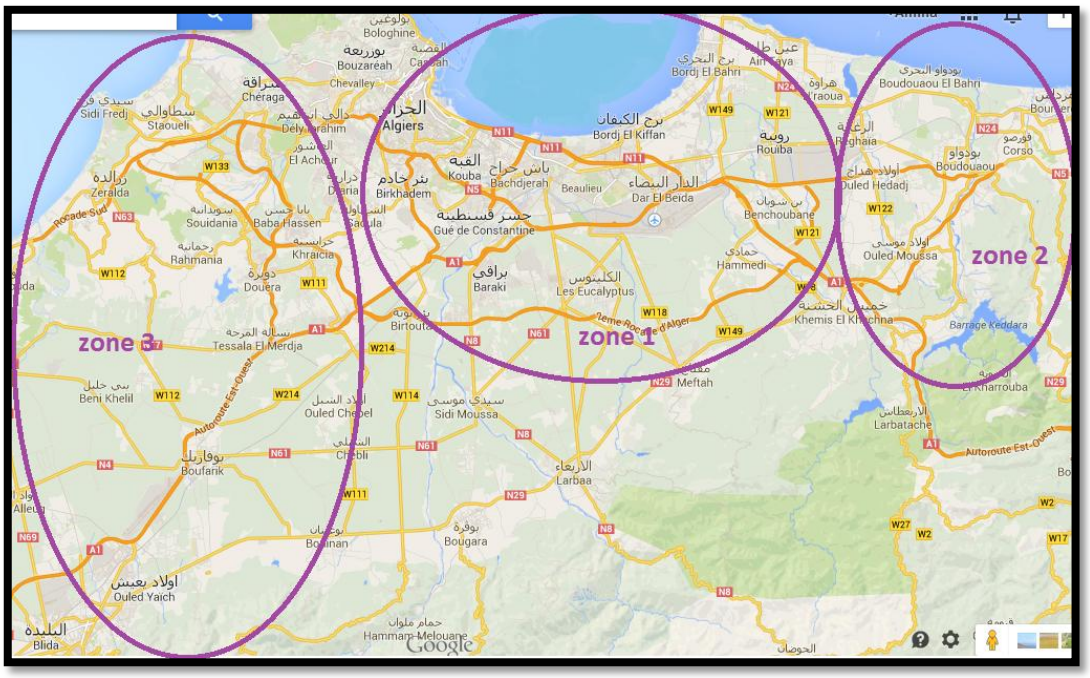


Figure 29 : Distribution des zones retenues

1.2. Critères d'inclusion

Les critères d'inclusion dans l'étude est l'ensemble des chevaux des deux sexes, symptomatiques ou asymptomatiques résidant dans la zone décrite ci-dessus.

Pour être inclus dans l'échantillon et être représentatifs, les chevaux doivent être élevés dans cette zone ou tout au moins y avoir résidé depuis au moins une année et doivent y vivre toute l'année.

Les zones marécageuses et humides étant très propices à la propagation de l'infestation, restait à définir la zone humide. Une zone humide est ainsi définie comme un secteur situé à moins de 500 mètres d'un étang, d'une mare, d'un marais ou de la mer.

1.3. Critères d'exclusion

Ont été exclus de l'étude, les très jeunes poulains âgés de moins d'une année, tous les chevaux importés dans la région d'étude depuis moins d'une année et ceux y vivant de manière intermittente.

2. Méthodes

2.1. Collecte des données et utilisation statistique

2.1.1. Réalisation des questionnaires

Un questionnaire réalisé et portant deux volets, cheval et environnement ont été renseignés au moment des prélèvements et complétés ultérieurement.

Le questionnaire cheval (annexe 1) rempli au moment de la réalisation des prises de sang concerne les données épidémiologiques individuelles du cheval lui-même. Ce questionnaire décrit la population de chevaux de notre étude et renseigne d'une part sur les caractéristiques physiques de chaque cheval, ainsi que son sexe, son âge, sa race et d'autre part sur les caractéristiques sanitaires c'est-à-dire sa vaccination et sa vermifugation, son état général, la présence de symptômes ou de maladies.

L'activité principale de chaque cheval est également précisée (Cheval de compétition, cheval de loisir et cheval de reproduction). Au moment du prélèvement, une recherche de tiques est également effectuée sur l'animal ainsi que dans son box.

Le questionnaire environnement (annexe 2) reprend les données épidémiologiques collectives sur les écuries dans lesquelles sont réalisés les prélèvements. Il porte sur l'habitat du cheval, l'état de l'écurie et sa propreté, la présence de zones herbeuses et de zones d'eau à proximité.

Ces questionnaires sont au fur et à mesure complétés au cours d'entretiens avec chaque responsable ou propriétaire d'écuries dans les jours ou les mois suivant les prélèvements.

Les responsables de certaines écuries souhaitant préserver l'accès au statut sérologique de leurs chevaux nous ont fait signer un document assurant l'anonymat strict ainsi que la confidentialité des résultats obtenus. Pour cela, un numéro d'anonymat est attribué à chaque cheval. Ce seul et même numéro est ensuite apposé sur les fiches questionnaires ainsi que sur les tubes de prélèvements et les lames de frottis sanguins au moment de la réalisation des prises de sang pour le même cheval.

La date du prélèvement est également mentionnée afin de pouvoir effectuer l'analyse des résultats selon la saison.

Notre étude s'est étendue du début du moi de Juillet 2013 au mois d'Avril 2014.

Les données collectées par ces questionnaires ont été retranscrites dans un document Microsoft Excel afin de pouvoir les analyser.

2.1.2. Analyse des données

L'analyse des données porte sur les différents paramètres collectés grâce aux questionnaires ; les différentes données sont parfois regroupées afin d'en faciliter l'analyse.

Les âges des chevaux ont été regroupés en classes, chevaux de 1 à 4 ans, de 5 à 9 ans, de 10 à 14 ans, de 15 à 19 ans et de 20 ans et plus. L'analyse porte également sur d'autres variables, à savoir : les robes et races des chevaux, leur activité principale, la saison de prélèvement ainsi que la présence ou non de zones herbeuses ou de points d'eau à proximité.

L'analyse statistique se fera à partir de ces données et de ces différents groupes. Les résultats seront présentés plus loin.

2.2. Prélèvements de sang et réalisation des frottis

Notre étude s'est surtout basée sur la recherche des anticorps anti *T.equi* dans le sérum des chevaux. Un autre volet s'est porté sur la recherche du ou des parasite (s) intra-érythrocytaires à l'aide d'un microscope sur des frottis sanguins colorés.

Après remplissage des questionnaires et contention du cheval, les prélèvements peuvent être faits. La contention se fait généralement à l'aide d'un licol ; pour certains chevaux agressifs, d'autres moyens de contention comme le tord-nez seront utilisés.

2.2.1. Prélèvements sanguins

Les prélèvements ont été faits en utilisant un matériel stérile, à usage unique. Le matériel utilisé peut être décrit comme suit (photos 1 et 2) :

- Compresses stériles.
- Alcool à 90°.

- Un système de prélèvement type Vacutainer comprenant : une aiguille, un adaptateur ou support, un tube sec conditionné sous vide
- Un porte-tubes.
- Une glacière avec des pains de glace.

Photo 2 : matériel de prélèvement

Photo 1 : glacière avec pains de glace

La zone de prélèvement est désinfectée à l'aide d'une compresse stérile et d'alcool puis une compression est faite avec le pouce vers le bas de la gouttière jugulaire afin de rendre la veine jugulaire turgescente (photo 3).

Après avoir placé une aiguille stérile au niveau de l'adaptateur, cette dernière est introduite dans la veine jugulaire à 45° puis parallèlement à la veine. A ce moment, le tube sous vide est introduit dans le deuxième coté de l'aiguille, à l'intérieur de l'adaptateur ; puis par action mécanique, le sang est aspiré à l'intérieur du tube (photo 4).

Une fois que le tube est rempli, l'ensemble est retiré et une compression est réalisée à l'endroit du prélèvement à l'aide d'une compresse stérile jusqu'à ce que la coagulation se fasse.

Chaque tube porte un numéro, ce dernier correspond au numéro inscrit sur la fiche signalétique du cheval.

Une fois que les prélèvements ont été faits ; les tubes, placés dans un porte-tubes, sont mis à décanter à l'intérieur de la glacière (photo 5) puis sont acheminés vers le laboratoire

d'hématologie du service de Médecine Interne de l'hôpital de Rouiba en vue de leur traitement.

Photo 3 : désinfection, compression de la veine et introduction de l'aiguille

Photo 4 : insertion du tube sous vide dans l'aiguille et aspiration du sang

Photo 5 : les tubes mis dans la glacière pour leur transport

2.2.2. Réalisation des frottis

Après le prélèvement de sang au niveau central, un frottis sanguin est réalisé à partir de sang périphérique. Le matériel utilisé à cette fin est constitué de (photo 6):

- Une aiguille.
- Une lame porte-objet.
- Une lamelle.
- Une compresse stérile et de l'alcool.

Photo 6 : Matériel de confection des frottis

Le prélèvement doit être fait au niveau des capillaires périphériques comme le bout du nez, il se fera à l'aide d'une aiguille par piqure unique.

Les hématies parasitées sont moins souples que les autres hématies, elles vont donc parfois rester coincées dans les capillaires sanguins. C'est pour cette raison que le prélèvement est fait au niveau périphérique (Visee, 2007).

Après avoir piqué le bout du nez, une goutte de sang se forme au niveau du point de piqure, elle va être récoltée à l'aide de la lame porte-objet et sera mise sur un coté de cette dernière (photo 7 et 8).

Photo 7 : Récupération de la goutte de sang

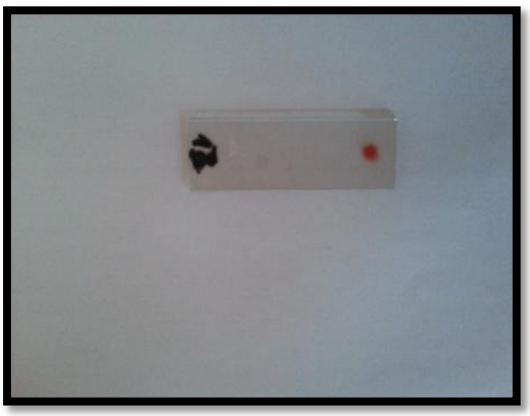


Photo 8 : Goutte de sang sur lame

La goutte doit être immédiatement étalée à l'aide d'une lamelle, et ce, en posant cette dernière sur la goutte avec un angle de 45 ° (photo 9a). La goutte de sang va alors se répartir tout au long de la lamelle (photo 9b) qui sera glissée d'une façon régulière vers l'avant de la lame afin de répartir la goutte sur tout son long (photos 9c, 9d, 9e).

Le frottis est ensuite séché à l'air par agitation puis sera numéroté. Ce numéro correspond à celui inscrit sur la fiche du cheval (photo 9f).

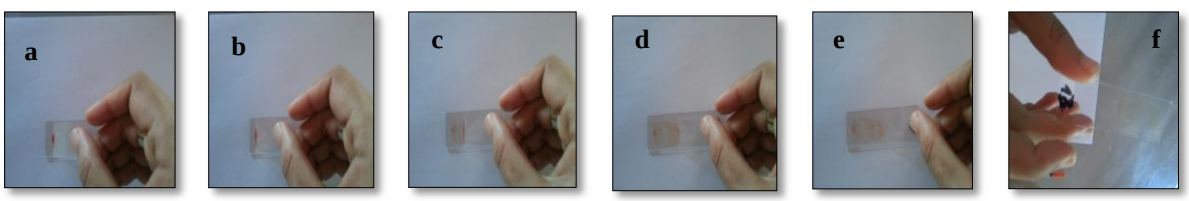


Photo 9: (a) pose de la lamelle sur la goutte, (b) répartition de la goutte le long de la lamelle, (c, d, e) réalisation du frottis, (f) séchage du frottis par agitation

2.2.3. Récupération des sérums

La récupération des sérums se fait après transport de ces derniers au laboratoire. Le matériel utilisé à cette fin est constitué d'une centrifugeuse, d'une micropipette munie d'embouts et d'eppendorfs disposés sur un porte-eppendorfs (photos 10 et 11).

Photo 11 : centrifugeuse

Photo 10 : matériel de récupération des sérums

Une fois arrivés au laboratoire, les tubes sont centrifugés à une vitesse de 3000 tours par minute pendant 15 minutes (photo 12). Cette étape permet la séparation du sérum des autres constituants sanguins. Après la fin du cycle, un culot est obtenu vers le bas du tube et le sérum qui est le surnagent (photo 13).

Photo 13 : Placement des tubes dans la centrifugeuse

Photo 12 : Séparation des composants

Les sérums sont récupérés à l'aide d'une micropipette munie d'embouts et sont déposés dans les eppendorfs. L'embout doit être changé quand on passe d'un échantillon à un autre (photo 14 a, b et c).

Photo 14 : Dépôt des sérums dans les eppendorfs

Les eppendorfs sont numérotés, le numéro de chaque eppendorf correspondant au numéro du cheval. Ils sont fermés, puis entreposés dans un congélateur à une température de -18°C en vue de leur conservation (photo 15).

Photo 15: Congélation des sérums

2.2.4. Coloration des lames

La coloration des lames est une coloration de type Giemsa. Nous avons utilisé pour cela un appareil de coloration automatique appelé HematekSlide Stainer.

- **Principe**

L'HematekSlide Stainer est un instrument de paillasse automatisé conçu pour une utilisation en hématologie, c'est un système autonome qui sert à la fixation des frottis sanguins et à leur coloration.

Les étalements de sang sur lame sont colorés pour l'identification microscopique du nombre de globules blancs, l'étude de la morphologie des globules rouges ou encore pour l'estimation du nombre de plaquettes.

- **Procédure**

- Mettre l'appareil en marche (photo 16 a).
- Essuyer le plateau avec un chiffon doux.
- Déposer les lames dans les compartiments appropriés l'une après l'autre en prenant soin de mettre la face du frottis vers la gauche de l'appareil (photo 16 b).
- Les lames sont déplacées de droite à gauche, d'abord en position verticale puis horizontalement avec la face du frottis vers le bas.
- Lorsque la lame est en contact avec le premier interrupteur de détection (photo 16 c), la pompe est activée, et le colorant s'écoule à partir de l'orifice de sortie remplissant ainsi l'espace capillaire existant entre le plateau et la lame (photo 16 d).
- La lame continue son déplacement jusqu'au deuxième interrupteur de détection, la pompe est encore une fois activée et une solution tampon s'écoule à travers le second orifice.
- Arrivée au niveau du troisième interrupteur, la lame active la pompe, et un liquide de rinçage s'écoule à travers un orifice de sortie.
- La lame est ensuite séchée et tombe dans un tiroir où elle pourra être récupérée pour lecture (photo 16 e).

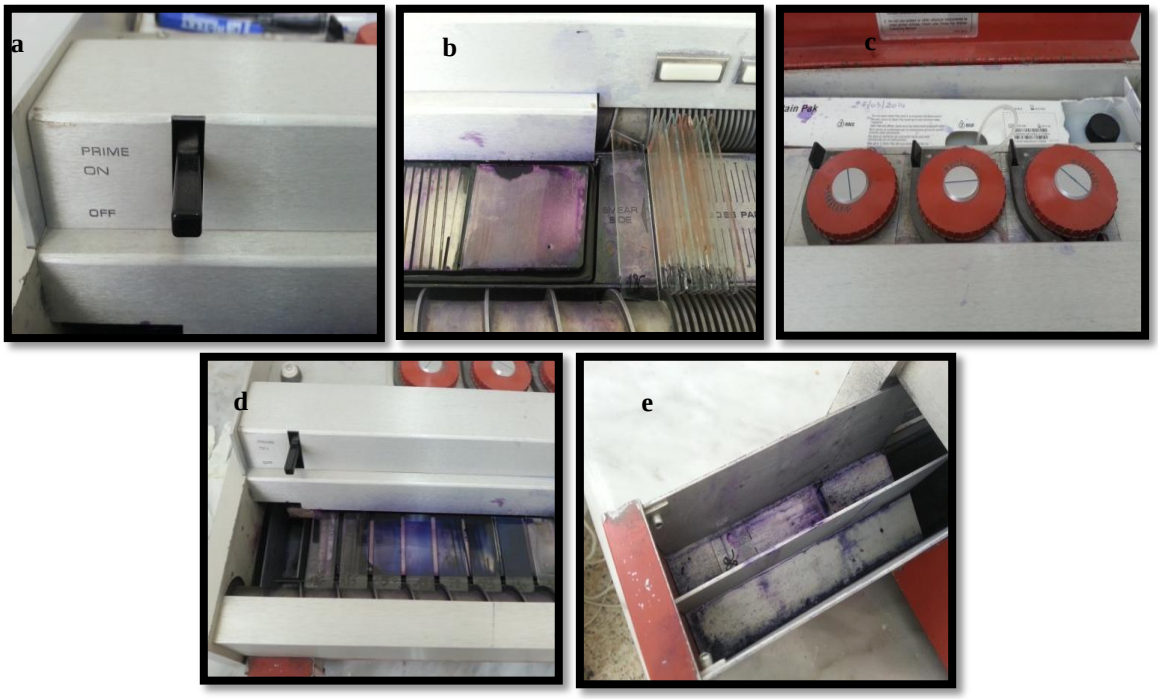


Photo 16 (a,b,c,d,e): Coloration des lames

2.3. Méthodes d'analyse

2.3.1. Examen direct

Cet examen permet d'identifier le parasite, il repose sur l'observation des frottis sanguins, préalablement colorés, au microscope optique (photo 17).

Les frottis sont observés de façon minutieuse afin de rechercher des hématies parasitées par de probables piroplasmes. Pour cela, la lame est parcourue dans sa totalité, et des photos sont prises en cas de suspicion de positivité.

Un frottis est dit positif si, pendant sa lecture, des parasites intra-érythrocytaires sont retrouvés.

Photo 17: Microscope optique

2.3.2. Examen immunologique

L'examen immunologique choisi dans notre étude est un test ELISA compétitif qui va mettre en jeu des AcM primaires, ces derniers vont entrer en compétition avec les anticorps présents dans le sérum pour la liaison avec les antigènes. Le principe général de ce test est la mise en évidence de la liaison AcM-antigène grâce à des anticorps secondaires couplés à une enzyme. Cette enzyme est par la suite révélée par l'ajout d'un substrat révélateur qui va se colorer en sa présence ; l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'enzyme présente dans le puits. Quand la coloration est intense, cela signe une faible présence d'anticorps dans le sérum.

