



HAL
open science

Séroprévalence et prévalence de *Babesia caballi* et *Theileria equi* chez les chevaux de trait en France : étude d'une zone pilote en région Auvergne-Rhône-Alpes

Claire Delaunay

► To cite this version:

Claire Delaunay. Séroprévalence et prévalence de *Babesia caballi* et *Theileria equi* chez les chevaux de trait en France : étude d'une zone pilote en région Auvergne-Rhône-Alpes. Médecine vétérinaire et santé animale. 2023. dumas-04032179

HAL Id: dumas-04032179

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04032179v1>

Submitted on 16 Mar 2023

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

Année 2023

**SÉROPRÉVALENCE ET PRÉVALENCE DE *BABESIA*
CABALLI ET *THEILERIA EQUI* CHEZ LES CHEVAUX DE TRAIT
EN FRANCE : ÉTUDE D'UNE ZONE PILOTE EN RÉGION
AUVERGNE-RHÔNE-ALPES**

THÈSE

pour obtenir le diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

la Faculté de Médecine de Créteil (UPEC)

le 08 février 2023

par

Claire DELAUNAY

Sous la direction de

Lélia BERTONI

JURY

Président du jury :	M. Jacques GUILLOT	Professeur à ONIRIS
Directrice de thèse :	Mme Lélia BERTONI	Maître de Conférences à l'EnvA
Examinateur :	M. Ludovic TANQUEREL	Maître de Conférence à l'EnvA
Invitée :	Mme Maud MARSOT	Chargée de projet de recherche à l'ANSES

version janvier 2023

Liste des Professeurs et Maîtres de conférences titulaires de l'HDR

M	Ajou	Karim	Professeur	DPASP
M	Audigié	Fabrice	Professeur	DEPEC
M	Bellier	Sylvain	Professeur	DSBP
M	Blaga	Radu	Professeur	DSBP
M	Blot	Stéphane	Professeur	DEPEC
M	Boulouis	Henri-Jean	Professeur émérite	DSBP
Mme	Chahory	Sabine	Professeur	DEPEC
M	Chateau	Henry	Professeur	DSBP
Mme	Chetboul	Valerie	Professeur	DEPEC
Mme	Crevier-Denoix	Nathalie	Professeur	DSBP
M	Degueurce	Christophe	Professeur	DSBP
M	Denoix	Jean-Marie	Professeur	DEPEC
M	Desquilbet	Loic	Professeur	DSBP
Mme	Dufour	Barbara	Professeur émérite	DPASP
M	Eloit	Marc	Professeur	DSBP
M	Fayolle	Pascal	Professeur émérite	DEPEC
M	Federighi	Michel	Professeur	DPASP
M	Fontbonne	Alain	Professeur	DEPEC
Mme	Gibert	Caroline	Professeur	DSBP
M	Grandjean	Dominique	Professeur	DEPEC
Mme	Grimard-Ballif	Bénédicte	Professeur	DPASP
Mme	Haddad-Hoang Xuan	Nadia	Professeur	DPASP
M	Jouvion	Gregory	Professeur	DSBP
M	Kohlhauer	Matthias	Professeur	DSBP
Mme	Le Poder	Sophie	Professeur	DSBP
M	Manassero	Mathieu	Professeur	DEPEC
Mme	Maurey-Guénec	Christelle	Professeur	DEPEC
M	Millemann	Yves	Professeur	DPASP
Mme	Pilot-Storck	Fanny	Professeur	DSBP
M	Ponter	Andrew	Professeur	DPASP
Mme	Risco-Castilo	Véronica	Maître de conférences HDR	DSBP
Mme	Rivière	Julie	Maître de conférences HDR	DPASP
Mme	Robert	Céline	Professeur	DSBP
M	Tiret	Laurent	Professeur	DSBP
M	Tissier	Renaud	Professeur	DSBP
M	Verwaerde	Patrick	Professeur	DEPEC
Mme	Viateau	Véronique	Professeur	DEPEC

Liste des Maîtres de conférences et Ingénieurs de recherche DMV

M	Amé	Pascal	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barassin	Isabelle	Maître de conférences	DPASP
Mme	Barbarino	Alix	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Benckroun	Ghita	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Bertoni	Léila	Maître de conférences	DEPEC
M	Bolnot	Francois	Maître de conférences	DPASP
Mme	Canonne-Guilbert	Morgane	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Chevalier	Lucie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Cochet-Falvre	Noëlle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Cordonnier-Lefort	Nathalie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Coudry	Virginie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Crepeaux	Guillemette	Maître de conférences	DSBP
M	Crozet	Guillaume	Maître de conférences	DPASP
Mme	De Paula Reis	Alline	Maître de conférences	DPASP
M	Delsart	Maxime	Maître de conférences associé	DPASP
Mme	Denis	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP
M	Deshuillers	Pierre	Maître de conférences	DSBP
M	Gauthier	Michel	Maître de conférences associé	DPASP
Mme	Guérin	Virginie	Maître de conférences	DSBP
Mme	Guélin-Poirier	Valentine	Maître de conférences	DPASP
Mme	Jacquet	Sandrine	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Kurtz	Maxime	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Lagré	Anne-Claire	Maître de conférences	DSBP
Mme	Le Dudal	Marine	Ingénieur de recherche (DMV)	DSBP
Mme	Le Roux	Delphine	Maître de conférences	DSBP
Mme	Legrand	Chantal	Maître de conférences associé	DSBP
M	Mammeri	Mohamed	Maître de conférences	DSBP
Mme	Manguin	Estelle	Maître de conférences	DEPEC
Mme	Marignac	Genevieve	Maître de conférences	DSBP
Mme	Marotto	Stéphanie	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Mauffré	Vincent	Maître de conférences	DPASP
Mme	Maurice	Emeline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Mespoules-Rivière	Céline	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Mitimet	Narjès	Maître de conférences	DPASP
M	Mortier	Jérémy	Maître de conférences associé	DEPEC
M	Nudelmann	Nicolas	Maître de conférences	DEPEC
M	Pignon	Charly	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
M	Potack	Bruno	Maître de conférences	DSBP
Mme	Quéré	Émille	Ingénieur de recherche (DMV)	DEPEC
Mme	Ravary-Plumioën	Bérangère	Ingénieur de recherche (DMV)	DPASP
M	Reyes-Gomez	Edouard	Maître de conférences	DSBP
Mme	Rose	Hélène	Maître de conférences associé	DSBP
M	Tanquerel	Ludovic	Maître de conférences	DEPEC

Remerciements

Au Président du Jury de cette thèse Mr Jacques GUILLOT, Professeur à ONIRIS,
Qui nous fait l'honneur de présider notre jury,
Hommages respectueux.

À Mme Lélia BERTONI, Maître de conférences à l'EnvA,
Qui a accepté d'encadrer ce travail de thèse,
Pour vos corrections et encouragements,
Sincères remerciements.

À M. Ludovic TANQUEREL, Maître de conférences à l'EnvA,
Qui a accepté de participer à ce jury,
Sincères remerciements.

À Mme Maud MARSOT, Chargée de projet de recherche à l'ANSES,
Sans qui ce travail ne serait pas,
Pour votre patience et l'ensemble de vos corrections si rapidement transmises,
Sincères remerciements.

À Mme Clémence NADAL, Doctorante à l'ANSES,
Merci de m'avoir incluse dans cette thèse complexe mais passionnante,
Pour ce travail titanesque d'organisation du terrain,
Bravo et bonne continuation à toi.

Au Dr. Claire CHANET,
Pour ce terrain mémorable et ces questions auxquelles nous n'avons pas toujours su répondre,
Un grand merci.

Table des matières

Liste des figures.....	3
Liste des tableaux	5
Liste des abréviations.....	7
Introduction	9
Partie 1 : Les piroplasmoses équine.....	11
1. Parasites responsables de la piroplasmose équine et modes de transmission.....	11
A. <i>Babesia caballi</i>	11
a. Description.....	11
b. Cycle de vie.....	12
B. <i>Theileria equi</i>	14
a. Description.....	14
b. Cycle de vie.....	15
C. Modes de transmission.....	17
a. Transmission naturelle par un vecteur compétent.....	17
b. Transmission transplacentaire.....	18
c. Transmission iatrogénique.....	18
2. Epidémiologie des piroplasmoses équine.....	19
A. Distribution géographique.....	19
B. Prévalence et séroprévalences des piroplasmoses.....	19
a. Dans le monde.....	19
b. En Europe.....	21
c. En France.....	23
C. « Facteurs de risques » identifiés.....	25
3. Présentation clinique des piroplasmoses équine.....	28
A. Réponse immunitaire à l'infection piroplasmique.....	28
a. Rôle de l'immunité innée.....	28
b. Rôle de l'immunité adaptative.....	29
B. Piroplasmose à <i>Babesia caballi</i>	31
a. Signes cliniques (Lemetayer, 2007) (Wise et al., 2013).....	31
b. Signes hématologiques et biochimiques (Lemetayer, 2007) (de Waal, 1992) (Onyiche et al., 2019).....	33
c. Lésions observées à l'autopsie (de Waal, 1992; Onyiche et al., 2019; Wise et al., 2013).....	33
d. Lésions observées à l'examen histologique (Wise et al., 2013).....	34
C. Piroplasmoses à <i>Theileria equi</i>	34
a. Signes cliniques (Cadoré et al., 1995; de Waal, 1992; Lemetayer, 2007).....	34
b. Signes hématologiques et biochimiques (Onyiche et al., 2019; Wise et al., 2013).....	36
c. Lésions observées à l'autopsie et à l'examen histologique.....	36
D. Diagnostic.....	37
a. Diagnostic épidémiologique et clinique.....	37
b. Diagnostic direct.....	38
c. Diagnostic indirect.....	40
E. Traitement.....	44
a. Molécules utilisées.....	44
F. Mesures de prévention.....	47
a. Surveillance des imports.....	47
b. Prévention dans la gestion d'élevage.....	47
c. Prévention dans la pratique vétérinaire.....	48
Partie 2 : Etude expérimentale	49
1. Matériel et méthodes.....	49
A. Collecte des données.....	49

<i>B. Prélèvements sur le terrain</i>	51
a. Données sur les pratiques d'élevage	51
b. Données individuelles	51
c. Données environnementales sur les pâtures	52
<i>C. Collecte, envoi et analyse des échantillons sanguins</i>	53
a. Collecte et envoi des prélèvements	53
b. Analyse des prélèvements	54
<i>D. Analyses statistiques</i>	54
a. Constitution de la base de données	54
b. Analyse descriptive	55
c. Modèles statistiques	55
2. Résultats	56
<i>A. Collecte de données</i>	56
<i>B. Analyses statistiques</i>	57
a. Description des données	57
b. Séroprévalence et prévalence de <i>B. caballi</i> et <i>T. equi</i>	64
c. Résultats sérologiques et PCR dans l'échantillon en fonction des variables individuelles, liées aux pratiques d'élevage et environnementales	65
d. Séroprévalence et prévalence de <i>T. equi</i>	68
e. Double séropositivité et co-infections	72
<i>C. Etude analytique</i>	77
a. <i>Babesia caballi</i>	77
b. <i>Theileria equi</i>	81
c. Conclusion de l'étude analytique	85
3. Discussion	86
<i>A. Discussion de nos résultats</i>	86
a. <i>Babesia caballi</i>	86
b. <i>Theileria equi</i>	90
c. Double séropositivité	94
d. Co-infections	95
<i>B. Limites de l'étude</i>	96
a. Matériel et méthodes	96
<i>C. Perspectives</i>	99
Conclusion	101
Liste des références bibliographiques	103
Annexe 1 : Questionnaire éleveur	109
Annexe 2 : Fiche cheval	115
Annexe 3 : Fiche pâture	117
Annexe 4 : Script R	119

Liste des figures

Figure 1 : Aspects de <i>Babesia caballi</i> dans un érythrocyte (Lemetayer, 2007)	11
Figure 2 : Schéma morphologique de <i>Babesia caballi</i> (Mahmoud <i>et al.</i> 2020)	12
Figure 3 : Cycle de <i>Babesia caballi</i> (Wise <i>et al.</i> 2013)	13
Figure 4 : Aspects de <i>Theileria equi</i> dans un érythrocyte (Lemetayer, 2007)	14
Figure 5 : Cycle de <i>Theileria equi</i> (Wise <i>et al.</i> 2013)	15
Figure 6 : Modes de transmission possibles de la piroplasmose (Onyiche <i>et al.</i> 2019)	17
Figure 7 : Carte de la prévalence mondiale de <i>T. equi</i> (Tirosh-Levy <i>et al.</i> 2020)	20
Figure 8 : Carte de la prévalence mondiale de <i>B. caballi</i> (Tirosh-Levy <i>et al.</i> 2020)	20
Figure 9 : Aire endémique de la piroplasmose en Europe. Modifié d'après (Lemetayer, 2007)	21
Figure 10 : Séropositivité à <i>Theileria equi</i> en France de 1981 à 1996 (Soule <i>et al.</i> , 1998)	24
Figure 11 : Séropositivité à <i>Babesia caballi</i> en France de 1981 à 1996 (Soule <i>et al.</i> , 1998)	24
Figure 12 : Cinétique des anticorps après une infection expérimentale à <i>B. caballi</i> (Guillot, 2002)	30
Figure 13 : Cinétique des anticorps après une infection expérimentale à <i>T. equi</i> (Guillot, 2002)	31
Figure 14 : Piroplasmose à <i>Babesia caballi</i> : Principaux signes clinique et évolution de la parasitémie dans le temps (Cadore <i>et al.</i> , 1995)	32
Figure 15 : Piroplasmose à <i>Theileria equi</i> : Principaux symptômes et évolutions de la parasitémie dans le temps (Cadore <i>et al.</i> , 1995)	35
Figure 16 : Frottis sanguins de chevaux infectés par <i>Babesia caballi</i> (à gauche, forme bigéminée) et par <i>Theileria equi</i> (à droite, en tétrade ou "Croix de Malte") en coloration Giemsa (Onyiche <i>et al.</i> , 2019)	39
Figure 17 : Frottis sanguins contenant des mérozoïtes intra-érythrocytaires de <i>Babesia caballi</i> (à gauche) et <i>Theileria equi</i> (à droite), Coloration Diff Quik®. X100. Huile à immersion (Wise <i>et al.</i> , 2013)	39
Figure 18 : Schématisation de la technique de l'IFAT	41
Figure 19 : Schéma d'un test d'immuno-chromatographie	43
Figure 20 : Caractéristiques des zones étudiées. A gauche : l'index de végétation de zones étudiées. A droite : l'altitude. Les zones 1 et 2 sont celles considérées dans cette étude, les zones 3 et 4 sont étudiées dans la thèse du Dr NADAL. D'après (Nadal, 2020)	50
Figure 21 : Tique en déplacement sur le garrot d'un cheval de l'étude	52
Figure 22 : Retrait d'une tique du poitrail d'un cheval de l'étude	52
Figure 23 : Exemple d'une pâture en zone 2, comprenant une forêt dans la pâture et à proximité directe	53
Figure 24 : Tubes de prélèvements envoyés au laboratoire	53
Figure 25 : Répartition des races dans les élevages et effectifs prélevés	57
Figure 26 : Age des chevaux de l'échantillon et en fonction de la zone	58
Figure 27 : Nombre de tiques par cheval dans l'échantillon et en fonction de la zone	59
Figure 28 : Utilisation des APE dans les élevages étudiés en fonction de la zone	60
Figure 29 : Fréquence d'utilisation des API dans les élevages étudiés en fonction de la zone	61
Figure 30 : Chargement des pâtures dans l'échantillon et en fonction de la zone	62
Figure 31 : Couvert forestier des pâtures en fonction de la zone	63
Figure 32 : Random forest du modèle 1 pour la séropositivité à <i>B. caballi</i>	77
Figure 33 : Random forest du modèle 2 pour la positivité à <i>B. caballi</i>	79
Figure 34 : Random forest du modèle 3 pour la séropositivité à <i>T. equi</i>	81
Figure 35 : Random forest du modèle 4 pour la positivité à <i>T. equi</i>	83