- **Description du test**

Le kit de diagnostic utilisé est un test cELISA, il permet la détection des anticorps dirigés contre *Babesia (Theileria) equi* dans le sérum équin. Les anticorps se trouvant éventuellement dans le sérum du cheval vont inhiber la liaison entre les AcM primaires et les antigènes fixés sur la microplaque.

La détection de cette liaison se fait grâce aux anticorps secondaires marqués à la péroxydase (HRP). La présence de ces anticorps marqués est quantifiée par addition du substrat révélateur et le développement d'une réaction colorée.

Une forte réaction colorée indique peu ou pas d'inhibition de la fixation des AcM primaires, et par conséquent, l'absence des anticorps anti *T.equi* dans le sérum.

Une faible coloration due à l'inhibition de la fixation des AcM primaires aux antigènes indique la présence des anticorps anti *T.equi* dans le sérum.

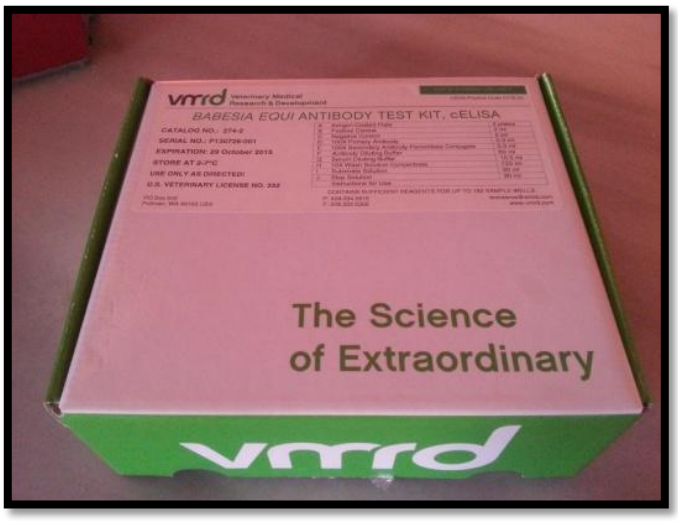


Photo 18: kit cELISA pour la recherche de *Babesia equi*

- **Composants du kit**

Le kit se compose de (photo 19) :

- Deux plaques dont les puits sont recouverts d'antigènes.
- Un flacon de contrôle positif : 2ml.
- Un flacon de contrôle négatif : 2ml.
- Des anticorps monoclonaux primaires (AcM) : 0.3 ml.
- Des anticorps secondaires couplés à la péroxydase (HRP) : 0.3 ml.
- Solution de dilution des anticorps : 60 ml.
- Solution de dilution du sérum : 10.5 ml.
- Solution de rinçage : 120 ml.
- Solution de substrat : 30 ml.
- Solution stop : 30 ml.

Photo 19 : Composants kit cELISA

- **Stockage du kit**

Tous les réactifs du kit doivent être stockés à une température comprise entre 2 et 7°C et ne doivent surtout pas être congelés.

Les réactifs non ouverts restent stables jusqu'à la date d'expiration du kit. Passée cette date, le kit ne doit plus être utilisé.

- **Matériel utilisé au laboratoire**

- Micropipette monocanal et multicanaux munies d'un ajusteur de volumes.
- Embouts jetables en plastique pour micropipettes.
- Plaques non revêtues d'antigènes.
- Spectrophotomètre à absorbance avec un filtre à 620, 630 ou 650 nm.
- Eau déminéralisée ou distillée.
- Papier essuie-tout.
- Récipient cylindrique gradué.
- Un minuteur.
- Un flacon de lavage.
- Réservoirs pour pipette multicanaux (bateaux).
- Un dispositif multicanaux pour le lavage manuel ou un laveur automatique.

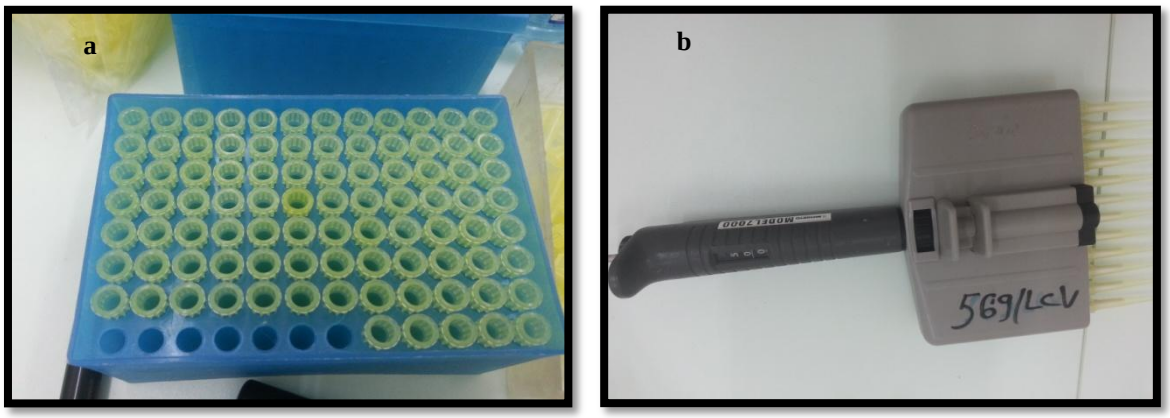


Photo 20 : (a) embouts pour micropipette, (b) pipette multicanaux

- **Préparation des réactifs**

Il faut, en premier lieu, amener les sérums, les réactifs et les microplaques à température ambiante (23 ±2°C) avant de commencer le test (photo 21).

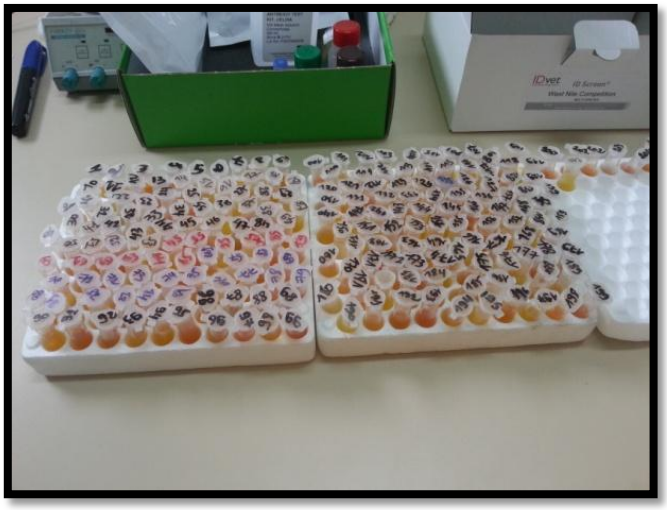


Photo 21 : Réactifs et sérums à T° ambiante

Il faut également préparer les microplaques en les retirant du sachet et en numérotant le haut de chaque bande afin de maintenir une bonne orientation (photo 22).

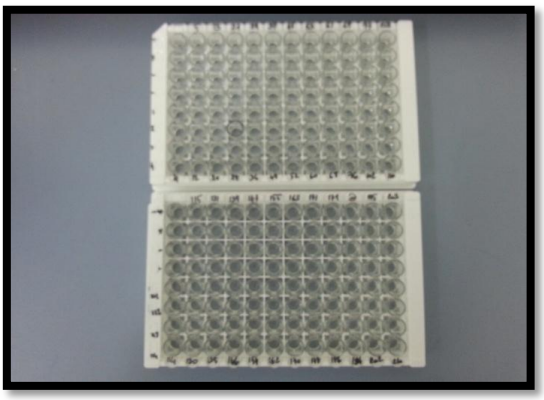


Photo 22 : Numéroter les microplaques

Diluer les anticorps primaires avec la solution de dilution des anticorps puis diluer les anticorps secondaires doublés à la péroxydase avec la même solution.

Préparer la solution de rinçage en diluant un volume de cette solution avec 9 volumes d'eau distillée ou déminéralisée (photos 23 et 24).

Photo 24 : solution de lavage

Photo 23 : eau distillée

Préparer les contrôles et les échantillons : les contrôles positif et négatif et les échantillons de sérums à tester doivent être dilués à moitié (1/2) avec la solution de dilution du sérum. Ces dilutions se font sur une microplaque non liée à un antigène (photo 25).

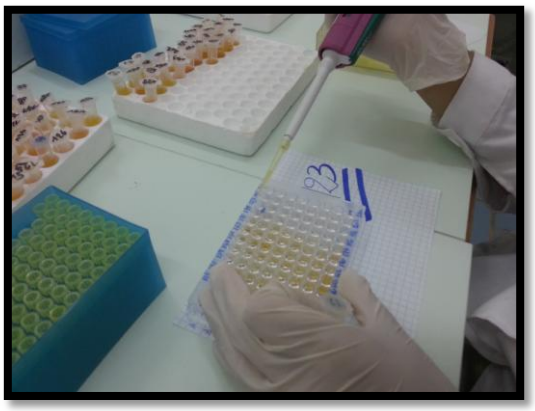


Photo 25 : Dilution des sérums

➢ **Déroulement du test**

- Déposer les contrôles et les échantillons de sérums en utilisant une micropipette indiquant 50 µl. Les contrôles et les échantillons préalablement dilués sont déposés sur la microplaque (photo 26). Incuber pendant 30 minutes.

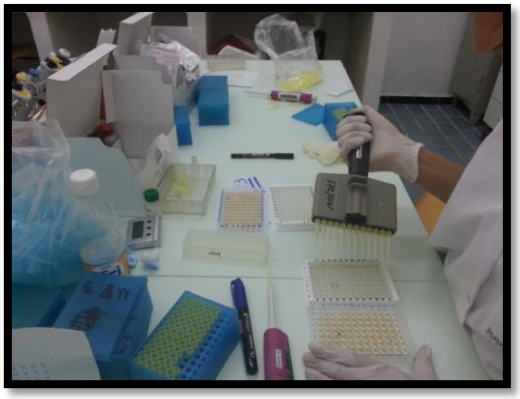


Photo 26 : Transfert des sérums dans la plaque sensibilisée

- Le lavage : après les 30 minutes d'incubation, la plaque doit être lavée 3 fois. Déverser les contenus des puits (photo 27a) et enlever les dernières gouttelettes en frappant fortement la plaque renversée 4 fois sur une serviette en papier propre. Remplir ensuite chaque puits avec la solution de lavage en utilisant une pipette multicanaux (photo 27b et 27c). Vider les puits et frapper la plaque sur un papier propre comme décrit précédemment. Remplir puis vider les puits de la même façon encore 2 fois de suite afin d'obtenir 3 lavages successifs.

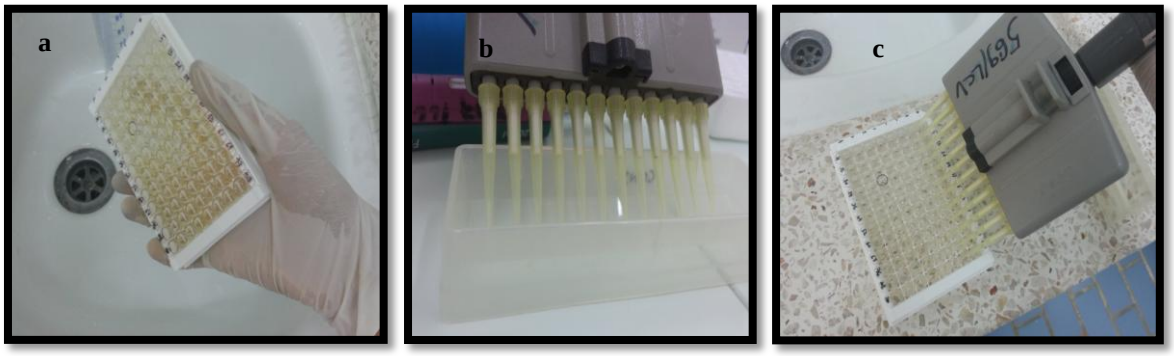


Photo 27: (a) vider la plaque; (b); (c) laver la plaque avec la solution de lavage

- Ajouter les AcM primaires (photo 28) : mettre 50 µl d'anticorps primaires dilués dans chaque puits. Incuber la plaque pendant 30 minutes à température ambiante (23 ±2°C).

Photo 28 : Distribuer les anticorps primaires

- Lavage de la plaque : une fois les 30 minutes passées, laver la plaque comme décrit précédemment.
- Ajouter les anticorps secondaires couplés à la HRP : déposer 50 µl de ces anticorps dilués dans chaque puits. Incuber la plaque pendant 30 minutes à température ambiante (23 ±2°C).
- Lavage de la plaque : une fois les 30 minutes passées, laver la plaque comme décrit précédemment.
- Ajouter la solution du substrat : 50 µl de la solution sont déposés dans chaque puits (photos 29a et 29b). Incuber la plaque pendant 15 minutes à température ambiante (23 ±2°C). La plaque ne doit pas être laissée directement sous la lumière et les puits ne doivent être vidés après la période d'incubation.

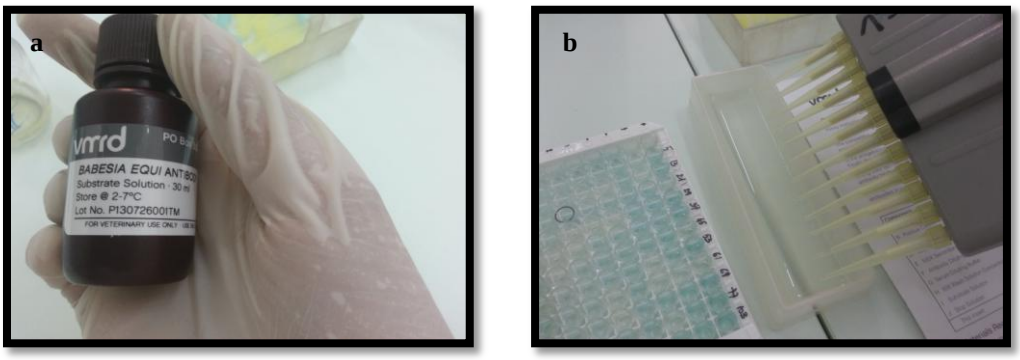


Photo 29 : (a) solution de substrat; (b) distribution du substrat

- Ajouter la solution stop : 50 µl de la solution stop sont déposés dans chaque puits (photos 30a et 30b). Tapoter les cotés de la plaque afin de mélanger le substrat avec la solution stop. Ne pas vider les puits.

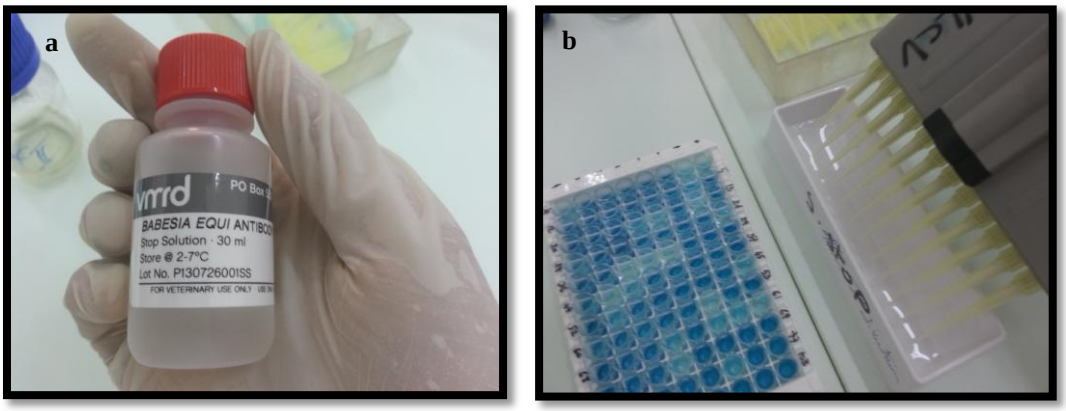


Photo 30 : (a) solution stop; (b) distribution de la solution stop

- **Lecture des résultats**

Immédiatement après l'addition de la solution stop, la plaque est lue dans un spectrophotomètre (photo 31) après avoir défini la lecture de la densité optique (D.O) à des longueurs d'ondes de 620, 630 ou 650 nm.

Remettre les solutions à une température de 2-7°C.

Photo 31 : lecture au spectrophotomètre

- **Validation du test**

- La moyenne de la D.O des contrôles négatifs doit être >0.300 et <2.000.
- La moyenne de la D.O des contrôles positifs doivent avoir une inhibition ≥ 40 %.

- **Résultats**

Calcul du pourcentage d'inhibition

% I = 100 [1-(D.O de l'échantillon ÷ D.O des contrôles négatifs)]

Si l'échantillon produit un pourcentage d'inhibition ≥ 40 %, l'échantillon est positif. S'il produit, par contre, un pourcentage < 40 %, l'échantillon est négatif (annexe 3).

III. Méthodes statistiques

L'analyse statistique consiste en une analyse univariée complétée par une analyse bivariée. Le degré de signification des résultats est retenu pour un seuil de p<0.05.

Un questionnaire est rempli pour chaque cheval puis est saisi sur une base de données du logiciel Excel.

Les différentes variables ainsi recueillies d'après le questionnaire font l'objet d'une étude statistique descriptive et analytique grâce au logiciel XLSTAT version 2014.

1. Analyse univariée

Cette analyse permet de faire une analyse descriptive de l'échantillon. Elle consiste à comparer les effectifs des différentes modalités de chaque variable afin de voir s'il existe une différence significative. Un test Khi 2 est utilisé à cette fin.

2. Analyse bivariée

Cette analyse est utilisée pour la comparaison entre deux variables qualitatives. Nous avons effectué :

- Une analyse des composantes multiples (ACM).
- Un test du khi 2 pour voir l'impact que peut avoir chaque variable sur les résultats.

Cette analyse est suivie du calcul des odds ratio (OR) ajustés avec un intervalle de confiance à 95% pour toutes les variables dont l'analyse bivariée a révélé une différence statistiquement significative ($p<0.05$).

IV. Résultats

L'étude de la prévalence de la piroplasmose équine et plus précisément de celle à *T.equi* a porté sur une série de 182 chevaux adultes des deux sexes provenant de 20 écuries différentes privées et étatiques. L'ensemble des 182 chevaux ont été prélevés.

Les différents échantillons prélevés sont pleinement représentatifs de l'effectif total existant dans chaque écurie: proche de 100% dans les écuries de particuliers, de 35 à presque 50% de l'effectif total dans les écuries étatiques.

Nous avons relevé différentes caractéristiques (variables) pour l'ensemble des chevaux composant notre échantillon, notamment les caractéristiques concernant l'habitat du cheval et son environnement ainsi que les caractéristiques physiques et sanitaires du cheval.

Différents tests statistiques ont été réalisés pour les besoins de l'étude. Le logiciel XLSTAT a été utilisé pour l'étude descriptive et l'analyse des composantes multiples (ACM).

Le test du khi2 a servi à vérifier si les différences observées entres les résultats positifs et négatifs d'une variable étaient significatives ou non. Une différence significative est définie par une valeur de p inférieure à 0.05, témoin d'une association potentielle entre les deux paramètres. Le calcul de l'Odds Ratio est alors utilisé en cas de significativité.

L'étude des corrélations entre les résultats des frottis et ceux de la sérologie est faite par l'utilisation d'un test de khi 2 d'indépendance.

1. Analyse descriptive de la population étudiée et de son environnement

Une analyse descriptive de l'échantillon retenu est nécessaire comme préambule à l'interprétation des résultats sérologiques et ceux des frottis sanguins obtenus.

Chacune des variables est représentée par plusieurs modalités comme illustré dans le tableau brut suivant :

Tableau 1 : Tableau brut de l'échantillon global

N°	Race	Sexe	Age	Robe	Activité principale	...	…	verdure
1	A.Q.P.S	mâle	>=20	bai	cheval de loisir	…	…	oui
2	A.Q.P.S	mâle	[10-14]	bai	cheval de loisir	...	…	oui
3	barbe	mâle	[15-19]	alezan	cheval de loisir	...	…	oui
4	barbe	mâle	[15-19]	bai	cheval de loisir	...	…	oui
5	barbe	mâle	[15-19]	alezan	cheval de loisir	...	…	oui
6	barbe	mâle	[5-9]	gris	cheval de loisir	...	…	oui
7	A.Q.P.S	mâle	>=20	gris	cheval de loisir	...	…	oui
8	A.Q.P.S	femelle	[5-9]	alezan	cheval de loisir	...	…	non
9	A.Q.P.S	mâle	[5-9]	gris	cheval de loisir	...	…	non
10	A.Q.P.S	femelle	[1-4]	bai	reproduction	...	…	non
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
182	A.Q.P.S	femelle	[5-9]	bai	reproduction	mauvais	non	oui

Nous constatons à travers ce jeu de données que les variables sont qualitatives telles que le sexe, la robe, la race et l'activité principale…

Une analyse des composantes multiples (ACM) nous a permis de déterminer les effectifs et les pourcentages des différentes modalités de chaque variable. Nous avons choisi d'étudier les caractéristiques physiques et sanitaires du cheval ainsi que les caractéristiques de l'écurie et de l'environnement par rapport à l'activité principale du cheval (variable supplémentaire).

1.1. Etude des caractéristiques de l'échantillon

Notre échantillon comporte 182 chevaux des 02 sexes et d'âges variables oscillant entre 1 et 24 ans avec une moyenne de 10.4 ans, provenant de centres hippiques et équestres ou d'écuries de particuliers qui sont répartis sur les 3 zones retenues. Nous avons limité le recrutement par rapport au fait que le nombre de tests contenus dans la trousse cELISA est limité à 192 dosages incluant le dosage des témoins positifs (deux pour chaque plaque) et négatifs (trois pour chaque plaque).

L'analyse des différents paramètres initialement fixés pour l'étude descriptive et analytique (date d'acquisition du cheval, sa provenance, personnel existant) n'a pu être totalement honorée pour plusieurs raisons : difficultés d'accès à certains centres ou écuries, visites incomplètes des locaux, non coopération du personnel mis à notre contact qui très souvent ne possède pas toutes les informations recherchées, rétention d'information pour certains.

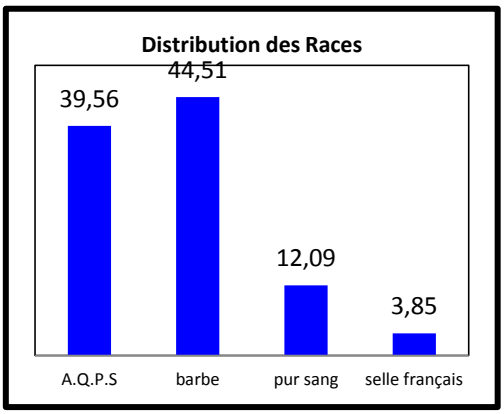
Malgré les difficultés rencontrées dans la réalisation de ce travail, un maximum de données principales utiles pour l'étude et l'analyse de cette cohorte de chevaux a été recueilli et exploité. L'étude et l'analyse des différents paramètres sont faites par rapport à une caractéristique fixe (variable supplémentaire) qui a été définie comme étant l'activité principale du cheval. Cet ACM nous a permis de regrouper les différentes données dans les tableaux présentés plus bas.

1.1.1. Etude des caractéristiques physiques des chevaux

Notre cohorte de chevaux comporte principalement 4 races différentes :

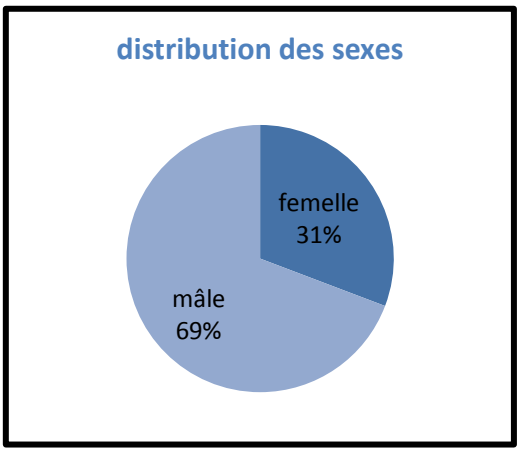
- Le pur sang.
- L'AQPS.
- Le Barbe.
- Le selle français.

Notre échantillon est principalement constitué de chevaux de race Barbe (44.5%) ou AQPS (39.6%) p=0.33 (graphe 1).



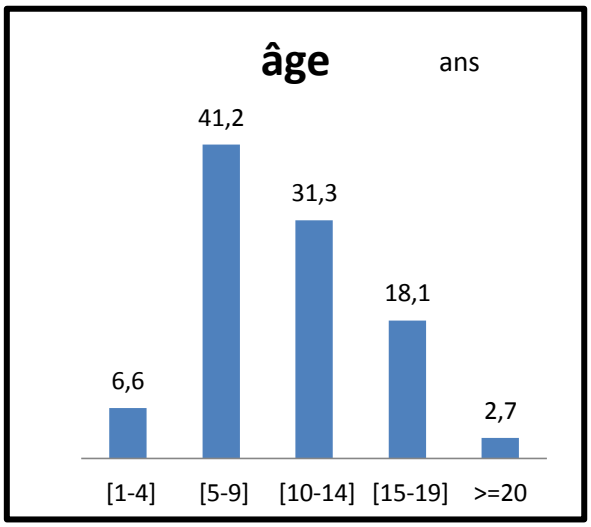
Graphe 1 : Répartition des différentes races

Les deux sexes sont représentés avec une population principalement masculine (69.2%) $p<0.001$, et un sexe ratio de 2.25 (graphe 2).



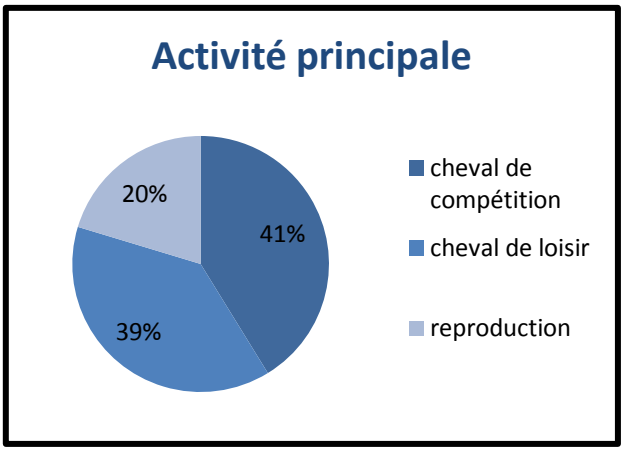
Graphe 2 : Répartition en fonction du sexe

Les âges ont été regroupés en 5 classes afin de faciliter l'exploitation des résultats. Presque les trois quarts (72.5%) des chevaux de notre échantillon sont âgés entre 5 et 14 ans (graphe 3).



Graphe 3 : Répartition en fonction des tranches d'âge

79.6% des chevaux de l'effectif total sont indifféremment utilisés pour la compétition (41.2 %) ou le loisir (38.4 %) p=0.67. 20.3% de l'ensemble des chevaux sont destinés à l'élevage ou la reproduction (graphe 4) (tableau 2).



Graphe 4 : Répartition des différentes activités

Tableau 2 : Caractéristiques physiques en fonction de l'activité principale

	caractéristiques	compétition		loisir		reproduction		toutes activités	
	physiques	n	%*	n	%*	n	%*	n	%*
race	pur sang	10	13,3	8	11,4	4	10,8	22	12,1
	A.Q.P.S	5	6,7	42	60,0	25	67,6	72	39,6
	barbe	60	80,0	15	21,4	6	16,2	81	44,5
	selle français	0	0,0	5	7,1	2	5,4	7	3,8
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
sexe	mâles	73	97,3	48	68,6	5	13,5	126	69,2
	femelles	2	2,7	22	31,4	32	86,5	56	30,8
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
âge	[1-4]	0	0,0	8	11,4	4	10,8	12	6,6
	[5-9]	24	32,0	28	40,0	23	62,2	75	41,2
	[10-14]	30	40,0	22	31,4	5	13,5	57	31,3
	[15-19]	18	24,0	10	14,3	5	13,5	33	18,1
	>=20	3	4,0	2	2,9	0	0,0	5	2,7
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
robe	gris	40	53,3	18	25,7	16	43,2	74	40,7
	alezan	11	14,7	24	34,3	1	2,7	36	19,8
	bai	22	29,3	26	37,1	20	54,1	68	37,4
	autre	2	2,7	2	2,9	0	0,0	4	2,2
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0

* pourcentage par rapport au total de chaque caractéristique

1.1.2. Etude des caractéristiques sanitaires des chevaux

Le jour de notre consultation, 13 des 56 femelles de notre effectif total (6.6%) étaient gestantes.

Les deux tiers de notre effectif total sont vaccinés (63.7%). Cette notion de vaccination est retrouvée quelque soit l'activité principale du cheval. Elle est effectuée dans tous les cas chez le cheval de compétition, dans un cas sur 2 (45.7) chez le cheval utilisé pour le loisir et uniquement chez un quart (24.3) des chevaux de notre série utilisés pour la reproduction. Cette vaccination est antirabique et antitétanique.

La vermifugation a concerné la moitié de notre effectif total (54.4%), elle est constante chez le cheval de compétition (100%), pratiquement inexistante chez le cheval destiné à la reproduction (8.1%) et effectuée que dans un tiers des cas (30%) chez le cheval de loisir.

La lutte contre les tiques est pratiquée chez l'ensemble des chevaux utilisés pour la compétition (100%), dans un tiers des cas chez le cheval de loisir (38.6%) et est inexistante chez la troisième catégorie (tableau 3).

Tableau 3 : Caractéristiques sanitaires en fonction de l'activité principale

Caractéristiques sanitaires		compétition		loisir		reproduction		toutes activités	
		n	%*	n	%*	n	%*	n	%*
état général	bon	73	97,3	61	87,1	26	70,3	160	87,9
	mauvais	2	2,7	9	12,9	11	29,7	22	12,1
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
symptômes	oui	0	0,0	3	4,3	1	2,7	4	2,2
	non	75	100,0	67	95,7	36	97,3	178	97,8
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
gestante	oui	0	0,0	0	0,0	12	32,4	12	6,6
	non	75	100,0	70	100,0	25	67,6	170	93,4
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
pathologie associée	oui	2	2,7	7	10,0	1	2,7	10	5,5
	non	73	97,3	63	90,0	36	97,3	172	94,5
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
vaccination	oui	75	100,0	32	45,7	9	24,3	116	63,7
	non	0	0,0	38	54,3	28	75,7	66	36,3
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
vermifugation	oui	75	100,0	21	30,0	3	8,1	99	54,4
	non	0	0,0	49	70,0	34	91,9	83	45,6
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
lutte contre les tiques	oui	75	100,0	27	38,6	0	0,0	102	56,0
	non	0	0,0	43	61,4	37	100,0	80	44,0
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0

* pourcentage par rapport au total de chaque caractéristique

1.1.3. Etude des caractéristiques de l'écurie

Presque la moitié de l'effectif total réside en zone 1 (49.5%), soit dans la région d'Alger ; le reste de l'effectif se partage de manière équitable entre les zones 2 (29.1%) et 3 (21.4%) p=0.09.

Les chevaux de compétition résident principalement en zone 1 (84%) et ceux de reproduction presque exclusivement en zone 2 (94.6%), par contre les chevaux de loisir sont retrouvés dans les 3 zones. Presque 2/3 de l'effectif global (63.2%) est géré par des particuliers.

Contrairement aux chevaux de compétition qui se trouvent dans des écuries gérées par l'état, tous les chevaux utilisés pour la reproduction sont gérés par des propriétaires privés.

La gestion des chevaux de loisir est faite à parts égales par le public (57.1%) et le privé (42.9%) p=0.23.

L'hygiène des écuries visitées reste moyenne pour le tiers de notre effectif (36.8%) ; elle est bonne pour l'ensemble des chevaux de compétition (100%) et moyenne pour presque la totalité des chevaux de reproduction (91.9%). L'état de propreté des écuries abritant les chevaux destinés au loisir est intermédiaire, propre pour certains (52.9%) moyenne pour d'autres (47.1%).

Les chevaux de compétition habitent de jour comme de nuit dans leur box (84% et 75% respectivement) p=0.3, de même pour les chevaux utilisés pour le loisir (60% et 75.7% respectivement) p=0.25. Cependant pour les derniers, le quart d'entre eux (28.6%) passent leur journée dans le pré. Les chevaux de reproduction ne séjournent pratiquent jamais dans le box aussi bien le jour (0%) que la nuit (5.4%). Leur habitation est exclusivement à l'extérieur du box, le jour dans le pré (56.8%) ou sous un abri (43.2%), la nuit sous un abri (94.6%).

La plupart des chevaux de notre étude (89%) se déplacent dans la zone géographique dans laquelle ils se trouvent ; les différentes catégories d'activité sont concernées mais le cheval destiné à la reproduction se déplace moins (64.9%) par rapport aux deux autres (100% pour les chevaux de compétition et 90% pour les chevaux de loisir) p<0.0001.

Seul le tiers de l'effectif total (39.6%) se déplace hors de la zone géographique d'implantation ; le déplacement hors zone ne concerne principalement que les chevaux de compétition (69.3%).

Un personnel soignant sur place est disponible pour plus des 2/3 des chevaux (68.1%) ; il est constant pour les chevaux de compétition (100%) et totalement absent pour les chevaux destinés à la reproduction (0%) (tableau 4).

Tableau 4 : Caractéristiques de l'écurie en fonction de l'activité principale

caractéristiques		compétition		loisir		reproduction		toutes activités	
		n	%*	N	%*	n	%*	n	%*
localisation	zone 1	63	84,0	27	38,6	0	0,0	90	49,5
	zone 2	0	0,0	18	25,7	35	94,6	53	29,1
	zone 3	12	16,0	25	35,7	2	5,4	39	21,4
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
gestion	particulier	0	0,0	30	42,9	37	100,0	67	36,8
	collectif	75	100,0	40	57,1	0	0,0	115	63,2
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
habitation jour	box	63	84,0	42	60,0	0	0,0	105	57,7
	pré	12	16,0	20	28,6	21	56,8	53	29,1
	abri	0	0,0	8	11,4	16	43,2	24	13,2
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
habitation nuit	box	75	100,0	53	75,7	2	5,4	130	71,4
	pré	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	abri	0	0,0	17	24,3	35	94,6	52	28,6
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
déplacement dans la zone	oui	75	100,0	63	90,0	24	64,9	162	89,0
	non	0	0,0	7	10,0	13	35,1	20	11,0
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
déplacement hors zone	oui	52	69.3	13	18.6	7	18,9	72	39,6
	non	23	30.6	57	81.4	30	81,1	110	60,4
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
propreté	bonne	75	100,0	37	52,9	3	8,1	115	63,2
	moyenne	0	0,0	33	47,1	34	91,9	67	36,8
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
personnel soignant	sur place	75	100,0	49	70,0	0	0,0	124	68,1
	à la demande	0	0,0	21	30,0	37	100,0	58	31,9
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0

* pourcentage par rapport au total de chaque caractéristique

1.1.4. Etude des caractéristiques environnementales

Les chevaux ont été prélevés à différentes saisons. Bien que la période d'activité des tiques soit plus grande durant le printemps et l'automne, nos chevaux ont été prélevés pour la plupart soit en automne (53.3%) ou en été (31.9%), mais le plus souvent en automne qu'en été p=0.001.

Les 2/3 des chevaux de compétition (66.7%) ont été prélevés en automne. Presque l'ensemble des chevaux de reproduction ont été prélevés durant la période d'activité des tiques plus souvent en automne (51.4%) qu'au printemps (40.5%) p=0.49. Les prélèvements sont faits et ce dans les mêmes proportions (automne 40%, été 42.9%) pour les chevaux de loisir p=0.79.

Des chevaux sont présents dans le voisinage immédiat des chevaux utilisés pour le loisir (70%) et la reproduction (78.4%). De la verdure est également présente au contact des chevaux de chaque catégorie d'activité.

Enfin presque l'ensemble des chevaux de compétition (84%) et de loisir (91.4%) vivent dans des zones humides et seule la moitié des chevaux de reproduction (59.5%) vivent en zone humide (tableau 5).