Liste des tableaux

Tableau 1 : Séroprévalence et prévalence européennes de <i>B. caballi</i> et <i>T. equi</i> , d'après le travail de revue de S. Tirosh-Levy (Tirosh-Levy <i>et al.</i> , 2020).....	22
Tableau 2 : Séroprévalences et prévalences de <i>B. caballi</i> et <i>T. equi</i> en Europe, d'après le travail de revue de C. Nadal (Nadal <i>et al.</i> , 2021).....	22
Tableau 3 : Prévalences de <i>B. caballi</i> et <i>T. equi</i> en Europe, d'après le travail de revue de C. Nadal (Nadal <i>et al.</i> , 2021).....	23
Tableau 4 : Prévalence des infections à <i>B. caballi</i> et <i>T. equi</i> dans le sud de la France et en Corse (Fritz, 2010 ; Dahmana <i>et al.</i> , 2019).....	25
Tableau 5 : Colorations utilisables en coloration de frotti sanguins pour observation de piroplasmes intra-érythrocytaires.....	38
Tableau 6 : Séroprévalence et prévalence dans l'échantillon avec intervalles de confiance à 95%.....	64
Tableau 7 : Résultats sérologiques et PCR pour <i>B. caballi</i> en fonction des variables individuelles.....	65
Tableau 8 : Résultats sérologiques et PCR pour <i>B. caballi</i> en fonction des pratiques d'élevage.....	66
Tableau 9 : Résultats sérologiques et PCR pour <i>B. caballi</i> en fonction des variables environnementales.....	67
Tableau 10 : Résultats sérologiques et PCR pour <i>T. equi</i> en fonction des variables individuelles.....	69
Tableau 11 : Résultats sérologiques et PCR pour <i>T. equi</i> en fonction des pratiques d'élevage.....	70
Tableau 12 : Résultats sérologiques et PCR pour <i>T. equi</i> en fonction des variables environnementales.....	71
Tableau 13 : Résultats sérologiques et PCR pour <i>B. caballi</i> et <i>T. equi</i> en fonction des variables individuelles.....	73
Tableau 14 : Résultats sérologiques et PCR pour <i>B. caballi</i> et <i>T. equi</i> en fonction des pratiques d'élevage.....	74
Tableau 15 : Résultats sérologiques et PCR pour <i>B. caballi</i> et <i>T. equi</i> en fonction des variables environnementales.....	75
Tableau 16 : Odd ratio et intervalle de confiance du modèle exprimant la séropositivité à <i>B. caballi</i> en fonction de l'âge, du portage de tiques, de la race, du nombre de chevaux dans la pâture, de la présence de forêt dans la pâture et à proximité directe de la pâ	78
Tableau 17 : Odd ratio et intervalle de confiance du modèle exprimant la positivité à <i>B. caballi</i> en fonction de l'âge et du portage de tiques.	80
Tableau 18 : Odd ratio et intervalles de confiance du modèle exprimant la séropositivité à <i>T. equi</i> en fonction de la taille de la pâture, du portage de tiques et du couvert végétal.....	82
Tableau 19 : Odd ratio et intervalle de confiance du modèle exprimant la positivité à <i>T. equi</i> en fonction du portage de tiques, de l'usage d'API, du couvert végétal, de la présence de forêt à proximité de la pâture et de l'âge.....	84
Tableau 20 : Résultats de l'étude analytique.....	85

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ALAT : Alanine aminotransférase

APE : Antiparasitaire externe

API : Antiparasitaire interne

ASAT : Aspartate aminotransférase

B. caballi : *Babesia caballi*

CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

CIVD : Coagulopathie intravasculaire disséminée

CK : Créatinine kinase

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assays

EMA : Antigènes de mérozoïtes équine

GGT : Gamma-glutamyltranspeptidase

IFAT : Indirect Fluorescent Antibody Test

IFCE : Institut Français du Cheval et de l'élevage

Ig : Immunoglobuline

LAMP : Loop associated isothermal amplification

LDH : Lactate déshydrogénase

OIE : Organisation mondiale de la santé animale

PAL : Phosphatases alcalines

PCR : Polymerase chain reaction

RAP-1 : Protéine rhoptry-associée 1

RCP : Résumé des caractéristiques du produit

RtPCR : Reverse transcriptase polymerase chain reaction

SCID : Déficit immunitaire combiné sévère

SFET : Société française des équidés de travail

SIRS : Syndrome de réponse inflammatoire systémique

T. equi : *Theileria equi*

TGMH : Taux globulaire moyen en hémoglobine

TNFalpha : Facteurs de nécrose tumorale alpha

VGM : Volume globulaire moyen

Introduction

La piroplasmose équine est une maladie parasitaire vectorielle. Elle est causée par les protozoaires *Theileria equi* et *Babesia caballi* transmis par des tiques dures aux équidés cibles pouvant être les chevaux, les ânes, les mules et les zèbres. Il s'agit de la « maladie à tiques » la plus fréquente chez les équidés. On rapporte entre 5 et 10% de mortalité lors d'infection de chevaux naïfs en fonction du parasite et de l'état général de l'animal (Wise *et al.*, 2013).

Elle peut aussi être appelée malaria équine, fièvre à tique du cheval, fièvre biliaire équine, babésiose ou theileriose équine (Onyiche *et al.*, 2019).

L'impact de cette maladie est principalement sanitaire et économique. Sanitaire d'abord car les différentes formes de piroplasmoses vont de la simple baisse d'état général à la mort de l'équidé. Economique ensuite car le coût des traitements, de la baisse de performance, de la mort de l'animal ou sa perte de valeur économique à l'export en cas de séropositivité sont non négligeables tant à l'échelle du propriétaire qu'à l'échelle mondiale.

Actuellement, la prévalence et de la séroprévalence des piroplasmoses équines à échelle mondiale et nationale demeurent méconnues. Cela s'explique en partie par l'abondance des animaux asymptomatiques ainsi que le peu d'études menées sur le sujet à l'échelle nationale. La France compte pourtant environ un million d'équidés d'après l'IFCE (Institut Français du Cheval et de l'Équitation), huit pourcents d'entre eux étant des chevaux de trait (Lostfeld, 2021) .

Pour les raisons citées précédemment, on souhaite étudier l'épidémiologie de la maladie, dans un contexte de dérèglement climatique impliquant une modification de la répartition des tiques vectrices de piroplasmoses.

Cette thèse présente une étude expérimentale de terrain menée entre le Cantal et le Puy-de-Dôme ayant pour but premier de décrire la prévalence ainsi que la séroprévalence de *Theileria equi* et à *Babesia caballi* chez les chevaux de trait en région Auvergne-Rhône-Alpes. Le choix des chevaux de trait réside dans l'homogénéité de leurs conditions d'élevage qui impliquent un pâturage à l'année donc une plus forte exposition aux tiques, ainsi que dans l'importance de leur effectif.

Le second objectif de cette thèse est d'identifier d'éventuels facteurs de risques ou facteurs protecteurs de la piroplasmose chez les équidés.

Nous commencerons par un rappel des cycles, des modes de transmission respectifs de nos deux parasites d'intérêt, ainsi que de leur épidémiologie à différentes échelles. Nous évoquerons également les aspects cliniques de la maladie, avec les méthodes de diagnostic, les traitements envisageables et les mesures de prévention citées actuellement. Après ces rappels bibliographiques nous présenterons les modalités de notre étude et ses résultats. Nous finirons par la discussion de ces résultats et leur mise en perspective.

Partie 1 : Les piroplasmoses équine

1. Parasites responsables de la piroplasmose équine et modes de transmission

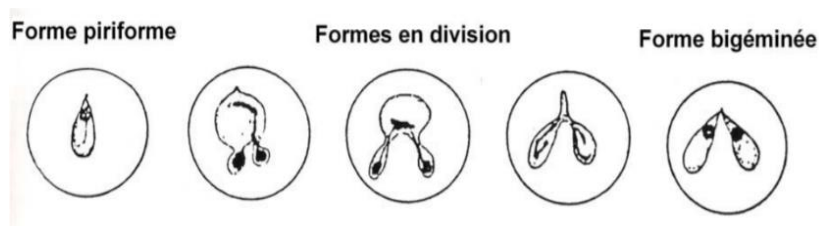
Babesia caballi et *Theileria equi* sont deux Eucaryotes, du règne des Chromoalveolata, division des Alveolata, embranchement des Apicomplexa, classe des Aconoidasida, ordre des piroplasmida. *Babesia caballi* appartient à la famille des Babesiidae, *Theileria equi* à celle des Theileriidae (WIKIPEDIA, 2022a, 2022b).

A. *Babesia caballi*

a. Description

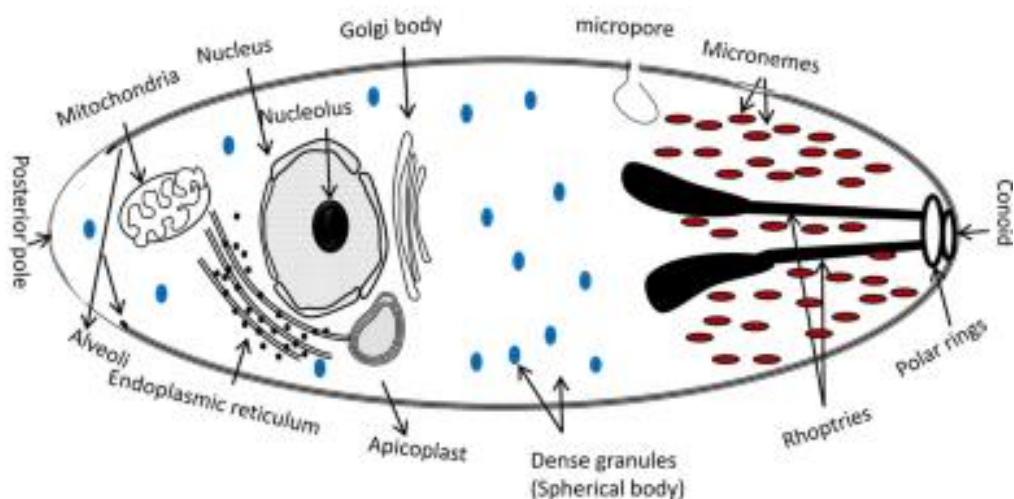
Le piroplasma *Babesia caballi* est endo-érythrocytaire. Il est piriforme et mesure entre 2 et 5 μm de longueur pour 1,3 à 3 μm de diamètre. Il en existe plusieurs formes visibles selon le stade observé : piriforme, bigéminée ou en division présentées dans la *Figure 1* (Lemetayer, 2007).

Figure 1 : Aspects de *Babesia caballi* dans un érythrocyte (Lemetayer, 2007)



Les RAP-1, protéines associées aux rhoptries (organites sécrétoires du complexe apical des apicomplexa), le gène codant les RAP-1, ainsi que les protéines de corps sphériques ont un intérêt dans les détections sérologiques et PCR de *B. caballi* (Mahmoud *et al.*, 2020) (Rüegg *et al.*, 2007). Ces organites sont présentés dans la *Figure 2* ci-après.

Figure 2 : Schéma morphologique de *Babesia caballi* (Mahmoud *et al.* 2020)



b. Cycle de vie

(Holbrook, 1969; Holbrook *et al.*, 1968; Mehlhorn et Schein, 1985; Onyiche *et al.*, 2019; Uilenberg, 2006)

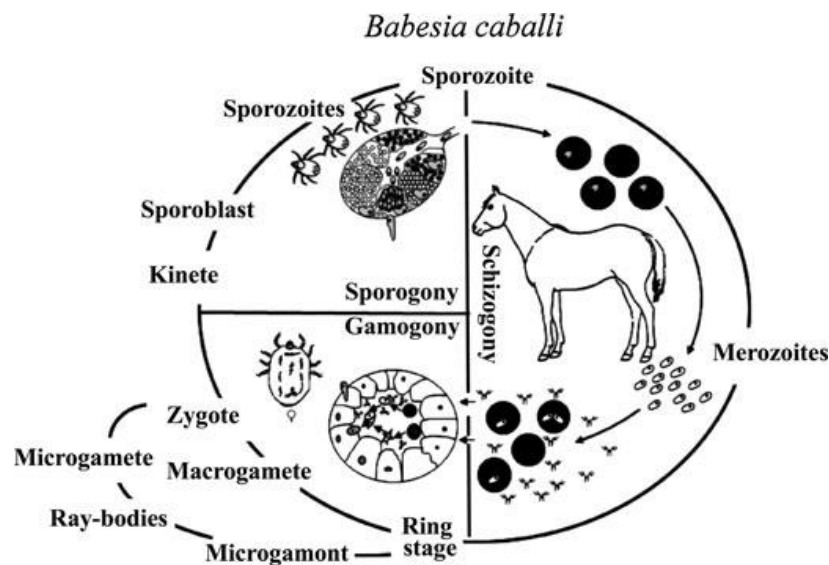
Le cycle de *Babesia caballi* comprend un passage obligatoire par un hôte intermédiaire appartenant aux tiques dures (*Ixodes*, *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus*). Cet hôte intermédiaire permet le passage du protozoaire à l'équidé. La période d'incubation dure 7 à 30 jours.

Trois stades se succèdent dans son développement :

- un stade de reproduction asexué chez l'hôte (mérogonie),
- un stade de reproduction sexué dans le tube digestif de la tique (gamogonie),
- un stade de multiplication asexuée dans les glandes salivaires de la tique (sporogonie).

Ces stades sont présentés dans la *Figure 3* ci-dessous.

Figure 3 : Cycle de *Babesia caballi* (Wise et al. 2013)



i. Chez l'hôte vertébré (ici l'équidé) : la mérogonie

Comme illustré en *Figure 3*, lorsque la tique infectée se nourrit sur un hôte naïf, les sporozoïtes envahissent les érythrocytes. Ces sporozoïtes grossissent, leur cytoplasme se forme et ils deviennent annulaires : ce sont alors des trophozoïtes. Les trophozoïtes se multiplient ensuite par reproduction asexuée, par bourgeonnement, pour donner des cellules filles piriformes appelées mérozoïtes : c'est la mérogonie. Les mérozoïtes peuvent être libérés dans le flux sanguin par passage transmembranaire ou par érythrolyse. Après érythrolyse les mérozoïtes peuvent :

- rester libres dans le plasma,
- se fixer à la surface d'érythrocytes,
- infecter d'autres érythrocytes,
- être phagocytés par des lymphocytes,
- entrer en dégénérescence
- évoluer en formes circulaires qui ne se divisent plus appelés gamétocytes.

ii. Chez la tique : la gamogonie et la sporogonie

Lorsqu'une tique naïve se nourrit sur un équidé infecté elle ingère des mérozoïtes et des gamétocytes. De nombreux mérozoïtes sont détruits dans le tractus digestif de la tique. Ceux qui survivent le font en formant des sortes d'amas où la gamogonie est rendue possible (Euzéby, 1988; Holbrook, 1969).

La gamogonie, qui est la transformation des gamétocytes en gamètes, ne peut se faire que chez les tiques femelles adultes. Les gamètes s'unissent par paires pour

former des kinètes primaires appelés ookinètes : c'est la fécondation. Ces ookinètes pénètrent la paroi intestinale de la tique où ils forment des sporokinètes : c'est la sporogonie. Les sporokinètes passent ensuite dans l'hémolymphe et colonisent divers organes de la tique comme les ovaires et les tubes de Malpighi, organes excréteurs des arthropodes.

Il existe une transmission transovarienne de *Babesia caballi* : grâce à la colonisation des ovaires, certains sporokinètes seront transmis aux larves où ils pourront poursuivre le cycle lors du repas sanguin de celles-ci sur un hôte vertébré. Ainsi, une tique infectée par *Babesia caballi* le reste à vie, et en assure la transmission à ses descendantes.

La transmission trans-stadiale correspond à la persistance des sporokinètes des glandes salivaires de la larve qui s'est infectée lors de son premier repas sanguin jusqu'au stade de la nymphe et de l'adulte (Wise *et al.*, 2013). Ces sporozoïtes sont infestants environ 5 jours après le début du gorgement de la tique.

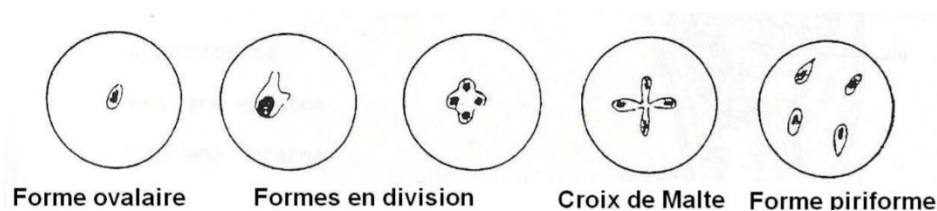
Les équidés constituent un réservoir de *Babesia caballi* dont la multiplication asexuée se poursuit jusqu'à assainissement par le système immunitaire ou à la mort de l'animal. Les chevaux restent généralement porteurs 1 à 4 ans après inoculation, période pendant laquelle ils restent une source d'infection pour les tiques (Guidi *et al.*, 2015).

B. *Theileria equi*

a. Description

Theileria equi est un piroplasma endo-érythrocytaire ou endo-lymphocytaire de forme arrondie mesurant 2 à 3 μm de long pour 1 à 2 μm de diamètre. On peut l'observer sous plusieurs formes au microscope, la plus caractéristique appelée « en croix de Malte » est retrouvée lors de sa phase de multiplication asexuée. Il existe les formes ovalaires, en division et piriforme présentées en *Figure 4*. Cette dernière correspond au stade de gamétocyte (multiplication sexuée) (Lemetayer, 2007; Uilenberg, 2006).

Figure 4 : Aspects de *Theileria equi* dans un érythrocyte (Lemetayer, 2007)



La morphologie de *Theileria equi* est très proche de celle de *Babesia caballi* présentée plus haut en *Figure 2*.

En sérologie, on recherche un antigène de surface de *T. equi* nommé EMA-1, fortement conservé entre les différentes lignées (Wise *et al.*, 2013).

Lors d'analyse PCR, on recherche le gène codant EMA-1, ou le gène 18S rRNA (Rüegg *et al.*, 2007).

b. Cycle de vie

Comme pour *Babesia caballi*, le cycle de *Theileria equi* nécessite un hôte intermédiaire appartenant aux tiques dures. Il existe un grand nombre de variations dans le cycle de *Theileria equi* en fonction du type de tique impliqué. La période d'incubation dure 10 à 19 jours. Quatre stades se succèdent entre hôte et tiques :

- un stade de reproduction asexué dans les lymphocytes du sang périphérique de l'hôte (schizogonie),
- un stade de reproduction asexué chez l'hôte (mérogonie),
- un stade de reproduction sexué dans le tube digestif de la tique (gamogonie),
- un stade de multiplication asexuée dans les glandes salivaires de la tique (sporogonie).