Tableau 5 : Caractéristiques de l'environnement en fonction de l'activité principale

Caractéristiques de l'environnement		chevaux de compétition		chevaux de loisir		chevaux de reproduction		toutes activités confondues	
		n	%*	n	%*	n	%*	n	%*
saison	printemps	0	0,0	12	17,1	15	40,5	27	14,8
	automne	50	66,7	28	40,0	19	51,4	97	53,3
	été	25	33,3	30	42,9	3	8,1	58	31,9
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
présence de chevaux	oui	0	0,0	49	70,0	29	78,4	78	42,9
	non	75	100,0	21	30,0	8	21,6	104	57,1
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
humidité	oui	63	84,0	64	91,4	22	59,5	149	81,9
	non	12	16,0	6	8,6	15	40,5	33	18,1
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0
verdure	oui	75	100,0	53	75,7	28	75,7	156	85,7
	non	0	0,0	17	24,3	9	24,3	26	14,3
	total	75	100,0	70	100,0	37	100,0	182	100,0

* pourcentage par rapport au total de chaque caractéristique

2. Impact des différentes caractéristiques sur les résultats

Nous avons étudié l'impact des différents paramètres décrits sur la positivité ou la négativité des frottis sanguins et de la sérologie.

La corrélation exacte de chaque modalité sur les résultats sérologiques et ceux de la parasitémie est appréciée par le test de khi 2.

Si le p est significatif (<0.05), nous pouvons dire qu'il y a dépendance entre les variables et les résultats. Nous pourrons par la suite par le calcul de l'odds ratio (OR) et de son intervalle de confiance (IC), déterminer quels sont les facteurs de risque et les facteurs protecteurs vis-à-vis de la piroplasmose équine.

Si la borne inférieure de l'IC est supérieure à 1, le caractère étudié est dit facteur de risque ; si, par contre, la borne supérieure de l'IC est inférieure à 1, le facteur est dit facteur protecteur.

2.1. Prévalence de la parasitémie et facteurs de risque pour la piroplasmose à *T.equi*

L'ensemble des chevaux testés ont bénéficié d'un frottis sanguin pour mettre en évidence une éventuelle parasitémie.

Une parasitémie présente ou persistante et évocatrice de *T.equi* s'est révélée positive chez 29 chevaux (15,9%) (photos 32a, 32b, 33a 33b) après lecture faite pour chaque lame par 2 personnes différentes dont une experte en cytologie. Un aspect cytologique évocateur de *B.caballi* isolé est d'emblée écarté. Une association de parasites *T.equi* et *B.caballi* (photo 34a et 34b) est retrouvée sur 11 des 29 lames positives (37.9%).

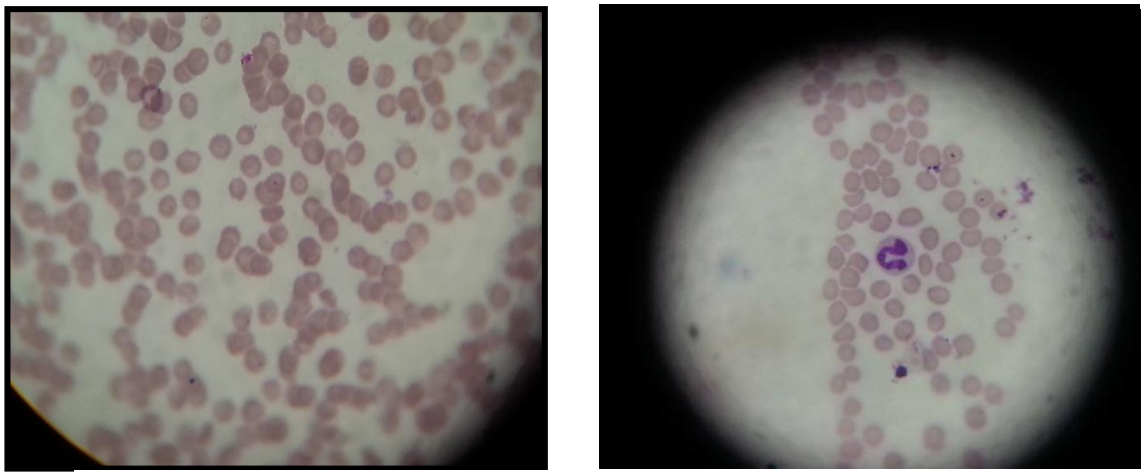


Photo 32 (a) et (b) : *T.equi* sous microscope optique (forme arrondie)

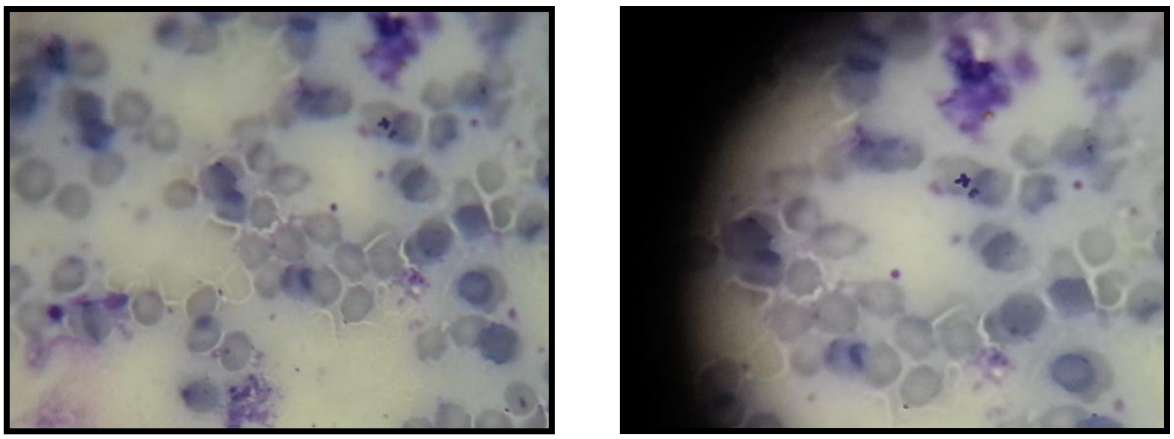
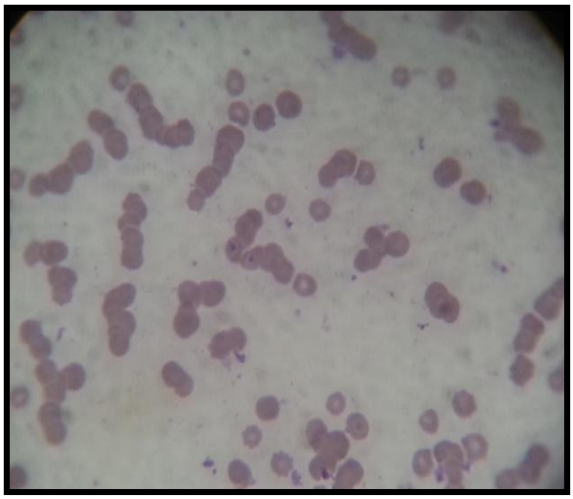


Photo 33 (a) et (b) : *T.equi* sous microscope optique (forme en croix de Malte)



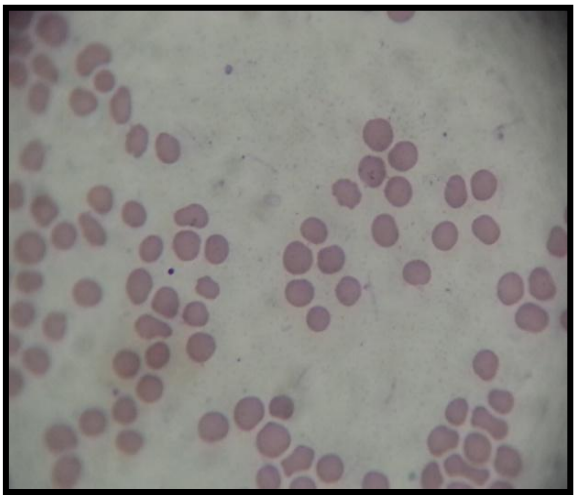
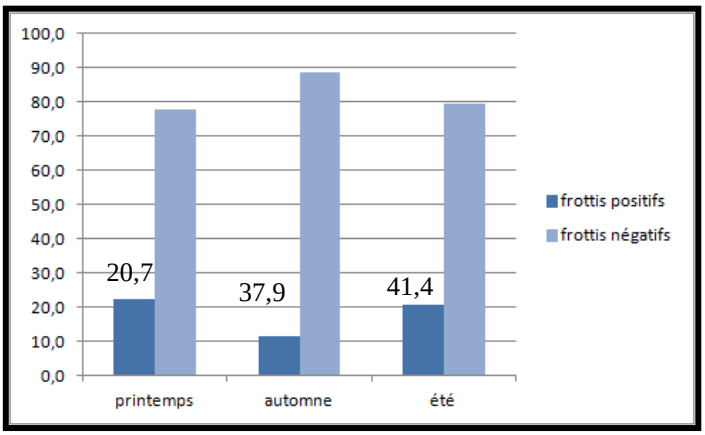


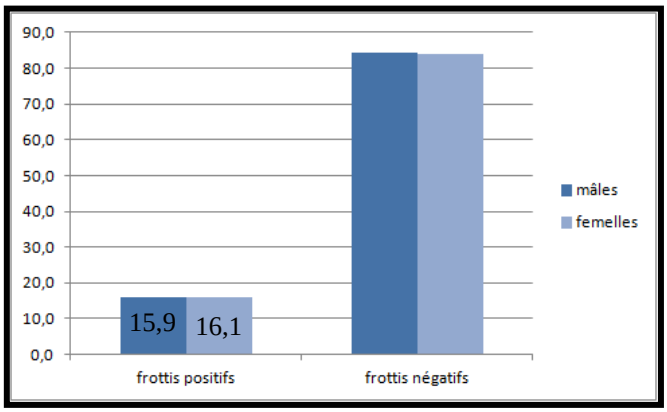
Photo 34 (a) et (b) : *B.caballi* sous microscope optique

Pratiquement un frottis sur quatre soit (22.2%) des frottis effectués au printemps est revenu positif. Cependant, malgré le fait que les tiques ne soient pas actives en été, 20.7% des prélèvements effectués en cette période se sont révélés positifs (graphe 5) (tableau 7).



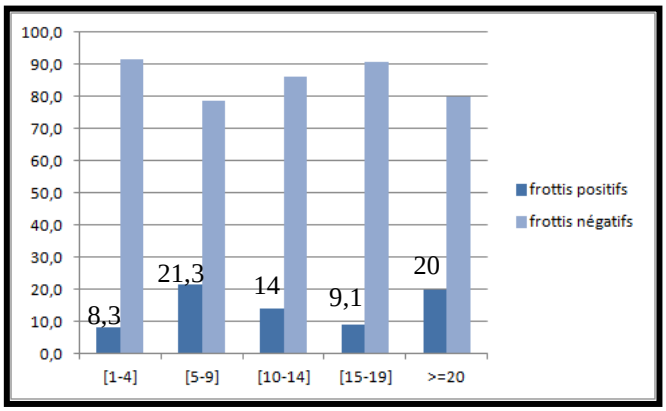
Graphe 5 : Répartition des résultats des frottis en fonction de la saison

Une parasitémie positive est observée quelque soit les caractéristiques physiques et sanitaires du cheval retenues dans cette étude. La parasitémie a également été analysée par rapport aux caractéristiques ayant trait à l'état des écuries et à l'environnement dans lequel vivent nos chevaux (tableaux 6 et 7).



Graphe 6 : Répartition du sexe en fonction des résultats des frottis

Presque l'ensemble des races étudiées, les deux sexes (graphe 6) ainsi que toutes les tranches d'âges (graphe 7) sont concernés. La parasitémie est également présente quelque soit l'activité principale du cheval.



Graphe 7 : Répartition des résultats des frottis en fonction de l'âge

Tableau 6 : Fréquence de la parasitémie positive en fonction de chaque caractéristique physique et sanitaire

caractéristiques			lames positives	
		n	N+	%*
race	pur sang	22	6	27,3
	A.Q.P.S	72	13	18,1
	barbe	81	10	12,3
	selle français	7	0	0
	total	182	29	15,9
sexe	mâles	126	20	15,9
	femelles	56	9	16,1
	total	182	29	15,9
âge	[1-4]	12	1	8,3
	[5-9]	75	16	21,3
	[10-14]	57	8	14
	[15-19]	33	3	9,1
	>=20	5	1	20
	total	182	29	15,9
robe	gris	74	10	13,5
	alezan	36	7	19,4
	bai	68	12	17,6
	autre	4	0	0
	total	182	29	15,9
activité principale	compétition	75	9	12
	loisir	70	11	15,7
	reproduction	37	9	24,3
	total	182	29	15,9
état général	bon	160	23	14,4
	mauvais	22	6	27,3
	total	182	29	15,9
symptômes	oui	4	2	50
	non	178	27	15,2
	total	182	29	15,9
gestante	oui	12	2	16,7
	non	170	27	15,9
	total	182	29	15,9
pathologie associée	oui	10	2	20
	non	172	27	15,7
	total	182	29	15,9
vaccination	oui	116	17	14,7
	non	66	12	18,2
	total	182	29	15,9
vermifugation	oui	99	14	14,1
	non	83	15	18,1
	total	182	29	15,9
lutte contre les tiques	oui	102	14	13,7
	non	80	15	18,8
	total	182	29	15,9

* pourcentage par rapport à l'effectif (n) de chaque caractéristique

Tableau 7 : Fréquence de la parasitémie positive en fonction de chaque caractéristique de l'écurie et de l'environnement

caractéristiques		lames positives		
		n	N+	%*
localisation	zone 1	90	13	14,4
	zone 2	53	12	22,6
	zone 3	39	4	10,3
	total	182	29	15,9
gestion	particulier	67	14	20,9
	collectif	115	15	13
	total	182	29	15,9
habitation jour	box	105	15	14,3
	pré	53	10	18,9
	abri	24	4	16,7
	total	182	29	15,9
habitation nuit	box	130	17	13,1
	pré	0	0	0
	abri	52	12	23,1
	total	182	29	15,9
déplacement dans la zone	oui	162	29	17,9
	non	20	0	0
	total	182	53	29,1
déplacement hors zone	oui	72	12	16,7
	non	110	17	15,5
	total	182	29	15,9
propreté	bonne	115	16	13,9
	moyenne	67	13	19,4
	total	182	29	15,9
personnel soignant	sur place	124	17	13,7
	à la demande	58	12	20,7
	total	182	29	15,9
saison	printemps	27	6	22,2
	automne	97	11	11,3
	été	58	12	20,7
	total	182	29	15,9
présence de chevaux	oui	78	19	24,4
	non	104	10	9,6
	total	182	29	15,9
humidité	oui	149	22	14,8
	non	33	7	21,2
	total	182	29	15,9
verdure	oui	156	28	17,9
	non	26	1	3,8
	total	182	29	15,9

* pourcentage par rapport à l'effectif (n) de chaque caractéristique

2.1.1. Caractéristiques physiques et sanitaires

Après analyse statistique bivariée des caractéristiques physiques et sanitaires propres au cheval, aucun paramètre n'a révélé une dépendance statistiquement significative par rapport aux résultats des frottis sanguins. Dans notre échantillon, les résultats de la parasitémie ne sont donc pas corrélés aux caractéristiques physiques et sanitaires du cheval (tableau8).

Tableau 8 : Répartition des résultats de la parasitémie en fonction des caractéristiques physiques et sanitaires

caractéristiques		résultats lames				
		lames positives		lames négatives		P
		n	%*	n	%*	
race	pur sang	6	20,7	16	10,5	0.12
	A.Q.P.S	13	44,8	59	38,6	0.52
	barbe	10	34,5	71	46,4	0.23
	selle français	0	0,0	7	4,6	0.45
	total	29	100,0	153	100,0	
sexe	mâles	20	69,0	106	69,3	0.97
	femelles	9	31,0	47	30,7	0.97
	total	29	100,0	153	100,0	
âge	[1-4]	1	3,4	11	7,2	0.46
	[5-9]	16	55,2	59	38,6	0.09
	[10-14]	8	27,6	49	32,0	0.63
	[15-19]	3	10,3	30	19,6	0.24
	>=20	1	3,4	4	2,6	0.8
	total	29	100,0	153	100,0	
robe	gris	10	34,5	64	41,8	0.46
	alezan	7	24,1	29	19,0	0.52
	bai	12	41,4	56	36,6	0.62
	autre	0	0,0	4	2,6	0.7
	total	29	100,0	153	100,0	
activité principale	compétition	9	31,0	66	43,1	0.22
	loisir	11	37,9	59	38,6	0.94
	reproduction	9	31,0	28	18,3	0.12
	total	29	100,0	153	100,0	
état général	bon	23	79,3	137	89,5	0.12
	mauvais	6	20,7	16	10,5	0.12
	total	29	100,0	153	100,0	
symptômes	oui	2	6,9	2	1,3	0.09
	non	27	93,1	151	98,7	0.09
	total	29	100,0	153	100,0	
gestante	oui	2	6,9	10	6,5	0.94
	non	27	93,1	143	93,5	0.94
	total	29	100,0	153	100,0	
pathologie associée	oui	2	6,9	8	5,2	0.71
	non	27	93,1	145	94,8	0.71
	total	29	100,0	153	100,0	
vaccination	oui	17	58,6	99	64,7	0.53
	non	12	41,4	54	35,3	0.53
	total	29	100,0	153	100,0	
vermifugation	oui	14	48,3	85	55,6	0.47
	non	15	51,7	68	44,4	0.47
	total	29	100,0	153	100,0	
lutte contre les tiques	oui	14	48,3	88	57,5	0.35
	non	15	51,7	65	42,5	0.35
	total	29	100,0	153	100,0	

* pourcentage par rapport à l'effectif total des positifs et des négatifs

2.1.2. Caractéristiques des écuries et de leur environnement

Après analyse statistique bivariée des caractéristiques des écuries et leur environnement, seule la présence de chevaux à proximité des écuries prélevées présente une significativité en ce qui concerne les résultats de la parasitémie.

Les autres facteurs comme la saison ou la zone de prélèvement ne présentent, dans notre étude, aucune corrélation significative avec les résultats (tableau 9).

Après calcul des OR en ce qui concerne les chevaux à proximité, nous constatons que leur présence constitue un facteur de risque pour une parasitémie positive, et leur absence constitue donc un facteur protecteur.

Au terme de cette analyse bivariée, on peut conclure que pour les résultats de la parasitémie, seule la présence de chevaux à proximité constitue un facteur de risque pour une parasitémie positive à *T.equi*.