Ces stades sont présentés dans la *Figure 5* ci-dessous.

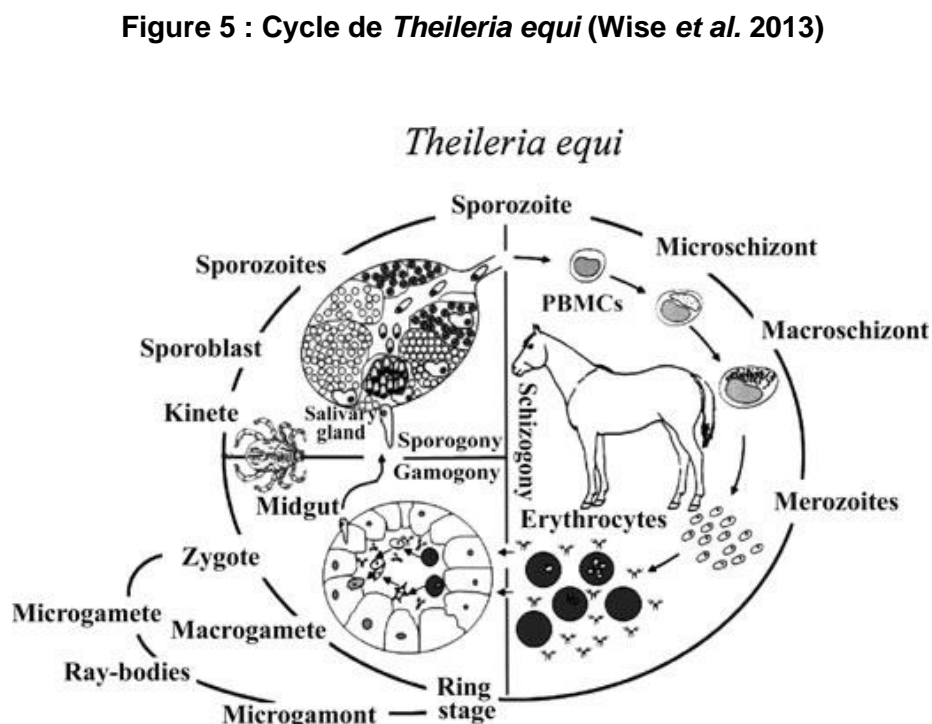


Figure 5 : Cycle de *Theileria equi* (Wise *et al.* 2013)

i. Chez l'hôte vertébré (ici l'équidé) : schizogonie et mérogonie

Lorsque la tique infectée se nourrit sur un hôte naïf, elle introduit des sporozoïtes qui vont envahir les lymphocytes en circulation dans le sang. Ceux-ci passent par les nœuds lymphatiques dès 14 jours après inoculation, puis le foie et la rate.

Dans les 6 jours après contamination, les sporozoïtes donnent des microschizontes se multipliant dans les cellules, conduisant à une hyperplasie et une dédifférenciation des cellules immunitaires.

Dans les 12 jours après introduction, les microschizontes se transforment en macroschizontes, qui provoquent une lyse des lymphocytes hypertrophiés les contenant.

Les macroschizontes donnent ensuite des centaines de mérozoïtes piriformes qui peuvent envahir les hématies dès 12 jours post-inoculation. Ce sont eux que l'on observe au microscope en "croix de Malte". Ils évoluent alors en piroplasmés capables de se diviser et de retourner à l'état libre dans le flux sanguin par passage transmembranaire ou par érythrolyse, entretenant ainsi le cycle de réplication du parasite.

Dans les érythrocytes les piroplasmés peuvent se transformer en gamétocytes annulaires, formes infestantes pour les tiques.

ii. Chez la tique : la gamogonie et la sporogonie

Les gamétocytes annulaires intra-érythrocytaires sont ingérés par une larve ou une nymphe naïve lors de son repas sanguin. Les gamétocytes produisent alors des macrogamètes (directement dérivés des gamétocytes) et des microgamètes (issus de la division des gamétocytes en quatre par processus asexué).

Environ 6 jours après le repas sanguin, un zygote est formé dans le tractus digestif de la tique par syngamie qui est la fusion d'un macrogamète et d'un microgamète (réplication sexuée).

Du 12^{ème} au 30^{ème} jour après le repas sanguin, lors de la transformation de la larve en nymphe ou de la nymphe en adulte, les zygotes forment des kinètes. Ces kinètes traversent la paroi gastrique pour passer dans l'hémolymphe et colonisent exclusivement les glandes salivaires de la tique. Ce n'est que lors de la fixation de la tique à un nouvel hôte vertébré que les kinètes forment des sporontes, puis des sporoblastes par division, et enfin des sporozoïtes qui seront infectants lors de la morsure.

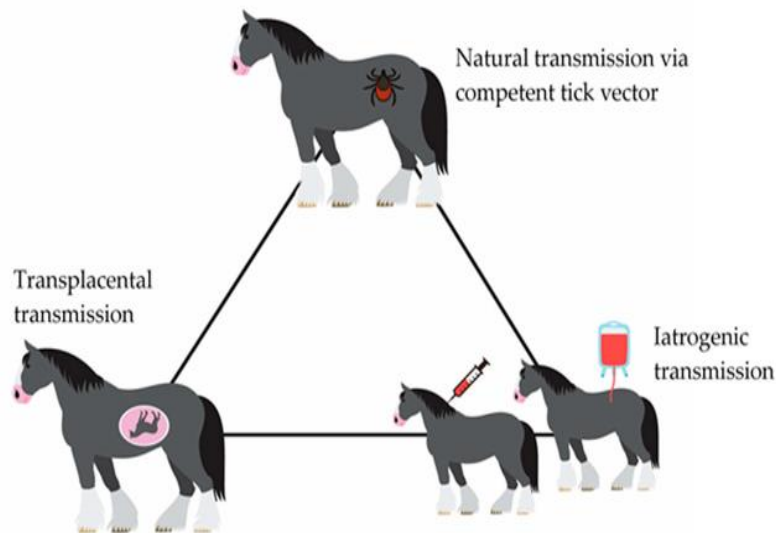
Contrairement à *Babesia caballi*, chez *Theileria equi* la transmission est uniquement trans-stadiale car il n'y a pas de colonisation des ovaires de la tique. Cela implique qu'infection par le parasite et transmission à un hôte ont lieu sur une même génération de vecteur. Ainsi, l'équidé joue un rôle primordial dans la pérennité de *Theileria equi*. Les schizontes ont une très forte longévité dans les lymphocytes, ce qui

explique qu'en l'absence de traitement un équidé infecté demeure porteur plus de 20 ans, soit à vie (Mans *et al.*, 2015).

C. Modes de transmission

Il existe trois grands modes de transmission de la piroplasmose d'un équidé à un autre, schématisés sur la *Figure 6*.

Figure 6 : Modes de transmission possibles de la piroplasmose (Onyiche *et al.* 2019)



a. Transmission naturelle par un vecteur compétent

La transmission de la piroplasmose, qu'il s'agisse de *Babesia caballi* ou de *Theileria equi*, se fait par voie vectorielle d'un équidé porteur à un équidé sain par l'intermédiaire d'une tique dure. Les tiques des genres *Hyalomma*, *Dermacentor* et *Rhipicephalus* sont les trois vecteurs principaux incriminés dans la transmission de *T. equi* et de *B. caballi*. Trois autres genres sont des vecteurs potentiels de nos piroplasmes d'intérêt : les genres *Amblyomma*, *Haemaphysalis* et *Ixodes* (Scoles et Ueti, 2015).

Une tique s'infecte sur un animal porteur du parasite lors d'un repas sanguin, ou peut naître infectée dans le cadre de la transmission transovarienne par *Babesia caballi*. Dans ce dernier cas, les tiques peuvent transmettre le parasite à des équidés naïfs sur plusieurs générations sans nécessiter de se réinfecter sur un hôte contaminé.

La transmission de *T. equi* se fait soit de façon trans-stadiale : une nymphe s'infecte sur un hôte porteur et peut infecter un équidé naïf après sa mue, soit de façon intra-stadiale : une tique adulte acquiert et transmet le parasite lors de deux repas sanguins sur un premier équidé infecté et un second naïf.

La transmission entre équidés nécessite donc une certaine proximité géographique entre les animaux (même élevage, pâtures et logement commun) pour permettre le passage du vecteur d'un équidé à un autre (Ueti *et al.*, 2008).

b. Transmission transplacentaire

La transmission transplacentaire d'une jument infectée au fœtus a été décrite pour *Theileria equi*, ce qui donne généralement lieu à un avortement ou à une piroplasmose néonatale.

En revanche, dans certains cas il est possible que la gestation d'une jument infectée par *Theileria equi* se termine avec la naissance d'un poulain apparemment sain. La transmission du parasite de la mère au poulain se fait relativement tôt dans le développement fœtal. La prise colostrale peut alors permettre une absorption d'anticorps anti-*Theileria equi* suffisante pour réduire à néant la parasitémie du nouveau-né (Allsopp *et al.*, 2007).

c. Transmission iatrogénique

Tout contact du sang d'un cheval contaminé peut conduire à une infection d'un cheval naïf.

Les transmissions mécaniques ou iatrogéniques par des aiguilles ou seringues contaminées, par transfusion sanguine ou par utilisation d'instruments chirurgicaux infectés sont possibles et rapportées (De Waal et Heerden, 2004).

En 2008, de nombreux cas d'infections furent détectés en Floride et avaient pour origine des pratiques de dopage illégales impliquant des transfusions sanguines avant les courses (Wise *et al.*, 2013).

Il est également possible d'infecter expérimentalement des mammifères par voie intraveineuse ou sous-cutanée par *Babesia caballi* (Ueti *et al.*, 2008).

2. Epidémiologie des piroplasmoses équine

L'épidémiologie des piroplasmes dépend du parasite, de la distribution de ses vecteurs, de la morbidité et la mortalité des épidémies, des mesures de contrôle mises en place, des résistances de hôtes, de leur réceptivité et de leur sensibilité (Mans *et al.*, 2015).

A. Distribution géographique

La piroplasmose équine est endémique des régions tropicales et subtropicales où sont retrouvés ses vecteurs (Onyiche *et al.*, 2019). Les pays indemnes sont à risque concernant les importations de chevaux. Ils adoptent en général une politique d'imports contrôlés, en imposant des tests sérologiques par exemple.

B. Prévalence et séroprévalences des piroplasmoses

a. Dans le monde

On trouve la piroplasmose en Asie, en Afrique, au sud de l'Europe, en Amérique Centrale et en Amérique du Sud (Gummow *et al.*, 1996; Tirosh-Levy *et al.*, 2020).

Les pays indemnes sont entre autres : le Canada, la Nouvelle-Zélande, l'Australie, le Japon, le Royaume uni, l'Irlande, les États-Unis et Singapour (Rothschild, 2013). Le cas des États-Unis est à nuancer car des cas furent identifiés en Floride, en Californie, en Géorgie, au Colorado, en Oklahoma et au Texas (Díaz-Sánchez *et al.*, 2020). Leur statut s'explique par l'absence de vecteurs compétents.

Babesia caballi est largement distribuée en Europe ainsi qu'en Afrique, en Amérique et en Asie, notamment car ses vecteurs principaux Dermacentor, Hyalomma et Rhipicephalus sont présents en zones tempérées et tropicales (Uilenberg, 2006).

La répartition connue actuellement de *T. equi* et *B. caballi* dans le monde est présentée en *Figure 7 et 8* ci-après.

Figure 7 : Carte de la prévalence mondiale de *T. equi* (Tirosh-Levy et al. 2020)

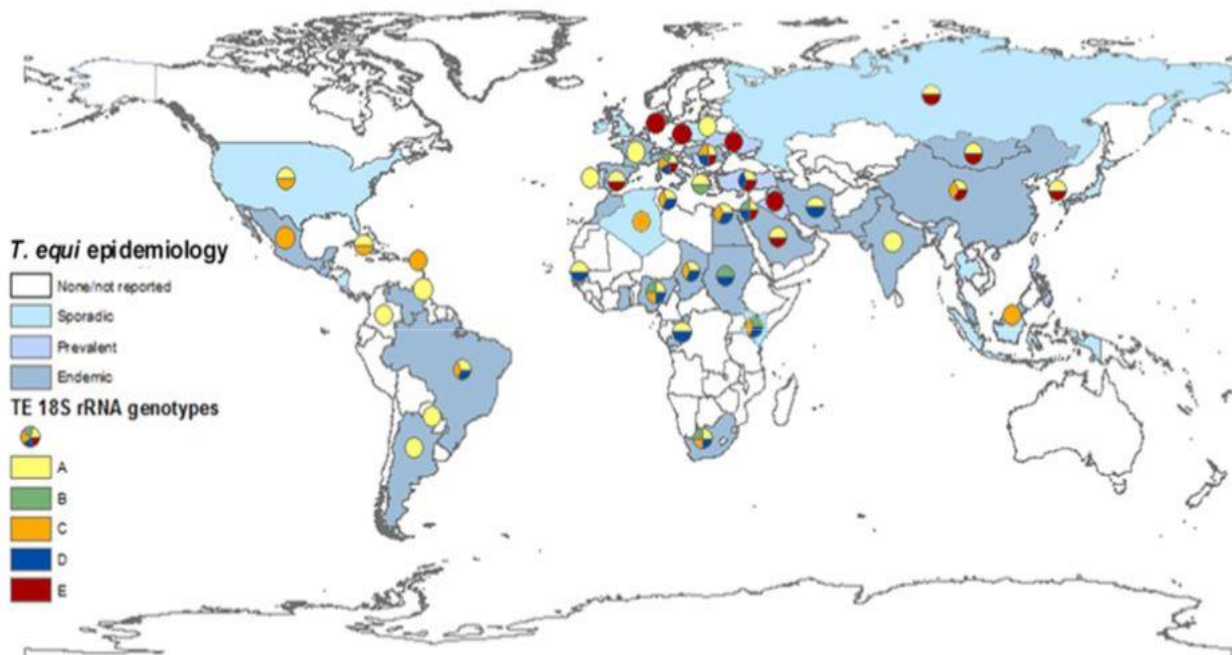
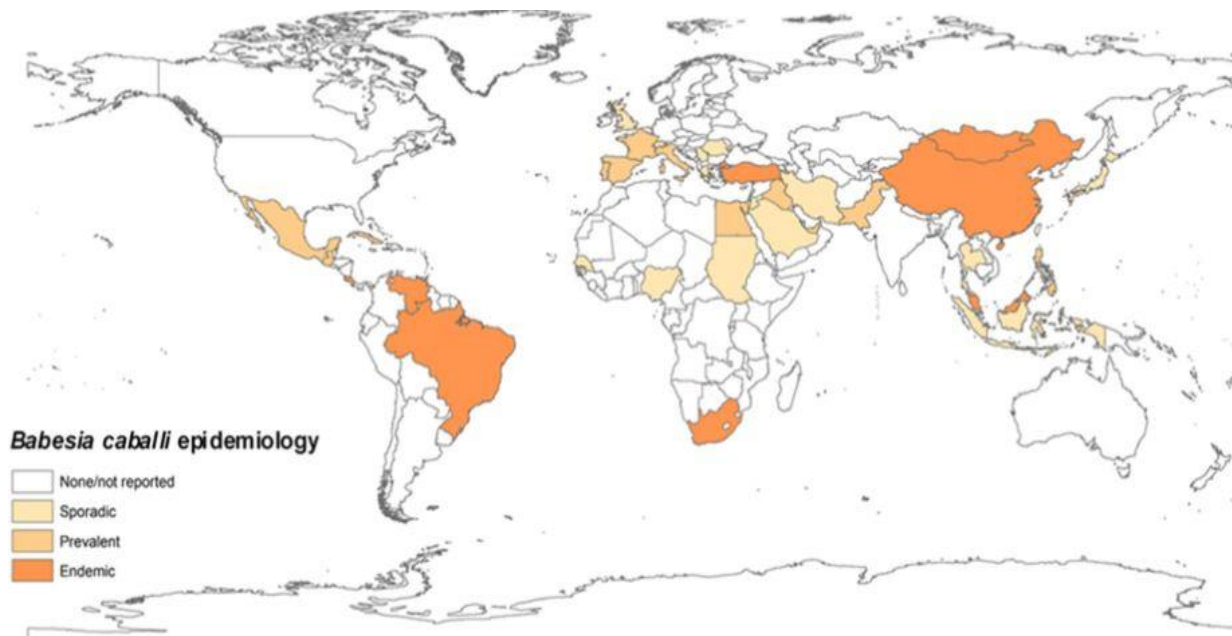


Figure 8 : Carte de la prévalence mondiale de *B. caballi* (Tirosh-Levy et al. 2020)



Il existe plusieurs centaines d'études ayant été menées dans le monde pour estimer la séroprévalence et la prévalence de *T. equi* et *B. caballi*, une part d'entre elles étant décrites dans la revue sur la piroplasmose de S. Tirosh-Levy couvrant la période du 1^{er} janvier 2000 au 1^{er} janvier 2020. Certaines études communiquent des informations sur les taux de co-infections, mais les valeurs présentées sont d'une grande variabilité. On note par exemple que, selon les études, la proportion de chevaux séropositifs aux deux parasites varie au Brésil de 8,8 à 75%, en Chine de 7,6 à 15,7%, autour de 62,3% au Costa Rica, de 10,4 à 30,7 % en Mongolie, autour de 10,2% au Pakistan, de 3% en Arabie Saoudite, entre 1,46 et 4% en Turquie, autour de 2% au Royaume-Uni, entre 13 et 35,6% au Venezuela.... (Tirosh-Levy *et al.*, 2020).