Tableau 9 : Répartition des résultats de la parasitémie en fonction des caractéristiques de l'écurie et de l'environnement

caractéristiques		résultats lames						
		lames positives		lames négatives				
		n	%*	n	%*	p	OR	IC
localisation	zone 1	13	44,8	77	50,3	0,5875		
	zone 2	12	41,4	41	26,8	0,117		
	zone 3	4	13,8	35	22,9	0,2804		
	total	29	100,0	153	100,0			
gestion	particulier	14	48,3	53	34,6	0,1661		
	collectif	15	51,7	100	65,4	0,1661		
	total	29	100,0	153	100,0			
habitation jour	box	15	51,7	90	58,8	0,4789		
	pré	10	34,5	43	28,1	0,4892		
	abri	4	13,8	20	13,1	0,9162		
	total	29	100,0	153	100,0			
habitation nuit	box	17	58,6	113	73,9	0,0999		
	pré	0	0,0	0	0,0			
	abri	12	41,4	40	26,1	0,0999		
	total	29	100,0	153	100,0			
déplacement dans la zone	oui	29	100,0	133	86,9	0,1274		
	non	0	0,0	20	13,1	0,1274		
	total	53	182,8	129	84,3			
déplacement hors zone	oui	12	41,4	60	39,2	0,8271		
	non	17	58,6	93	60,8	0,8271		
	total	29	100,0	153	100,0			
propreté	bonne	16	55,2	99	64,7	0,331		
	moyenne	13	44,8	54	35,3	0,331		
	total	29	100,0	153	100,0			
personnel soignant	sur place	17	58,6	107	69,9	0,2335		
	à la demande	12	41,4	46	30,1	0,2335		
	total	29	100,0	153	100,0			
saison	printemps	6	20,7	21	13,7	0,337		
	automne	11	37,9	86	56,2	0,0744		
	été	12	41,4	46	30,1	0,2335		
	total	29	100,0	153	100,0			
présence de chevaux	oui	19	65,5	59	38,6	0,0091	3,02	1,31 - 6,95
	non	10	34,5	94	61,4	0,0091	0,33	0,14 - 0,75
	total	29	100,0	153	100,0			
humidité	oui	22	75,9	127	83,0	0,3627		
	non	7	24,1	26	17,0	0,3627		
	total	29	100,0	153	100,0			
verdure	oui	28	96,6	128	83,7	0,1026		
	non	1	3,4	25	16,3	0,1026		
	total	29	100,0	153	100,0			

* pourcentage par rapport à l'effectif total des positifs et des négatifs

2.2. Séroprévalence et facteurs de risque pour la piroplasmose à *T.equi*

L'ensemble des chevaux prélevés ont été analysés et testés sérologiquement afin de détecter la présence d'anticorps contre *T.equi*. Après lecture au spectrophotomètre, les deux tests ont été validés par le calcul des moyennes des D.O des contrôles négatifs (1.06 pour la première plaque et 1,12 pour la deuxième), ainsi que par le calcul des inhibitions des moyennes des D.O des contrôles positifs (78% pour la première plaque et 77% pour la seconde).

Les résultats nous montrent que 53 chevaux, soit 29.12% de l'ensemble, sont testés positifs et sont donc porteurs d'anticorps.

L'utilisation du test cELISA seul permet d'écarter les possibles réactions croisées pouvant survenir avec les autres tests notamment le CFT et l'IFI et de ce fait estime la prévalence réelle des cas de piroplasmoses à *T.equi.*

Ce test étant spécifique de *T.equi*, la prévalence de la piroplasmose équine est donc sous estimée car occultant tous les cas de piroplasmoses à *B.caballi*.

Si nous considérons qu'un centre ou une écurie est contaminé ou positif devant l'existence d'un seul cheval hébergeant *T. equi*, 80% de l'ensemble des sites de prélèvement (16/20) sont contaminés. Le taux de contamination varie en fonction de nombreux paramètres qui seront détaillés dans la suite de ce travail.

2.2.1. Description de la population à sérologie positive et de son environnement

Une sérologie positive concerne toutes les races de l'étude, les deux sexes, toutes les tranches d'âges en dehors des âges extrêmes (<4ans et >20 ans), les différentes couleurs de robes et l'ensemble des activités du cheval (tableau 10).

L'état de l'écurie, sa localisation, sa gestion, ses conditions sanitaires ainsi que son environnement sont également pris en considération pour cette étude descriptive et analytique de la séroprévalence (tableau 11).

Tableau 10 : Fréquence de la séropositivité en fonction de chaque caractéristique physique et sanitaire

caractéristiques		sérologie positive		
		n	n+	%*
race	pur sang	22	9	40,9
	A.Q.P.S	72	23	31,9
	barbe	81	19	23,5
	selle français	7	2	28,6
	total	182	53	29,1
sexe	mâles	126	31	24,6
	femelles	56	22	39,3
	total	182	53	29,1
âge	[1-4]	12	1	8,3
	[5-9]	75	19	25,3
	[10-14]	57	23	40,4
	[15-19]	33	10	30,3
	>=20	5	0	0
	total	182	53	29,1
robe	gris	74	20	27
	alezan	36	7	19,4
	bai	68	23	33,8
	autre	4	3	75
	total	182	53	29,1
activité principale	compétition	75	14	18,7
	loisir	70	22	31,4
	reproduction	37	17	45,9
	total	182	53	29,1
état général	bon	160	46	28,8
	mauvais	22	7	31,8
	total	182	53	29,1
symptômes	oui	4	2	50
	non	178	51	28,7
	total	182	53	29,1
gestante	oui	12	6	50
	non	170	47	27,6
	total	182	53	29,1
pathologie associée	oui	10	3	30
	non	172	50	29,1
	total	182	53	29,1
vaccination	oui	116	30	25,9
	non	66	23	34,8
	total	182	53	29,1
vermifugation	oui	99	24	24,2
	non	83	29	34,9
	total	182	53	29,1
lutte contre les tiques	oui	102	24	23,5
	non	80	29	36,3
	total	182	53	29,1

* pourcentage par rapport à l'effectif (n) de chaque caractéristique

Tableau 11 : Fréquence de la séropositivité en fonction de chaque caractéristique de l'écurie et de l'environnement

caractéristiques		sérologie positive		
		n	n+	%*
localisation	zone 1	90	21	23,3
	zone 2	53	18	34
	zone 3	39	14	35,9
	total	182	53	29,1
gestion	particulier	67	24	35,8
	collectif	115	29	25,2
	total	182	53	29,1
habitation jour	box	105	27	25,7
	pré	53	18	34
	abri	24	8	33,3
	total	182	53	29,1
habitation nuit	box	130	36	27,7
	pré	0	0	0
	abri	52	17	32,7
	total	182	53	29,1
déplacement dans la zone	oui	162	46	28,4
	non	20	7	35
	total	182	53	29,1
déplacement hors zone	oui	72	27	37,5
	non	110	26	23,6
	total	182	53	29,1
propreté	bonne	115	28	24,3
	moyenne	67	25	37,3
	total	182	53	29,1
personnel soignant	sur place	124	32	25,8
	à la demande	58	21	36,2
	total	182	53	29,1
saison	printemps	27	12	44,4
	automne	97	26	26,8
	été	58	15	25,9
	total	182	53	29,1
présence de chevaux	oui	78	29	37,2
	non	104	24	23,1
	total	182	53	29,1
humidité	oui	149	41	27,5
	non	33	12	36,4
	total	182	53	29,1
verdure	oui	156	44	28,2
	non	26	9	34,6
	total	182	53	29,1

* pourcentage par rapport à l'effectif (n) de chaque caractéristique

2.2.1.1. Relation entre séropositivité et caractéristiques physiques

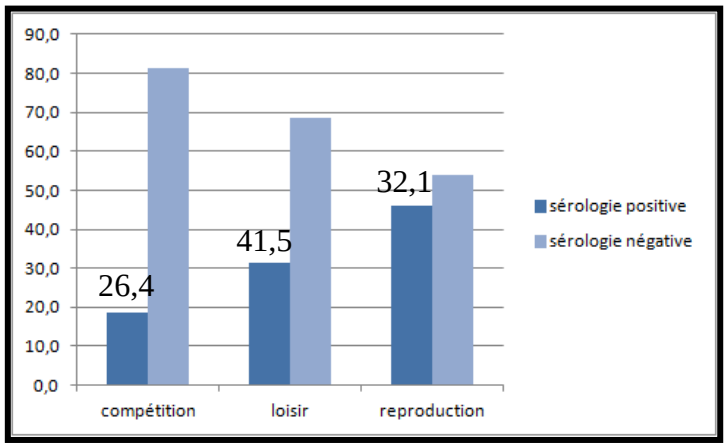
Nous avons jugé utile et important de commencer et d'analyser à part le statut sérologique de notre population par rapport à un paramètre majeur qui est l'activité principale du cheval, ce paramètre pouvant engendrer des répercussions significatives d'ordre sanitaire et économique (tableau 12).

Tableau 12 : Résultats de la sérologie en fonction de l'activité principale

Activité principale	résultats sérologie						
	sérologie positive		sérologie négative				
	n	% *	n	% *	p	OR	IC
compétition	14	26,4	61	47,3	0,0105	0,4	0,19 - 0,8
loisir	22	41,5	48	37,2	0,5882		
reproduction	17	32,1	20	15,5	0,0133	2,57	1,21 - 5,43
total	53	100,0	129	100,0			

* pourcentage par rapport à l'effectif total des positifs et des négatifs

Il est à noter que 45.9% des chevaux utilisés pour la reproduction, 31.4% des chevaux de loisir et 18.6% des chevaux de compétition sont contaminés (graphe 8).

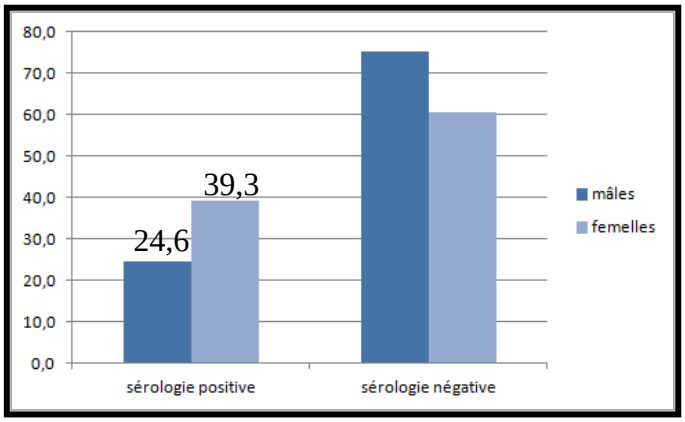


Graphe 8 : Répartition des résultats sérologiques en fonction de l'activité principale

L'étude du statut sérologique des chevaux par rapport aux caractéristiques physiques révèle des différences significatives de positivité vis-à-vis de certaines d'entre elles (tableau 13).

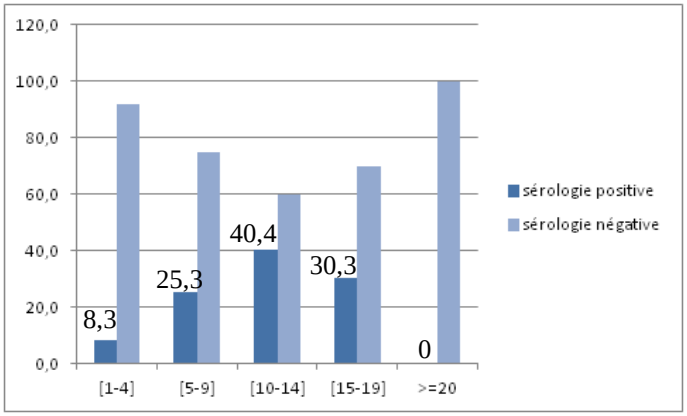
L'IC de l'OR révèle qu'être dans la catégorie « cheval de compétition » est un facteur protecteur pour le cheval, en revanche, la catégorie « cheval de reproduction » est un facteur de risque d'avoir une sérologie positive.

En ce qui concerne les autres paramètres liés au cheval, nous pouvons dire à travers les résultats obtenus qu'il y'a une corrélation entre les résultats sérologiques et le sexe du cheval. En effet, le sexe masculin est un facteur protecteur vis-à-vis d'une sérologie positive alors que le sexe féminin est un facteur de risque d'avoir une sérologie positive (graphe 9).



Graphe 9 : Répartition des résultats sérologiques en fonction du sexe

La tranche d'âge allant de 10 à 14 ans est également considérée comme étant un facteur de risque pour une sérologie positive (graphe 10).



Graphe 10 : Répartition des résultats sérologiques en fonction de l'âge

Tableau 13 : Résultats de la sérologie en fonction des caractéristiques physiques

Caractéristiques		résultats sérologie						
		sérologie positive		sérologie négative				
		n	%*	n	%*	p	OR	IC
race	pur sang	9	17,0	13	10,1	0,1989		
	A.Q.P.S	23	43,4	49	38,0	0,4979		
	barbe	19	35,8	62	48,1	0,1337		
	selle français	2	3,8	5	3,9	0,974		
	total	53	100,0	129	100,0			
sexe	mâles	31	58,5	95	73,6	0,046	0,5	0,25 - 0,98
	femelles	22	41,5	34	26,4	0,046	1,98	1,012 - 3,88
	total	53	100,0	129	100,0			
âge	[1-4]	1	1,9	11	8,5	0,1356		
	[5-9]	19	35,8	56	43,4	0,3472		
	[10-14]	23	43,4	34	26,4	0,028	2,11	1,08 - 4,14
	[15-19]	10	18,9	23	17,8	0,8688		
	>=20	0	0,0	5	3,9	0,2959		
	total	53	100,0	129	100,0			
robe	gris	20	37,7	54	41,9	0,607		
	alezan	7	13,2	29	22,5	0,1585		
	bai	23	43,4	45	34,9	0,2818		
	autre	3	5,7	1	0,8	0,0806		
	total	53	100,0	129	100,0			

* pourcentage par rapport à l'effectif total des positifs et des négatifs

2.2.1.2. Relation entre séropositivité et caractéristiques sanitaires

En ce qui concerne les paramètres sanitaires, aucun d'entre eux ne révèle avoir une corrélation significative avec les résultats de la sérologie à *T.equi* (tableau 14).

Tableau 14 : Résultats de la sérologie en fonction des caractéristiques sanitaires

caractéristiques		résultats sérologie				
		sérologie positive		sérologie négative		
		n	% *	n	% *	p
état général	bon	46	86,8	114	88,4	0,767
	mauvais	7	13,2	15	11,6	0,767
	total	53	100,0	129	100,0	
symptômes	oui	2	3,8	2	1,6	0,3681
	non	51	96,2	127	98,4	0,3681
	total	53	100,0	129	100,0	
gestante	oui	6	11,3	6	4,7	0,1102
	non	47	88,7	123	95,3	0,1102
	total	53	100,0	129	100,0	
pathologie associée	oui	3	5,7	7	5,4	0,9498
	non	50	94,3	122	94,6	0,9498
	total	53	100,0	129	100,0	
vaccination	oui	30	56,6	86	66,7	0,2009
	non	23	43,4	43	33,3	0,2009
	total	53	100,0	129	100,0	
vermifugation	oui	24	45,3	75	58,1	0,1152
	non	29	54,7	54	41,9	0,1152
	total	53	100,0	129	100,0	
lutte contre les tiques	oui	24	45,3	78	60,5	0,0624
	non	29	54,7	51	39,5	0,0624
	total	53	100,0	129	100,0	

* pourcentage par rapport à l'effectif total des positifs et des négatifs

2.2.1.3. Relation entre séropositivité et caractéristiques de l'écurie

En ce qui concerne les paramètres inhérents à l'écurie et à ses caractéristiques logistiques et sanitaires, seul le déplacement en dehors de la zone d'implantation constitue un facteur de risque pour les chevaux, et par conséquent le fait de ne pas se déplacer en dehors de la zone est un facteur protecteur pour le cheval vis-à-vis de l'infection à *T.equi* (tableau 15).

Tableau 15 : Résultats de la sérologie en fonction des caractéristiques de l'écurie

caractéristiques		résultats sérologie						
		sérologie positive		sérologie négative				
		n	% *	n	%*	p	OR	IC
localisation	zone 1	21	39,6	69	53,5	0,0908		
	zone 2	18	34,0	35	27,1	0,3578		
	zone 3	14	26,4	25	19,4	0,2951		
	total	53	100,0	129	100,0			
gestion	particulier	24	45,3	43	33,3	0,1305		
	collectif	29	54,7	86	66,7	0,1305		
	total	53	100,0	129	100,0			
habitation jour	box	27	50,9	78	60,5	0,2386		
	pré	18	34,0	35	27,1	0,3578		
	abri	8	15,1	16	12,4	0,6264		
	total	53	100,0	129	100,0			
habitation nuit	box	36	67,9	94	72,9	0,5029		
	pré	0	0,0	0	0,0			
	abri	17	32,1	35	27,1	0,5029		
	total	53	100,0	129	100,0			
déplacement dans la zone	oui	46	86,8	116	89,9	0,5408		
	non	7	13,2	13	10,1	0,5408		
	total	53	100,0	129	100,0			
déplacement hors zone	oui	27	50,9	45	34,9	0,0456	1,93	1,01 - 3,7
	non	26	49,1	84	65,1	0,0456	0,51	0,26 – 0,98
	total	53	100,0	129	100,0			
propreté	bonne	28	52,8	87	67,4	0,065		
	moyenne	25	47,2	42	32,6	0,065		
	total	53	100,0	129	100,0			
personnel soignant	sur place	32	60,4	92	71,3	0,1519		
	à la demande	21	39,6	37	28,7	0,1519		
	total	53	100,0	129	100,0			

* pourcentage par rapport à l'effectif total des positifs et des négatifs

2.2.1.4. Relation entre séropositivité et caractéristiques de l'environnement

En ce qui concerne les caractéristiques de l'environnement direct du cheval et de son écurie, comme pour la parasitémie, la présence de chevaux à proximité constitue un facteur de risque d'avoir une sérologie positive.

L'absence de chevaux tout autour, est dans ce cas, un facteur protecteur (tableau 16).

Tableau 16 : Résultats de la sérologie en fonction des caractéristiques de l'environnement

caractéristiques		résultats sérologie						
		sérologie positive		sérologie négative				
		n	%*	n	%*	p	OR	IC
saison	printemps	12	22,6	15	11,6	0,0618		
	automne	26	49,1	71	55,0	0,4628		
	été	15	28,3	43	33,3	0,5086		
	total	53	100,0	129	100,0			
présence de chevaux	oui	29	54,7	49	38,0	0,0396	1,97	1,03 - 3,76
	non	24	45,3	80	62,0	0,0396	0,5	0,26 – 0,93
	total	53	100,0	129	100,0			
humidité	oui	41	77,4	108	83,7	0,3135		
	non	12	22,6	21	16,3	0,3135		
	total	53	100,0	129	100,0			
verdure	oui	44	83,0	112	86,8	0,5064		
	non	9	17,0	17	13,2	0,5064		
	total	53	100,0	129	100,0			

* pourcentage par rapport à l'effectif total des positifs et des négatifs

Au terme de cette analyse bivariée, il se dégage plusieurs facteurs comme étant des facteurs de risque ou protecteurs vis-à-vis de *T.equi*. Ces facteurs aident à définir le cheval type prédisposé à la piroplasmose à *T.equi* (tableau 17).

Tableau 17 : Facteurs de risque et facteurs protecteurs vis-à-vis de *T.equi*

facteurs de risque	facteurs protecteurs
sexe femelle	sexe mâle
cheval de reproduction	cheval de compétition
âge de 10 à 14 ans	
déplacement hors de la zone	rester dans la zone
présence d'autres chevaux à proximité	absence de chevaux à proximité

2.3. Etude des corrélations entre les résultats de la parasitémie et ceux de la sérologie

Sur les 29 lames positives est associée dans 9 cas (31.03%) une sérologie positive, et dans 20 (68.97%) une sérologie négative (tableau 18, 19 et 20).

Tableau 18 : Répartition des résultats sérologiques en fonction des résultats des frottis (n)

	lames positives	lames négatives	total
sérologie positive	9	44	53
sérologie négative	20	109	129
total	29	153	182

Tableau 19 : Répartition des résultats des frottis en fonction des résultats sérologiques (%)

	lames positives	lames négatives	total
sérologie positive	31,03	28,76	29,12
sérologie négative	68,97	71,24	70,88
total	100,00	100,00	100,00

Tableau 20 : Répartition des résultats sérologiques en fonction de ceux des frottis (%)

	sérologie positive	sérologie négative	total
lames positives	16,98	15,50	54,95
lames négatives	83,02	84,50	54,95
total	100,00	100,00	100,00

Un test de khi 2 d'indépendance entre les lignes et les colonnes a été fait entre les résultats des frottis et ceux de la sérologie. Le résultat donne une valeur de p non significative p = 0.805, on ne peut donc pas rejeter l'hypothèse nulle qui affirme l'indépendance entre les deux caractères.

Il n'existe pas de dépendance statistiquement significative entre les lignes et les colonnes donc les résultats sérologiques n'ont pas de lien avec les résultats des frottis sanguins.

2.4. Quelle interprétation donner à l'analyse statistique ?

Dans notre série et par rapport à *T.equi*, il n'a pas été retrouvé de corrélation entre la séropositivité et certaines caractéristiques ayant trait aussi bien au cheval qu'à l'écurie et son environnement, bien que certaines corrélations nous apparaissent d'emblée plus qu'évidentes. Le faible nombre de facteurs, aussi bien de risque que protecteurs, retrouvés dans notre série est certainement en rapport avec le peu de sensibilité des tests statistiques utilisés. Dans notre série et en raison du faible effectif d'écuries épargnées (4/20) par la contamination, il ne peut être établi pour une caractéristique donnée de significativité entre les écuries contaminées et celles qui ne le sont pas. Ces résultats n'excluent nullement l'existence possible d'une séropositivité ou d'une parasitémie mais cette corrélation ne pourra être démontrée que sur des séries plus importantes et comparables.

Il est évident que parmi tous les facteurs supposés être de risque ou de protection vis-à-vis de l'infection à *T.equi*, certains ne le sont pas réellement. Seuls les facteurs qui trouvent une explication sur le plan épidémiologique peuvent être considérés comme d'authentiques

facteurs de risque ou de protection pour la piroplasmose. Loger dans un pré est un facteur de risque, loger dans un box est un facteur protecteur, l'un prédispose à la contamination, l'autre préserve du risque de contamination.

Dans notre série, l'ensemble des facteurs dits de risque retrouvés sont compatibles avec les données épidémiologiques. Le sexe féminin est facteur de risque de par l'activité exercée. La jument est utilisée pour la reproduction et les chevaux utilisés pour cette activité passent la nuit sous un abri et la journée dans un pré ou sous un abri, gite des tiques vectrices et donc de contamination. Avoir des chevaux à proximité est également un facteur de risque en raison du risque de transmission si le cheval est atteint.

L'activité de compétition est un facteur de protection ; le cheval de compétition habitant dans un box préservé des piqures de tiques et donc du risque de contamination.

Toutes ces constatations font que la pierre angulaire est la relation tique-cheval et que rompre ce lien permettra de réduire la transmission et donc le risque de contamination.

V. Discussion

1. Protocole de travail choisi

1.1. Ecuries choisies

Le thème retenu étant la" prévalence des piroplasmoses équines dans la région d'Alger et ses environs", nous avons en premier lieu recensé de façon aléatoire l'ensemble des écuries se trouvant dans la région étudiée puis dans un second temps, et avec le souci d'avoir des échantillons représentatifs dans les zones retenues par rapport au thème, nous avons sélectionné les écuries à retenir.

1.2. Effectif retenu

Malgré certaines réticences de la part aussi bien de certains propriétaires que gestionnaires d'écuries, nous avons prélevé un total de 210 chevaux. Cependant, en raison du nombre de tests sérologiques limités par la trousse cELISA, seuls 182 chevaux ont été maintenus pour l'étude. Les différents échantillons prélevés sont pleinement représentatifs de l'effectif total existant dans chaque écurie : proche de 100% dans les écuries de particuliers, de 35 à presque 50% de l'effectif total dans les écuries étatiques.

La validité des données a pu être vérifiée lors de leur exploitation.

1.3. Test diagnostic retenu

Le seuil de détection des anticorps étant trop élevé par la technique utilisant le test du complément fait de cette dernière une méthode pas assez sensible à l'origine de nombreux faux négatifs. Le test ELISA manque de spécificité par la production de réactions croisées entre *B.caballi* et *T.equi*. L'identification de l'espèce en cause implique la combinaison de plusieurs tests. L'association de deux techniques est couteuse et ne trouve son intérêt que dans le cadre d'études épidémiologiques visant à déterminer les prévalences respectives de l'infection à *B.caballi* et à *T.equi*.

L'utilisation du test cELISA, grâce aux AcM serait spécifique de *T.equi*, et permet d'écarter les possibles réactions croisées pouvant survenir avec les autres tests ; ce test estime de ce fait la prévalence réelle des cas de piroplasmoses à *T.equi*.

En dehors des raisons sus citées, notre choix s'est porté sur le test cELISA pour les raisons suivantes:

- Les piroplasmoses à *T.equi* semblent être plus répandues que celles à *B.caballi* (Baptistaa, et al., 2013).
- Le cheval représente le réservoir pérenne dans la survie de *B.equi* du fait de son portage latent de très longue durée contrairement à *B.caballi* (Soule, 1995).
- L'Afrique est un continent où *T.equi* sévit à l'état hyperendémique (Silva, et al., 2013; Ribeiro, 2013; Hanns-Jürgen, 1989).
- Dans les études les plus longues retrouvées dans la littérature, les anticorps anti *T.equi* sont dépistés sur une période plus longue (Tenter & Friedhoff, 1986).

1.4. Collecte de données

L'ensemble des paramètres susceptibles d'influer aussi bien sur la parasitémie que sur la séropositivité ont été recensés dans le but de leur exploitation.

Il n'a pas été rencontré d'obstacles majeurs quant à la collecte des informations concernant aussi bien les caractéristiques du cheval que de l'écurie et son environnement.

Tous les questionnaires concernant le cheval (annexe1), l'écurie et son environnement (annexe2) ont été renseignés. Certains détails initialement définis tels que la provenance du cheval et sa date d'acquisition qui auraient pu nous renseigner et nous orienter vers l'origine d'une éventuelle séropositivité, la description détaillée de l'environnement ou du personnel

existant dans l'écurie, n'ont pas été exploités compte tenu de l'insuffisance d'informations données.

1.5. Choix de la période de prélèvement

Toutes les études concordent à dire que la période de transmission de la piroplasmose se fait durant la phase d'activité des tiques soit au printemps et à l'automne (Le Metayer, 2007). Il nous a paru intéressant de faire les prélèvements pendant et en dehors de ces périodes. Nous n'avons pas retrouvé de données se rapportant aux caractéristiques des tiques vectrices chez le cheval, sachant que les tiques transmettant la piroplasmose au cheval relèvent de 14 espèces différentes (Le Metayer, 2007; Maslin & Beugnet, 2004).

Les prélèvements ont été pratiqués sur 3 saisons : printemps, été et automne et sur une période de 10 mois.

2. Prévalence de la piroplasmose dans Alger et ses environs

Le test cELISA utilisé dans notre série pour le dépistage des porteurs chroniques étant spécifique de *T.equi* sous estime la prévalence réelle de la piroplasmose en occultant tous les cas de piroplasmose à *B.caballi*.

En utilisant un test cELISA, *T.equi* est retrouvé dans notre série avec une prévalence de 29.12%. Cette prévalence rejoint celle retrouvée dans l'étude menée par Sigg et al sur des chevaux importés d'Espagne en Suisse et utilisant la même technique de dépistage que la nôtre : 27.3% de séropositifs à T.equi et 0% à B.caballi (Garcia-Bocanegra, et al., 2013).

En fait, les prévalences retrouvées au cours de nombreuses études menées récemment et utilisant le test cELISA sont très variables :

Dans une étude menée en Turquie et portant sur 481 chevaux, 17.67% étaient positifs pour *T.equi* et 2.29% pour *B.caballi*. 1.46% étaient positifs pour les deux (Sevinc, et al., 2008). Dans le sud de l'Espagne, une étude montre 48.6% de séropositivité pour *T.equi* et 7.9% pour *B.caballi* (Garcia-Bocanegra, et al., 2013) ; aux Açores (Portugal), une prévalence de 19.3% est retrouvée pour *T.equi* (Baptistaa, et al., 2013).

D'autres études montrent une tendance plus élevée de *B.caballi*. Au Venezuela, une étude montre que 50.3% des chevaux sont sérologiquement positifs à *T.equi* et 70.6% à *B.caballi* ; 35.56% sont positifs aux deux parasites (Mujica, et al., 2011). Une autre étude

menée dans le même pays révèle que 14% des chevaux étaient positifs à *T.equi* et 23.2% à *B.caballi* alors que 13% présentaient une infection mixte (Rosales, et al., 2013)

L'utilisation d'autres méthodes de dépistage notamment par IFI montre des prévalences plus élevées : prévalence de *T.equi* à 67.2% et de *B.caballi* à 22.8% en Camargue (Guillot, 2002), 94% pour *T.equi* et 90% pour *B.caballi* sur 82 chevaux testés en 1991 à Cordoba (Argentine). En Israel, *T.equi* est retrouvé chez un tiers des 361 chevaux testés (Shkap, et al., 1998).

63.5% de séropositifs pour *T.equi*, et 4.4% de positifs pour *B.caballi* ont été retrouvés avec l'utilisation d'un test ELISA au Soudan (Salim & Hassan, 2008).

La cinétique des anticorps est variable selon le test de dépistage effectué, et selon l'état physique du cheval. Les tests de dépistage utilisés n'ont pas toujours le même seuil de détection, élevé pour certains et très faible pour d'autres avec une sensibilité variable ; les délais de détection des premiers anticorps et de leur disparition du sérum varient quelque peu d'une étude à une autre (Tenter & Friedhoff, 1986; Soule, 1995). Ceci pourrait expliquer les variations des résultats, en plus du fait que la quantité d'anticorps contenue dans le sérum dépend de la réponse immunitaire de l'hôte et du délai entre l'infection et la prise de sang (Visee, 2007).

Dans notre série, une parasitémie positive à *T.equi* est retrouvée dans 15.9 % des cas.

En Turquie, une parasitémie positive a été décrite chez 3 chevaux sur 481 (0.62%) ; des études antérieures montraient des taux variant entre 0 et 58.18% dans ce pays (Sevinc, et al., 2008).

Dans une étude faite au Venezuela, 1 cheval soit 0.3% de l'effectif total a présenté un frottis sanguin positif à *T.equi* et 4 chevaux (1.1%) ont montré un frottis positif à *B.caballi* (Mujica, et al., 2011).

3. Analyse des facteurs de risque et des facteurs protecteurs

3.1. A l'échelle du cheval

3.1.1. Séropositivité et caractéristiques physiques

Selon les données épidémiologiques et celles de la littérature, certains résultats de l'analyse statistique bivariée par rapport aux caractéristiques physiques ne trouvent pas leur explication.

3.1.1.1. Sexe, activité et déplacement

Dans notre série, le sexe masculin est un facteur protecteur vis-à-vis d'un portage chronique alors que le sexe féminin est un facteur de risque d'avoir une sérologie positive. Le cheval de sexe masculin est associé, le plus souvent, à l'activité de compétition elle-même facteur protecteur, à un habitat exclusivement dans des box, et vivre dans un box limite le contact avec les tiques donc limite la contamination.

Dans une série portant sur 481 chevaux, et menée en Turquie, le taux de séropositivité chez les femelles était significativement plus bas que chez les mâles. Les anticorps anti babésiens ont été détectés à 5.88, 29.29, et 57.14 % chez les poulains, juments et étalons respectivement (Sevinc, et al., 2008). Le sexe masculin étant deux fois plus contaminé.

Dans notre série, le sexe féminin est associé à une activité de reproduction (86.5%), elle-même associée à un habitat hors box, dans le pré ou sous un abri ; ces derniers étant des gites pour les tiques vectrices prédisposant à l'infestation. Les chevaux de sexe féminin sont associés souvent au caractère gravide observé dans presque un quart des cas dans notre série. Il est également connu que la mise bas puis l'allaitement sont considérés comme des stress et le stress est à l'origine d'une dépression de l'immunité. Ce dernier facteur explique le fait que les chevaux reproducteurs, qui sont de surcroit de sexe féminin hébergent de manière significativement plus élevée le parasite que les mâles.

La provenance du cheval peut également rentrer en ligne de compte. En effet les chevaux utilisés pour la compétition sont principalement des mâles ; ces derniers, le plus souvent provenant ou importés d'une zone dite non à risque de piroplasmose expliquerait l'effet protecteur du sexe masculin.

Le déplacement hors zone est un facteur de risque pour la piroplasmose. Le cheval de compétition ne se déplace en général que pour les concours, ces endroits ont certaines

conditions d'hygiène et les chevaux s'y trouvant ont un bon suivi sanitaire, ils ont donc moins de risque de contracter la piroplasmose que les autres catégories de chevaux. Le déplacement le plus risqué concerne les autres activités et suppose le contact avec la verdure notamment dans les près et ce sans parler des conditions d'habitat du cheval lorsqu'il s'agit des déplacements des chevaux de reproduction.

En analysant ces différentes données, on s'accorde à dire que tous ces facteurs de risque nous mènent en fait vers le principal facteur de propagation de l'infection, la présence des tiques vectrices, qui transmettent le parasite aux chevaux lorsqu'ils se déplacent vers les endroits où elles se trouvent. Donc en fait, ce n'est pas tant le sexe ni même l'activité principale du cheval ni son déplacement mais bien et toujours les tiques vectrices qui sont un maillon indispensable de la chaine de transmission.

Une étude réalisée en Israël sur 361 chevaux testés à *T.equi* va dans le sens de ce raisonnement puisque les résultats montrent que les chevaux se trouvant dans le pré sont plus atteints que les autres (Shkap, et al., 1998).

3.1.1.2. Age

La tranche d'âge allant de 10 à 14 ans est également considérée comme étant un facteur de risque pour une sérologie positive. Cette tranche d'âge représente respectivement 40% et 31.4% de l'ensemble de l'effectif utilisé pour la compétition et le loisir. La sollicitation des chevaux pour une activité physique plus intense notamment la compétition (Sevinc, et al., 2008), et la fatigue engendrée par ces 2 activités peuvent être assimilés à un stress qui parfois associé à un trouble de l'immunité est à l'origine d'une contamination plus grande.

3.1.2. Séropositivité et caractéristiques sanitaires

3.1.2.1. Séropositivité et signes cliniques

L'absence de corrélation entre les signes cliniques et la séropositivité s'explique par le fait que le sérodiagnostic détecte les porteurs chroniques qui sont habituellement asymptomatiques (Maslin & Beugnet, 2004; Soule, 1995; Avarzed, et al., 1997).

Les cas de séropositivité associés à une parasitémie positive sont probablement la conséquence d'une réinfestation ; le cheval hébergeant des anticorps, une fois réinfesté ne développe pas de maladie expliquant ainsi l'absence de signes cliniques (Maslin & Beugnet, 2004; Hanns-Jürgen, 1989). Ces chevaux peuvent également se trouver à la fin de la phase

aigue où les anticorps ont commencé à être sécrétés et où les parasites n'ont pas complètement disparu.

Les formes sub-cliniques de la piroplasmose sont plus fréquentes que les formes cliniques dans les régions où la maladie évolue sous forme d'endémie ou d'hyperendémie, ceci est expliqué par le fait que les chevaux étant continuellement réinfestés développent une certaine résistance vis-à-vis du parasite en cause car ils gardent toujours un certain taux d'anticorps protecteurs (Maslin & Beugnet, 2004; Avarzed, et al., 1997; Soule, 1995).

En Mongolie, zone d'hyperendémie avec une forte prévalence de *T.equi* (88.2%) et de *B.caballi* (84.5%) sur 110 chevaux testés, la piroplasmose clinique est très rare (Avarzed, et al., 1997).

Dans notre série, seuls 4 chevaux (2.2%) de l'ensemble de l'effectif présentent une symptomatologie clinique dont 2 cas peuvent être expliqués par la présence d'une pathologie associée. Les 2 autres cas associés à l'existence d'une parasitémie positive témoignent d'une infestation récente (Maslin & Beugnet, 2004; Hanns-Jürgen, 1989). Les signes cliniques observés n'étaient pas très spécifiques de la piroplasmose, ils se résument en une léthargie, une fatigue à l'effort et parfois une maigreur. D'autres signes cliniques ont été rencontrés, ils étaient associés à des pathologies comme des boiteries chroniques, des plaies d'été ou encore une orchite.

La quantité d'anticorps contenue dans le sérum dépend de la réponse immunitaire de l'hôte et du délai entre l'infection et la prise de sang. Une réponse positive indique que l'animal est ou a récemment été infecté mais ne confirme pas pour autant que les signes cliniques observés sont dus à un piroplasme (Visee, 2007).