Concernant la proportion de chevaux positif aux deux parasites, les données sont plus rares. De la revue des études de 2000 à 2020 figurent les prévalences de co-infection suivantes : environ 2,1% en Chine, 7,7 au Costa Rica, 20% à Cuba, 1,6% en Iran, 0% en Jordanie, 2,5% en Mongolie, 1,9% en Tunisie, et 4,4% au Venezuela (Tirosh-Levy *et al.*, 2020).

b. En Europe

En Europe, les piroplasmoses équinées sont enzootiques de l'Espagne au sud de la Russie et les états du Caucase, en passant par les Balkans (Figure 9). Les pays plus au nord comme l'Allemagne, le Royaume uni ou les pays scandinaves ne sont pas connus comme atteints de façon enzootique. (Lemetayer, 2007)

Figure 9 : Aire endémique de la piroplasmose en Europe. Modifié d'après (Lemetayer, 2007)



Les deux revues les plus récentes sur les séroprévalences et prévalences de *B. caballi* et *T. equi* en Europe sont les travaux de S. Tirosh-Levy (2020) et de C. Nadal (2021) dont les résultats sont présentés ci-dessous.

Tableau 1 : Séroprévalence et prévalence européennes de *B. caballi* et *T. equi*, d'après le travail de revue de S. Tirosh-Levy (Tirosh-Levy *et al.*, 2020).

SEROPREVALENCE		PREVALENCE	
<i>B. caballi</i>	<i>T. equi</i>	<i>B. caballi</i>	<i>T. equi</i>
9,42 %	27,89 %	2.48 %	22,26 %
1 368 chevaux	14 497 chevaux	4 227 chevaux	4 917 chevaux
17 études	20 études	13 études	19 études

Tableau 2 : Séroprévalences et prévalences de *B. caballi* et *T. equi* en Europe, d'après le travail de revue de C. Nadal (Nadal *et al.*, 2021)

PAYS EUROPEEN	SEROPREVALENCE			
		<i>B. caballi</i>		<i>T. equi</i>
	(%)	IC95%	(%)	IC95%
TOTAL	7,67	[4,94 ; 12,20]	30,04	[25,37 ; 35,16]
GRECE	1,22	[0,2 ; 7,62]	58,01	[26,73 ; 83,96]
HONGRIE	2,27	[0,28 ; 18,52]	32,10	[11,03 ; 64,33]
ITALIE	6,71	[3,34 ; 13,46]	30,97	[24,11 ; 38,78]
PAYS-BAS	4,0	[0,3 ; 52,57]	1	[0,18 ; 5,45]
PORTUGAL	11,11	[0,87 ; 100]	21,69	[9,5 ; 42,20]
SICILE	63,20	[10,65 ; 100]	46,82	[25,05 ; 69,88]
ESPAGNE	11,74	[5,02 ; 27,41]	41,41	[31,00 ; 52,64]
SUISSE	3,04	[0,22 ; 41,77]	2,17	[0,45 ; 9,81]

Tableau 3 : Prévalences de *B. caballi* et *T. equi* en Europe, d'après le travail de revue de C. Nadal (Nadal *et al.*, 2021)

PAYS EUROPEEN	PREVALENCE			
	<i>B. caballi</i>		<i>T. equi</i>	
	(%)	IC95%	(%)	IC95%
TOTAL	2,38	[1,22 ; 4,62]	24,48	[16,48 ;33,44]
HONGRIE	0,26	[0,02 ; 3,75]	48,51	[7,04 ; 91,33]
ITALIE	2,11	[0,64 ; 6,93]	29,29	[14,07 ; 47,33]
PAYS-BAS	0,17	[0,00 ; 7,36]	1,67	[0,00 ; 34,02]
PORTUGAL			18,52	[0,00 ; 65,11]
SICILE	9,06	[1,06 ; 77,37]	14,36	[0,00 ; 46,35]
ESPAGNE	4,80	[1,11 ; 20,77]	34,37	[13,20 ; 59,34]
BOSNIE- HERZEGOVINE	4,17	[0,17 ; 100]	16,67	[0,00 ; 67,90]
MONTENEGRO	8,33	[0,46 ; 100]	8,33	[0,00 ; 56,05]
POLOGNE			1,32	[0,00 ; 35,03]
ROUMANIE	4,49	[0,31 ; 65,08]	38,76	[3,04 ; 84,45]
SERBIE	0,9	[0,08 ; 10,49]	39,01	[9,70 ; 73,53]
SLOVAQUIE			0,00	[0,00 ; 30,32]
UKRAINE			29,00	[0,20 ; 76,81]

On note que, selon les études, la proportion de chevaux séropositifs aux deux parasites varie de 0,6 à 38,1% en Italie et autour de 1,5% en Suisse. Il n'y a pas d'information sur la proportion de chevaux coinfestés par les deux parasites dans les pays d'Europe (Tirosh-Levy *et al.*, 2020).

c. En France

i. Séroprévalence en France

Trois études ont étudié les séroprévalences de *T. equi* et *B. caballi* en France.

L'étude de plus grande ampleur menée le plus récemment analysait les sérums de 35 000 chevaux par fixation du complément entre 1981 et 1996 (Soule *et al.*, 1998). Parmi les chevaux suspects cliniques de piroplasmose, 10,2% étaient séropositifs à *T. equi* et 7,5% séropositifs à *B. caballi*. Parmi les chevaux asymptomatiques testés, 2% étaient séropositifs à *T. equi* et 1,5% séropositifs à *B. caballi* (Figures 11 et 12). La séropositivité était en augmentation depuis 1987 et les cas se localisaient dans le sud du pays, la vallée du Rhône, la Loire et la Normandie. La Corse du Sud par exemple est passée d'une séroprévalence à *T. equi* de 0% à 15% en quelques années.

Les infections à *Theileria equi* prédominait en région méditerranéenne et le Sud-Ouest. Celles à *Babesia caballi* étaient plus présentes en Franche Comté, Sud-bourgogne, Auvergne, Rhône-Alpes et Midi-Pyrénées.

Figure 11 : Séropositivité à *Babesia caballi* en France de 1981 à 1996 (Soule *et al.*, 1998)

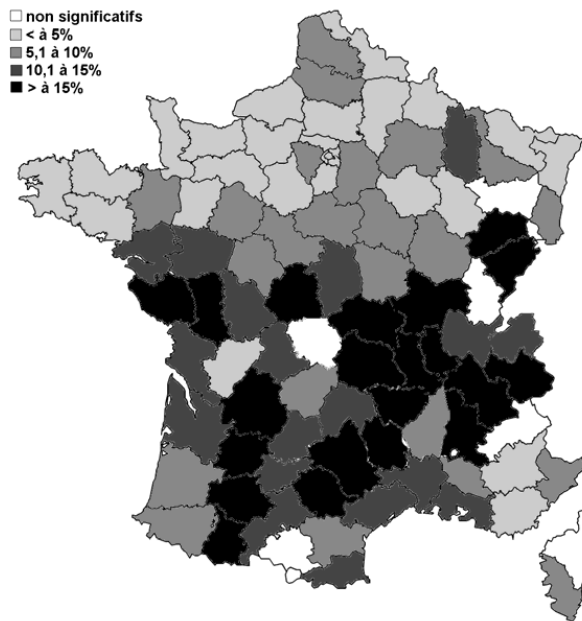
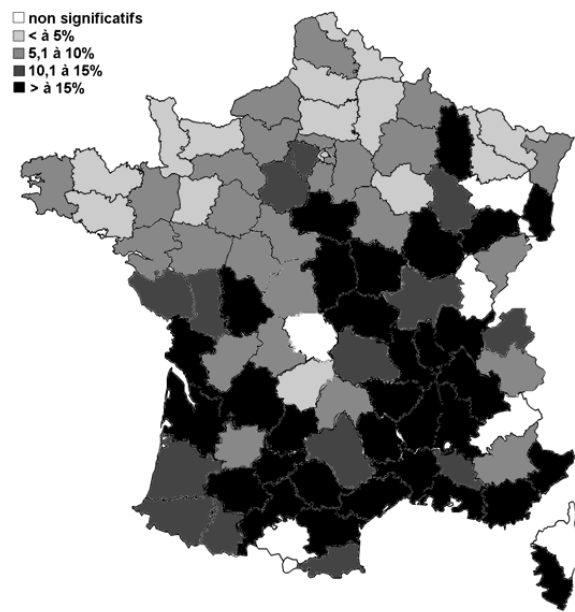


Figure 10 : Séropositivité à *Theileria equi* en France de 1981 à 1996 (Soule *et al.*, 1998)



Une première étude menée en Camargue en 2002 (Guillot, 2002) sur 460 sérums de chevaux a montré une séroprévalence de *T. equi* de 67.2%, de *B. caballi* de 22,8% et 20.6% d'animaux séropositifs aux deux parasites.