Ces résultats supposent que les 3 zones retenues pour l'étude ou du moins Alger et ses environs sont bien des zones au moins d'endémie pour ne pas dire d'hyperendémie pour la piroplasmose comme en Afrique.

3.1.2.2. Séropositivité et autres facteurs sanitaires

Dans notre série, ni la vaccination ni la vermifugation ne se sont révélées être des facteurs de risque ou des facteurs protecteurs. En fait, l'absence de significativité entre ces paramètres trouve son explication dans le fait que presque toutes les écuries retenues sont positives biaisant ainsi les résultats obtenus. Enfin, ce qui ressort ce cette étude, c'est que aussi bien la

vaccination que la vermifugation concernent presque exclusivement le cheval de compétition (100%) et à un moindre degré les deux autres activités, pour ne pas dire qu'elles sont inexistantes pour les chevaux de reproduction.

3.2. A l'échelle des écuries et de leur environnement

3.2.1. Séropositivité et gestion des écuries

A notre grand étonnement et compte tenu des résultats obtenus après analyse descriptive des caractéristiques de nos chevaux, nous nous attendions à ce que la gestion privée des écuries soit un facteur de risque de portage chronique du parasite. La gestion de ces écuries par des particuliers est associée à des chevaux destinés à la reproduction (100%), elle même facteur de risque, à un manque de propreté des écuries et de leur environnement. Cette dernière caractéristique retrouvée à la limite de la significativité (0.06) peut elle être considérée comme facteur de risque? La confirmation exigerait des échantillons de plus grande envergure.

3.2.2. Séropositivité et chevaux à proximité

La proximité d'autres chevaux, réservoir potentiel de parasites est également un facteur de risque. Différentes études réalisées de par le monde ont établi le lien entre la présence de bétail et de chevaux et la fréquence élevée du portage des 2 parasites (Kerber, et al., 1999).

3.2.3. Séropositivité et saison de prélèvement

La transmission de la piroplasmose dépend de l'activité saisonnière des tiques vectrices, de l'humidité et de la température de l'environnement. En effet la transmission est accrue lorsque les chevaux sont au pâturage pendant la période d'activité des tiques (Le Metayer, 2007)**.**

Prélever au printemps, phase d'activité de la tique (Soule, 1995) montre un seuil de non significativité (p= 0.06) avec la séropositivité.

Dans notre série, 28% des chevaux séropositifs ont été prélevés en été. Cette positivité trouve son explication dans le fait que toutes les zones considérées sont situées dans des zones humides à proximité de la verdure et à proximité de chevaux, tous ces facteurs étant propices au développement des tiques et à la transmission de la maladie. De plus notre pays est un pays

tempéré et dans les pays tempérés la tique a une longévité plus grande ainsi qu'une plus longue période d'activité.

3.2.4. Séropositivité et lutte contre les tiques

Dans notre série, la lutte contre les tiques est un facteur à la limite de la significativité (0.06) ; ce seuil limite peut il nous autoriser à le considérer comme un facteur protecteur de la maladie compte tenu que les tiques sont la principale source de transmission et de propagation de l'affection.

Au cours d'une étude faite au Japon sur des sérums prélevés entre 1971 et 1973, 5.4% des sérums étaient positifs à *B.caballi* et 2.2% à *T.equi* donc en très faible proportion. Depuis 1973, les tiques vectrices sont déclarées présentes au Japon mais aucune infection autochtone n'a été mise en évidence jusqu'à aujourd'hui. Les résultats de cette étude démontrent certainement l'intérêt des mesures utilisées en matière de lutte contre la transmission et la contamination (Guillot, 2002).

En Chine, *B.caballi* et *T.equi* sont présentes également en faibles proportions. L'affection est le plus souvent observée sous forme sporadique, mais de véritables épidémies ont pu être recensées. La mort de 1000 chevaux dans le Comté de Zhang et de 2000 dans la Province de Gansu durant l'été 1996 démontrent l'intérêt des mesures drastiques pour empêcher l'introduction de chevaux infectés dans les territoires indemnes (Guillot, 2002).

La lutte contre les tiques limite donc considérablement la contamination des chevaux.

Au Brésil, sur 720 chevaux répartis sur 28 écuries (Kerber, et al., 1999), les écuries ayant mis en place des programmes de lutte contre les tiques aussi bien sur le cheval que son environnement enregistrent les prévalences de *T.equi* et de *B.caballi* beaucoup plus réduites que dans les écuries ne disposant pas de programme de lutte (respectivement 9.4%/52.7% pour *B.equi* et 1.9%/15.5% pour *B.caballi* **).**

4. Séropositivité et parasitémie

Dans notre série, une parasitémie positive est présente dans 29 cas soit 15.9%. Le seul facteur exposant et de manière significative à la parasitémie est la proximité de chevaux dans l'entourage du cheval testé ; l'épidémiologie confirme ce fait, le cheval étant le réservoir pérenne pour *T.equi*.

La quantité d'anticorps contenue dans le sérum dépend de la réponse immunitaire de l'hôte et du délai entre l'infection et la prise de sang. Pour *T.equi*, il semble qu'une parasitémie discrète persiste tout au long de la vie du cheval ; les études les plus longues démontrant la persistance de l'infection un an et demi post infection (Sevinc, et al., 2008; Tenter & Friedhoff, 1986). Dans l'association tique-cheval, c'est le cheval par son portage latent de très longue durée qui représente le réservoir pérenne dans la survie de *T.equi*.

En présence d'une sérologie négative et après élimination de *B.caballi*, la présence de la parasitémie signe une infestation récente à ses premiers jours où la parasitémie est à ce stade à ses valeurs maximales et où les anticorps ne sont dépistés que plus tard.

La présence d'une parasitémie et d'une sérologie positives traduit une forte parasitémie ou une réinfestation et oriente vers *T.equi* où la parasitémie est plus élevée et la période de détection plus longue contrairement à l'infection à *B.caballi*. Ceci pourrait également être expliqué par un état de fin de la phase aigue, où les anticorps sont sécrétés à un taux détectable et où les parasites sont encore présents en nombre suffisant pour être observés.

Une sérologie positive associée à une parasitémie négative est retrouvée dans 83% des cas (tableau 20), cette donnée montre qu'il existe des chevaux porteurs chroniques ou porteurs sains de la piroplasmose à *T.equi*. Ces chevaux jouent un rôle primordial dans l'épidémiologie de la piroplasmose puisqu'ils constituent les principaux réservoirs de cette maladie.

Une parasitémie négative associée à une sérologie négative n'exclut en aucun cas une infection pas encore installée, où les parasites ne sont pas encore en nombre assez élevé pour être détectés.

Recommandations et stratégie de lutte contre la piroplasmose

Au terme de ce travail, nous proposons certaines recommandations dans le but d'améliorer le dépistage et la prise en charge de la piroplasmose. Des quelques facteurs de risque et de protection mis en évidence, tout gravite autour du cheval et de la tique. Le cheval par son portage latent de *T.equi* et la longévité plus grande de la tique adulte vectrice autorisent une grande diffusion du parasite.

Plusieurs questions se posent à nous : (1) Que savons-nous de la piroplasmose équine? (2) Que veut-on faire de cette piroplasmose équine? (3) A-t-on intérêt à éradiquer l'affection ou doit on limiter uniquement le nombre de chevaux atteints? (4) Quelles sont les mesures mises à notre disposition pour l'éradiquer ?

- **A l'échelle collective**

A l'heure actuelle, la non connaissance du statut sérologique réel de la piroplasmose dans la population de chevaux existants en Algérie prédispose à la propagation de l'affection. Elle impose un dépistage de masse qui est du ressort des seules autorités publiques et notamment du ministère de l'agriculture. Ce dépistage non obligatoire et très couteux exige l'adhésion de nombreux acteurs et est de ce fait irréalisable même à long terme.

En Algérie, le dépistage sérologique n'est pratiqué dans aucun centre ; le seul examen pratiqué est la recherche de parasites sur frottis sanguin coloré au MGG à visée diagnostique réalisé devant toute suspicion de piroplasmose.

- **A l'échelle individuelle**

Eradiquer totalement le portage des *Babesi* ou du moins limiter le nombre de chevaux atteints en évitant la contamination des chevaux sains passe par plusieurs étapes:

L'information

- La lutte contre la piroplasmose passe en premier et avant tout par la connaissance de l'affection et de ses spécificités épidémiologiques locales, notamment des facteurs de risque par le praticien vétérinaire.
- Donner un maximum d'information en matière de transmission et de prévention aux propriétaires et gestionnaires d'écuries ainsi qu'à leur personnel.

Pour limiter le nombre de chevaux malades

- La meilleure stratégie est d'éviter la contamination des chevaux sains et éliminer le portage chronique par des mesures complémentaires.
- Encourager l'immunité de prémunition et ne pas la contrôler c'est augmenter le nombre de porteurs chroniques et la chaine de transmission

Plusieurs moyens doivent être mis en place afin de lutter contre la propagation de la maladie:

- Isolement des porteurs, éviter leur déplacement dans la zone et hors de la zone de leur implantation.
- Veiller à la propreté de l'habitat du cheval et de son environnement en entretenant les pâtures et en détruisant toute la verdure possible pouvant servir de gites pour les tiques (broussailles, bois…).
- L'habitat du cheval doit au maximum l'isoler de son environnement : habitat dans un box au moins durant la nuit, loin du contact de la verdure, des points d'eau et des autres mammifères notamment le cheval.
- Lutte et protection contre les tiques vectrices en déparasitant l'écurie et son environnement par l'utilisation d'insecticides et de répulsifs.
- En traitant les chevaux avant que la babesi ne soit transmise au cheval par la tique, utilisation d'acaricides notamment sur les zones les plus en contact avec le sol. Cette méthode est limitée aux chevaux sains devant être déplacés en zone à risque.
- Destruction des biotopes des tiques en particulier au printemps et en automne.

Méthodes d'élevage et lutte contre la transmission

En attendant de rendre le dépistage sérologique possible même à l'échelle des éleveurs, il est conseillé de mettre en quarantaine les chevaux nouvellement introduits dans une écurie. Mais l'idéal serait de pouvoir pratiquer un test sérologique afin de déterminer son statut sérologique et d'entreprendre les mesures nécessaires.

Conclusion

Conclusion

L'étude des piroplasmoses équines, affections vectorielles dues à la multiplication intraérythrocytaire, chez les équidés, de parasites, *T.equi* ou *B.caballi*, revêt une grande importance tant sur le plan sanitaire que du point de vue économique et sportif. Plusieurs études épidémiologiques sont réalisées de par le monde afin de déterminer leurs prévalences, les caractéristiques des chevaux atteints ainsi que les stratégies de lutte à adopter contre l'affection.

En Algérie, nous ne disposons pas de données épidémiologiques concernant l'affection tant sur le plan de sa prévalence globale que sur la prévalence de chaque espèce (*B.caballi* et *T.equi*). Il n'existe pas non plus de données sur les caractéristiques des chevaux séropositifs ou encore, sur les facteurs de risque de l'affection.

La prévalence de la piroplasmose à *T.equi* chez le cheval est évaluée à 29.1% dans notre série. La région étudiée est donc une zone d'endémie. Cette prévalence ne reflète nullement la prévalence globale de l'affection mais permet d'en avoir une idée par extrapolation compte tenu des prévalences respectives de *B.caballi* et de *T.equi* données dans la littérature par les différentes études épidémiologiques.

Des facteurs de risque prédisposants à l'affection sont également individualisés dans ce travail, la plupart très comparables à ceux retrouvés dans la littérature à l'occasion d'études réalisées sur le sujet. D'autres facteurs restent à démontrer sur des études plus vastes.

Les résultats de cette modeste série permettent d'ores et déjà d'avoir une petite idée de la prévalence de l'affection notamment à *T.equi* dans Alger et ses environs, ainsi que des caractéristiques physiques, sanitaires et environnementales des chevaux séropositifs. Ces résultats encore une fois très modestes pourraient aider le praticien vétérinaire dans sa pratique quotidienne.

A l'étranger, la piroplasmose équine est un domaine très préoccupant et est la hantise du monde de l'équitation. En Algérie, cette affection et ses conséquences restent méconnues par les gestionnaires des écuries qu'ils soient propriétaires ou non.

Cette étude faite dans Alger et ses environs ouvre la voie à d'autres travaux de recherche. La piroplasmose continuera à susciter encore de nombreux soucis au monde du cheval et fera encore couler beaucoup d'encre.

Beaucoup de choses restent à élucider entres autres la prévalence globale de l'affection et de chaque type, les facteurs de risque prédisposants et enfin la stratégie à adopter pour lutter contre la transmission de la maladie et sa propagation.

Perspectives

Perspectives :

Cette étude a permis de faire le point sur la présence de la piroplasmose équine dans Alger et ses environs, elle ouvre également la porte à de nombreuses autres études.

Compte tenu de l'incidence des porteurs chroniques du parasite et des répercussions sanitaires et économiques néfastes engendrées, une étude de plus grande envergure visant à apprécier la prévalence globale de la piroplasmose et de celle de chaque espèce responsable ainsi que les facteurs prédisposants doit être réalisée en Algérie. Une meilleure connaissance de la pathologie sur le plan épidémiologique et sérologique permettra d'établir un plan de lutte plus efficace contre l'affection, étant donné les résultats retrouvés dans cette série.

Une meilleure connaissance des tiques vectrices des piroplasmoses équines présentes en Algérie est très importante et devra faire également l'objet d'une étude.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

Alhassan, A. et al., 2005. Development of a single-round and multiplex PCR method for the simultaneous detection of Babesia caballi and Babesia equi in horse blood. *Veterinary Parasitology,* 129(1-2), pp. 43-49.

Asgarali, Z. et al., 2007. A serological study of Babesia caballi and Theileria equi in Thoroughbreds in Trinidad. *Veterinary Parasitology,* 144(1-2), pp. 167-171.

Avarzed, A. et al., 1997. Prevalence of equine piroplasmosis in Central Mongolia. *the onderstepoort Jounrnal of Veterinary Research,* 64(2), pp. 141-145.

Baptistaa, C. et al., 2013. Diagnosis of Theileria equi infections in horses in the Azores using cELISA and nested PCR. *ticks and tick-borne diseases,* 4(3), pp. 242-245.

Baxter, 2013. *danger des tiques.* [En ligne]
Available at: http://www.zecken.de
[Accès le 01 04 2014].

Bibliomer, 2009. *Bibliomer.* [En ligne]
Available at:
http://www.bibliomer.com/documents/fiches/fiche_ensavoirplus_lien_PCR_vf.pdf
[Accès le 17 04 2014].

Cadore, J., Bourdoiseau, G. & Beugnet, F., 1995. Symptômes et traitement des babésioses équines. *Le Point Vétérinaire,* Volume 27, p. 123.

Camacho, A., 2005. Theileria (Babesia) equi and Babesia caballi infections in horses in Galicia, Spain. *Tropical Animal Health and Production,* Volume 37, pp. 293-302.

Chadufaux, C., 2008. *Prise en charge diagnostique et thérapeutique d'une hyperthermie apparemment isolée chez le cheval adulte.* Lyon: Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon.

Chastel, C., 2013. *Maladies liées à la morsure des tiques en France.* [En ligne]
Available at: http://www.maladies-a-tiques.com
[Accès le 31 03 2014].

Couroucé, A. & Desbrosse, F., 2010. *Maladies des chevaux 2ème édition.* s.l.:Editions France Agricole.

Fontaine, M. & Cadore, J.-L., 1995. *Vade-Mecum du vétérinaire 16ème édition.* s.l.:editions Vigot.

Fontenille, D. et al., 2009. *La lutte antivectorielle en France.* s.l.:IRD Editions.

Garcia-Bocanegra, I. et al., 2013. Seroprevalence and risk factors associated with Babesia caballi and Theileria equi in equids. *Veterinary Journal,* 195(2), pp. 172-178.

Gorenflot, A. & Piette, M., 1981. Aspects microscopiques observés au cours des deux premiers cas de babésiose humaine. *médecine et maladies infectieuses,* 11(6), pp. 334-338.

Grangeot-Keros, L., 2003. Réaction de fixation du complément. *EMC- Biologie Médicale,* Volume 90, p. 0295.

Guillot, J., 2002. *Etude de la prévalence et des facteurs de risque de la babésiose sur la population des chevaux en Camargue.* s.l.:Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Hanns-Jürgen, W., 1989. *maladies du cheval.* s.l.:Maloine.

Jassoum, S. B. & Fong, I. W., 2000. Babésiose post-transfusionnelle en Ontario: Premier cas signalé au Canada. *Relevé des maladies transmissibles au Canada*, 26(02).

Kerber, C., Ferreira, F. & Pereira, M., 1999. Control of equine piroplasmosis in Brazil. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research,* 66(2), pp. 123-127.

Le Metayer, G. A., 2007. *Seroprévalence des piroplasmoses équines en France entre 1997 et 2005.* Paris: Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.

Malardé, I. L., 2008. *ILM.* [En ligne]
Available at: http://www.ilm.pf/PCR
[Accès le 17 04 2014].

Marchal, C., 2011. *Campagne d'éradication de la babésiose bovine en Nouvelle Calédonie.* s.l.:Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.

Maslin, J. & Beugnet, F., 2004. Babésioses. *EMC- Maladies infectieuses,* 1(4), pp. 281-292.

Maurin, E., 2010. *guide pratique de médecine équine 2ème édition.* s.l.:Med'Com.

Melhorn, H. & Walldorf, V., 1988. life cycles In : Parasitology in focus. *Springer-Verlag,* pp. 1-147.

Merck, 2008. *la manuel vétérinaire 3ème édition française.* s.l.:editions d'après.

Metayer, G. A. L., 2007. *Seroprévalence des piroplasmoses équines en France entre 1997 et 2005.* Paris: Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.

Mujica, F. et al., 2011. Serological prevalence of Babesia caballi and Theileria equi in horses of Lara State, Venezuela. *Veterinary Parasitology,* 178(1-2), pp. 180-183.

Nozais, J.-P., 1996. Babésioses. Dans: *traité de parasitologie médicale.* Paris: éditions Pradel, pp. 139-146.

Nuttal, P. A. & Labuda, M., 2004. Tick–host interactions: saliva-activated transmission. *Parasitology,* Volume 129, pp. 177-189.

OIE, 2005. *manuel terrestre de l'OIE.* [En ligne]
Available at:
http://web.oie.int/fr/normes/mmanual/pdf_fr/Chapitre%20final05%202.5.6_piroplasmoses_%C3%A9q.pdf
[Accès le 3 mars 2014].

Perez-Eid, C., 2009. *les tiques: identification, biologie, importance médicale et vétérinaire.* Lavoisier éd. Paris: Editions TEC & DOC.

Poisson, G., 1998. *les babésioses équines.* Nantes: Thèse Méd. Vét..

Ribeiro, I., 2013. detection of theileria equi in spleen and blood of asymptomatic piroplasm carrier horses. *Acta parasitologica*, 58(2), pp. 218-222.

Rosales, R. et al., 2013. Detection of Theileria equi and Babesia caballi infections in Venezuelan horses using Competitive-inhibition ELISA and PCR. *Veterinary Parasitology*, 1 septembre, 196(1-2), pp. 37-43.

Salim, B. & Hassan, S., 2008. Diagnosis of Babesia caballi and Theileria equi infections in horses in Sudan using ELISA and PCR. *Parasitology Research,* Volume 103, pp. 1145-1150.

Schnittger, L., Rodriguez, A. E., Florin-Christensen, M. & Morrison, D. A., 2012. Babesia: A world emerging. *Infection, Genetics and Evolution,* Issue 12, pp. 1788-1809.

Sevinc, F. et al., 2008. A comparative study on the prevalence of Theileria equi and Babesia caballi infections in horse sub-populations in Turkey. *Veterinary Parasitology,* Volume 156, pp. 173-177.

Shkap, V. et al., 1998. Seroprevalence of Babesia equi among horses in Israel using Competitive Inhibition ELISA and IFA assays. *Veterinary Parasitology,* 76(4), pp. 251-256.

Silva, M. G., Grac, T., Suareza, C. E. & Knowlesa, D. P., 2013. Repertoire of Theileria equi immunodominant antigens bound by equine antibody. *molecular and biochemical parasitology,* Volume 188, pp. 109-115.

Soule, C., 1995. les babésioses équines. *Point Vet.,* 27(168), pp. 117-123.

Technobio, 2008. *Technobio.fr the biotechnological site for the future..* [En ligne]
Available at: http://www.technobio.fr/article-18589062.html
[Accès le 16 04 2014].

Tenter, A. & Friedhoff, K., 1986. Serodiagnosis of experimental and natural Babesia equi and Babesia caballi infections. *Veterinary Parasitology,* Volume 20, pp. 49-61.

Uilenberg, G., 2006. Babesia- A historical overview. *Veterinary Parasitology,* Volume 138, pp. 3-10.

Visee, E., 2007. *Intérêt de l'amplification génique (PCR) pour diagnostiquer les piroplasmoses canines en France.* s.l.:Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.

Voge, G., 2002. *Ecole Normale Supérieure de Lyon.* [En ligne]
Available at: http://www.ens-lyon.fr/RELIE/PCR/index.html
[Accès le 17 04 2014].

Xie, J., Liu, G., Tian, Z. & Luo, J., 2013. development pf loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for detection of Theileria equi. *acta tropica*, Septembre, 127(3), pp. 245-250.

Annexes

Annexe 1 : Questionnaire cheval

Numéro d'anonymat : **Date:**

IDENTIFICATION :

Responsable :

Nom : Adresse : Tel :

Cheval :

Nom: Date de naissance: Date d'acquisition:

CARACTERISTIQUES PHYSIQUES :

Sexe : Age :

Race:

Couleur de la robe:

CARACTERISTIQUES SANITAIRES :

Etat général : Bon Mauvais Muqueuses pales : Oui Non

Ictère : Oui Non Autres :

Gestante : Oui Non Pathologie associée : Oui Non

Si oui, Laquelle ? Vaccination : Oui Non

Vermifugation : Oui Non

ACTIVITE PRINCIPALE :

Compétition Reproduction Loisir Autres

LOGEMENT

	Jour	Nuit
Box	❑	❑
Abri	❑	❑
Pré	❑	❑

DEPLACEMENT :

Aucun Dans zone Hors zone

PRELEVEMENT

Date : Nombre de tubes de prélèvement : Frottis sanguin : Oui Non

Saison : Printemps Eté Automne Hiver

Annexe 2 : Questionnaire environnement

Numéro d'anonymat : **Date:**

IDENTIFICATION DE L'ECURIE :

Responsable :

Nom : Adresse : Tel :

Cheval :

Nom: Date de naissance: Date d'acquisition:

ZONE GEOGRAPHIQUE :

Zone 1 Zone 2 Zone 3

PERSONNEL SOIGNANT:

Oui Non

ETAT DE PROPRETE DE L'ECURIE :

Bonne Moyenne Mauvaise

PRESENCE DE POINTS D'EAU A PROXIMITE :

Aucun Etang Bassin Lac Mer

PRESENCE DE VEGETATION A PROXIMITE :

Aucune Herbe Arbres Bois

PRESENCE D'ANIMAUX A PROXIMITE :

Chevaux :

Espèce : Nombre : Logement :

Annexe 3 : Description de la technique cELISA

Test Validation

- The mean of the **Negative Controls** must have an optical density >0.300 and <2.000.
- The mean of the **Positive Controls** must have an inhibition of ≥ 40%.

Interpreting the Results

- If a test sample produces ≥ 40% inhibition, it is positive.
- If a test sample produces < 40% inhibition, it is negative.

Precautions

Kit components should be handled and disposed of as potentially hazardous. Do not eat, drink, or smoke where serum samples and kit reagents are handled. Do not pipette by mouth. Some reagents may be harmful if ingested. If ingested, seek medical attention. Do not use expired or contaminated reagents, or reagents from other kits or serials. Do not mix reagents from different serials of this same product.

Component B, Positive Control, contains ProClin 300 as a preservative.

Component C, Negative Control, contains ProClin 300 as a preservative.

Component D, 100X Primary Antibody, contains ProClin 300, methylisothiazolone, and bromonitrodioxane as preservatives.

Component E, 100X Secondary Antibody-Peroxidase Conjugate, contains ProClin 300, methylisothiazolone, bromonitrodioxane, and thimerosal as preservatives.

Component F, Antibody Diluting Buffer, contains ProClin 300, methylisothiazolone and bromonitrodioxane as preservatives.

Component G, Serum Diluting Buffer, contains ProClin 300 as a preservative.

Component J, Stop Solution, contains sodium fluoride.

USDA Veterinary License No. 332 Version 130809

PO Box 502
Pullman, WA 99163 USA

P: 509.334.5815
F: 509.332.5356

techserve@vmrd.com
www.vmrd.com

vmrd Veterinary Medical Research & Development

FOR VETERINARY USE ONLY
USDA Product Code 501B.20

BABESIA EQUI ANTIBODY TEST KIT, cELISA

Assay instructions for catalog numbers: 274-2 and 274-5

General Description

This competitive, enzyme-linked, immunosorbent assay (cELISA) detects *B. equi* antibodies in equine sera. Sample serum *B. equi* antibody inhibits binding of primary monoclonal antibody. The binding of primary monoclonal antibody to the antigen-coated plate is detected with HRP-labeled secondary antibody. Finally, the presence of HRP-labeled secondary antibody is quantified by the addition of enzyme substrate and subsequent color product development. Strong color development indicates little or no inhibition of primary monoclonal antibody binding and therefore the absence of *B. equi* antibody in sample sera. Weak color development due to inhibition of the primary monoclonal antibody binding to the antigen on the solid phase indicates the presence of *B. equi* antibodies in sample sera.

Kit Contents

Component	274-2	274-5
A Antigen-Coated Plates	2 plates	5 plates
B Positive Control	2 ml	4 ml
C Negative Control	2 ml	4 ml
D 100X Primary Antibody	0.3 ml	0.5 ml
E 100X Secondary Antibody-Peroxidase Conjugate	0.3 ml	0.5 ml
F Antibody Diluting Buffer	60 ml	120 ml
G Serum Diluting Buffer	10.5 ml	25ml
H 10X Wash Solution Concentrate	120 ml	2 × 120 ml
I Substrate Solution	30 ml	60 ml
J Stop Solution	30 ml	60 ml
This Insert		

Materials Required But Not Included in the Test Kit

Single and multichannel adjustable-volume pipettors and disposable plastic tips, test tubes or non-antigen-coated transfer plate(s), ELISA microplate absorbance spectrophotometer with 620, 630 or 650 nm filter, deionized or distilled water, paper towels, graduated cylinder, timer, multichannel pipettor reservoirs, wash bottle, manual multichannel washing device or automatic plate washer

Storage and Stability

Store all reagents at 2-7ºC. **Do not freeze.** Unopened reagents will remain stable until the expiration date when stored as instructed. **Do not use test kit past the expiration date printed on the box.**

Preparation

a. **Warm reagents:** Bring the serum samples, reagents and plate(s) to room temperature (23 ± 2ºC) prior to starting the test.

b. **Prepare controls and samples:** The Positive and Negative Controls (B & C) and test serum samples must be diluted 1/2 with Serum Diluting Buffer (G) for use in the test. It is recommended that these dilutions be made in a non-antigen-coated transfer plate. Load Positive Control (B) in duplicate and Negative Control (C) in triplicate, regardless of the number of serum samples to be tested. When whole plates are used, it is best to put the controls in wells on different areas of the plate. Controls must be loaded on every plate.

c. **Prepare plates:** Remove the plate(s) from the foil pouch(es) (A). If applicable: Return any unused strips to the pouch and securely seal it. Extra pouches and sealer are available from VMRD. Place strips to be used in the frame and number the top of each strip to maintain orientation. Always mark the strips in case they dislodge from the frame during washing.

d. **Prepare primary antibody:** Prepare 1X Primary Antibody by diluting 1 part of the 100X Primary Antibody (D) with 99 parts of Antibody Diluting Buffer (F). Example: For 96 wells, mix 60 µl of 100X Primary Antibody (D) with 5.940 ml of Antibody Diluting Buffer (F) to yield 6 ml of 1X Primary Antibody. Fifty microliters (50 µl) are needed per well.

e. **Prepare secondary antibody-peroxidase conjugate:** Prepare 1X Secondary Antibody-Peroxidase Conjugate by diluting 1 part of the 100X Secondary Antibody-Peroxidase Conjugate (E) with 99 parts of Antibody Diluting Buffer (F). Example: For 96 wells, mix 60 µl of 100X Secondary Antibody-Peroxidase Conjugate (E) with 5.940 ml of Antibody Diluting Buffer (F) to yield 6 ml of 1X Secondary Antibody-Peroxidase Conjugate. Fifty microliters (50 µl) are needed per well.

f. **Prepare wash solution:** Prepare 1X Wash Solution by diluting 1 part of the 10X Wash Solution Concentrate (H) with 9 parts of deionized or distilled water. Approximately 1.8 ml are needed per well. Allow extra quantity for reservoirs, tubing, pipetting, etc.

Test Procedure

1. **Load controls and serum samples:** Using a pipettor set at 50 µl, transfer diluted controls and serum samples to the Antigen-Coated Plate (A). Serum samples and controls should be loaded into the Antigen-Coated Plate (A) as quickly as possible. When running more than two strips, we recommend that the serum samples and controls be first loaded into a transfer plate and then transferred to the Antigen-Coated Plate (A) using multi-channel pipetting equipment. The sample volume in the transfer plate must be in excess of 50 µl in order to transfer 50 µl from it. Tap the side of the loaded assay plate several times to make sure the samples coat the bottom of the wells. Use care not to spill samples from well to well. Incubate the plate 30 minutes at room temperature (23 ± 2ºC).
2. **Wash wells:** After the 30-minute incubation, wash the plate 3 times: *If an automatic washer is used*, place the plate on the washing apparatus and wash plate 3 times, filling the wells each time with 1X Wash Solution. *If manual washing is used*, dump well contents and remove remaining sera and controls by sharply striking the inverted plate 4 times on a clean paper towel, striking a clean area each time. Immediately fill each well with 1X Wash Solution using a multichannel filling device or a wash bottle. Empty the wash solution from the plate and strike the inverted plate sharply on a clean paper towel as above. Fill and empty the plate by the same method 2 additional times for a total of 3 washes.
3. **Add primary antibody:** Add 50 µl of diluted (1X) Primary Antibody to each well. Tap the side of the loaded assay plate several times to make sure the primary antibody coats the bottom of the wells. Incubate for 30 minutes at room temperature (23 ± 2ºC).
4. **Wash wells:** After the second 30-minute incubation, wash the plate 3 times as in Step 2.
5. **Add secondary antibody-peroxidase conjugate:** Add 50 µl of diluted (1X) Secondary Antibody-Peroxidase Conjugate to each well. Tap the side of the loaded assay plate several times to make sure the conjugate coats the bottom of the wells. Incubate for 30 minutes at room temperature (23 ± 2ºC).
6. **Wash wells:** After the third 30-minute incubation, wash the plate 3 times as in Step 2.
7. **Add substrate solution:** Add 50 µl of Substrate Solution (I) to each well. Tap the side of the loaded assay plate several times to make sure the substrate coats the bottom of the wells. Incubate 15 minutes at room temperature (23 ± 2ºC). Avoid leaving the plate in direct sunlight. *Do not empty wells.*
8. **Add stop solution:** Add 50 µl of Stop Solution (J) to each well. Tap the side of the loaded assay plate several times to mix the Substrate Solution and the Stop Solution. *Do not empty wells.*
9. **Read and record the test results:** Immediately after adding the Stop Solution, the plate should be read on a microplate absorbance spectrophotometer. Set the optical density (O.D.) reading wavelength to 620, 630 or 650 nm. Blank the instrument on air and read plate(s). Some readers require an empty well on the plate for blanking. In this case, no reagents should be added to this well.
10. Return all remaining kit reagents to 2-7ºC for storage.

Calculation of % Inhibition (% I):

% I = 100 [1-(Sample O.D. ÷ NC O.D.)]

vmrd Veterinary Medical Research & Development

PO Box 502
Pullman, WA 99163 USA

P: 509.334.5815
F: 509.332.5356

techserve@vmrd.com
www.vmrd.com

Résumé

Les babésioses équines ou piroplasmoses équines sont des protozooses infectieuses, non contagieuses à transmission vectorielle. Inoculées par des tiques, *Babesia caballi* et *Theileria equi* sont les deux espèces en cause. A travers une étude prospective, descriptive et multicentrique, nous avons cherché à décrire et à analyser les caractéristiques des chevaux séropositifs sur une série de 182 chevaux. Notre but était également d'évaluer la séroprévalence de *T. equi* par un test cELISA. La prévalence de *T. equi* sur cette série est de 29.1%. Alger et ses environs est donc une zone de forte endémie. 80% de l'ensemble des écuries sont contaminées et ce quelque soit leur mode de gestion. L'étude de la séroprévalence est couplée à la recherche de la parasitémie évaluée sur frottis sanguins. 15.9% de nos chevaux ont une parasitémie positive. Des facteurs prédisposants ou à risque de la piroplasmose sont ainsi individualisés, certains trouvant leur explication et confirmant les données épidémiologiques. L'absence de signes cliniques dans notre série confirme l'état de forte endémie. Cette étude faite à Alger et ses environs ouvre la voie à d'autres travaux de recherche. Beaucoup de choses restent à élucider, entres autres la prévalence globale de l'affection ainsi que celle de chaque espèce, les facteurs de risque prédisposants et enfin la stratégie à adopter pour lutter contre la transmission de la maladie et sa propagation.

Mots clés

Piroplasmose, équine, babésiose, *Theileria equi*, *Babesia caballi*, facteurs de risque, épidémiologie, séroprévalence, cELISA.

Abstract

The equine babesiosis or equine piroplasmosis are infectious, non-contagious and vector-borne protozoan. *Babesia caballi* and *Theileria equi* are the two species involved, they are inoculated by ticks. Through a prospective and descriptive study, we sought to describe and analyze the seropositive horses particulars on a set of 182 horses. Our aim was also to assess the seroprevalence of *T.equi* using cELISA test. The prevalence of *T.equi* in this set is about 29.1%. So, Algiers is an endemic country. The absence of clinical signs in our study confirms the state of high endemicity. 80% of all stables are contaminated, whatever their management way is. The seroprevalence study is coupled to the research of the parasitaemia assessed upon blood smear. 15.9% of our horses have a positive parasitaemia. Predisposing or risk factors of piroplasmosis are thus individualized, some finding their explanation and confirming the epidemiological data. This study made in Algiers and its surroundings opens the way for further research. Much remains to be elucidated, such as among other things, the overall prevalence of the disease as well as that of each species, the predisposing risk factors and finally the strategy to fight against the transmission of the disease and its spread.

Keywords : Piroplasmosis, equine, Babesiosis, *Theileria equi*, *Babesia caballi*, risk factors, epidemiology, prevalence, seroprevalence, parasitaemia, infestation.

ملخص

يعد داء البابسيات الحصانية من الأوليات المنتقلة بالعدوى و لكن لا تنتقل عدواه عن طريق اتجاهي. و مرده تلقيح عن طريق القراد، البابسية الحصانية و التيلرية الخيلية نوعان المعنية. من خلال دراسة استكشافية و وصفية و كذا متعدد المراكز حولنا البحث عن وصف و تحليل مميزات الخيول الحاملة للفيروس على مجمعة من 182 حصانا. تمثل هدفنا أيضا في تقييم تفشي المصل ت.إيكوي *T.equi* ، باختبار اليزا c-ELIZA. و كان انتشار ت.إيكوي *T.*equi على هذه السلسلة 29.1 ٪ . 80 ٪ من جميع الإسطبلات تمت إصابتها بالعدوى و ذلك مهما كان نمط تسييرها . تم إقران دراسة انتشار المصلي مع البحث الخاص بالطفلية بتقدير مسحة دموية و لدى 15.9 ٪ من خيولنا طفيلية ايجابية. و عليه فإن العوامل المعرضة لذلك أو ذات خطر داء البابيسيات تعد مفرّدة، و البعض منها يتم تفسيره و تأكيده بالمعطيات الوبائية. هذا و قد تمت الدراسة في الجزائر العاصمة و ما جاورها بحث تفتح الطريق لبحوث أخرى و يظل الكثير للتوضيح و التفسير فعلى سبيل المثال لا الحصر الانتشار الشامل للداء وكذا لكل نوع ، عوامل الخطر التي تجعلها عرضة لذلك ; و في أخر المطاف الإستراتجية المعتمدة للكفاح ضد انتقال المرض و انتشاره.

الكلمات الجوهرية : داء البابيسيات – خيلي – بابيسيوس – ثيليريا إيكيو –بابيسيا كبالي– عوامل الخطر الوبائية انتشار المصلي