En 2014 une seconde étude menée en Camargue (Guidi *et al.*, 2015) sur les échantillons de 443 chevaux répartis dans 95 élevages différents a montré une séroprévalence de *T. equi* de 58%, une séroprévalence de *B. caballi* de 12.9% et 8,1% de chevaux doublement séropositifs.

ii. Prévalence en France

Seules deux études, l'une menée par D. Fritz entre 2006 et 2008 sur 111 chevaux répartis sur toute la France (par exemple Yonne, Indre et Loire, Drôme), et l'autre menée par H. Dahmana en 2019 sur 149 chevaux en France continentale (région marseillaise) et en Corse, présente des données sur les prévalences de *B. caballi* et *T. equi* (Dahmana *et al.*, 2019; Fritz, 2010).

Tableau 4 : Prévalence des infections à *B. caballi* et *T. equi* dans le sud de la France et en Corse (Fritz, 2010 ; Dahmana et al., 2019)

ETUDE		PREVALENCE			
		<i>B. caballi</i>		<i>T. equi</i>	
		(%)	IC95%	(%)	IC95%
(FRITZ, 2010)	FRANCE	1,9	NR	86	NR
(DAHMANA ET AL., 2019)	REGION DE MARSEILLE	0	[0,03 ; 8,06]	29,41	[17,60 ; 42,75]
	CORSE	0	[0,06 ; 15,31]	39,80	[30,29 ; 49,70]

C. « Facteurs de risques » identifiés

En parcourant les études sur notre sujet, on trouve régulièrement confondues les notions de « facteur significativement associé à la maladie » et « facteur de risque ». L'abus de langage est courant, mais rappelons la définition statistique d'un facteur de risque.

Pour montrer qu'un facteur, ou exposition, est effectivement un facteur de risque d'une maladie et qu'il existe bien une relation causale de l'un à l'autre, il faut :

- que l'exposition à ce facteur soit antérieure à la survenue de la maladie dans l'étude,
- que l'exposition soit significativement associée à la maladie dans l'échantillon,
- qu'il y ait absence de biais de classement différentiel et de biais de confusion dans l'association causale en l'exposition et la maladie (Desquilbet, 2021).

Ainsi pour des facteurs constants comme le sexe (pour les animaux restés entiers) ou la race, l'antériorité sur l'infection par un piroplasme est garantie, mais c'est très difficilement le cas pour toute autre variable susceptible de changer au cours de la vie du cheval. Pour exemple, un protocole vaccinal ou un protocole de vermifugation à jour au moment de l'étude ne signifie pas qu'il était à jour il y a plusieurs années lors de l'infection.

La question des biais sera abordée dans la partie discussion, mais ceux-ci sont souvent présents.

Il convient donc pour la suite de prendre la notion de « facteur de risque » annoncé dans les articles comme un synonyme de « facteur statistiquement associé à la (séro-)positivité » à tel parasite et celle de « facteur protecteur » comme un synonyme de « facteur négativement associé à la (séro-)positivité » à tel parasite.

Parmi l'ensemble des facteurs cités comme significativement associés au statut sérologique, nous retiendrons de la littérature les points suivants :

- Pour *B. caballi*

- « *Facteurs de risques* »

- avoir accès à une pâture (Abutarbush *et al.*, 2012; Rapoport *et al.*, 2014),
- avoir plus de 15 ans (Karatepe *et al.*, 2009; Rapoport *et al.*, 2014),
- être infesté par des tiques (García-Bocanegra *et al.*, 2013),
- la proximité avec des bovins (Camino *et al.*, 2020; Guidi *et al.*, 2015),
- présence de plus de deux étalons (pure race espagnole dans l'étude en question) (Camino *et al.*, 2018),
- l'import de chevaux dans les 6 derniers mois (García-Bocanegra *et al.*, 2013).

- « *Facteurs protecteurs* » »

- désinfecter l'environnement (Camino *et al.*, 2018),
- séparer les juments des jeunes de 1 à 2 ans (Camino *et al.*, 2018),
- une bonne surveillance sur les 6 derniers mois (Camino *et al.*, 2020),
- la zone géographique peut être un facteur protecteur ou favorisant (Camino *et al.*, 2020).

- Pour *T. equi*

- « *Facteurs de risques* »

- avoir accès à une pâture (Moretti *et al.*, 2010; Ribeiro *et al.*, 2013),
- être un hongre (Guidi *et al.*, 2015; Rüegg *et al.*, 2007),
- être une jument (Bartolomé Del Pino *et al.*, 2016) ,
- la proximité avec des bovins (Guidi *et al.*, 2015) ou des ruminants sur l'exploitation (Piantedosi *et al.*, 2014),
- être infesté par des tiques (García-Bocanegra *et al.*, 2013),
- ne pas être vacciné (García-Bocanegra *et al.*, 2013),
- avoir plus de 14 ans (García-Bocanegra *et al.*, 2013),
- avoir plus de 2 ans (Montes Cortés, 2017),
- avoir moins de 7 ans (Bartolomé Del Pino *et al.*, 2016),
- certaines races sont plus à risque dans certaines études comme le Camarguais, le cheval italien ou ibérique (Bartolomé Del Pino *et al.*, 2016; Camino *et al.*, 2020; Guidi *et al.*, 2015).

- « *Facteurs protecteurs* »

- avoir moins de 10 ans (Guidi *et al.*, 2015),
- utiliser un antiparasitaire externe (Guidi *et al.*, 2015),
- utiliser un vermifuge (Guidi *et al.*, 2015),
- avoir des vaccins tenus à jour (Camino *et al.*, 2020, 2018),
- la présence de moins de 75% de couvert forestier ou de terres agricoles dans la région (Bartolomé Del Pino *et al.*, 2016),
- la présence de chiens sur la ferme (Piantedosi *et al.*, 2014).

Si un certain nombre de facteurs sont pointés comme statistiquement associés à *B. caballi* ou *T. equi* dans diverses études mondiales, on observe des résultats variables d'une étude à l'autre. Par exemple, on note l'absence de consensus sur l'âge qui « prédisposerait » à une séropositivité à l'un ou l'autre parasite.

Concernant le portage des piroplasmes, on trouve les données suivantes :

- Pour *B. caballi*
 - « *Facteurs de risque* »

Aucun facteur protecteur ne ressort de la littérature pour la positivité à *B. caballi*.

- « *Facteurs protecteurs* »
 - ne pas être élevé en pâture (Rapoport *et al.*, 2014).

- Pour *T. equi*
 - « *Facteurs de risques* »

- avoir plus de 2 ans (Montes Cortés, 2017),
- être localisé dans les terres, versus sur la côte (Bartolomé Del Pino *et al.*, 2016).

- « *Facteurs protecteurs* »
 - avoir plus de 12 ans (Bartolomé Del Pino *et al.*, 2016).

Il n'y a que peu de données disponibles concernant les éventuels facteurs de risques ou facteurs protecteurs de *B. caballi* et *T. equi*.

3. Présentation clinique des piroplasmoses équine

Bien que les signes cliniques puissent varier entre une piroplasmose à *Theileria equi* et à *Babesia caballi*, il est souvent cliniquement impossible de différencier les deux agents étiologiques. La piroplasmose se manifeste par une anémie hémolytique accompagné d'une hyperthermie, un ictère, une hémoglobinurie et un œdème des membres. Ce tableau est sujet à de grandes variations individuelles, mais également en fonction de la forme exprimée (suraiguë à chronique) (Guidi *et al.*, 2015).

Les jeunes équidés semblent être les plus gravement touchés cliniquement. La forme suraiguë, qui donne des morts brutales, est rare (Lemetayer, 2007).

A. Réponse immunitaire à l'infection piroplasmique

a. Rôle de l'immunité innée

L'infection par l'un des parasites de la piroplasmose équine conduit à une réaction immunitaire de la part de l'hôte. Bien qu'un hôte puisse être infecté simultanément par les deux parasites, il n'existe pas d'immunité croisée (Onyiche *et al.*, 2019).

La rate joue un rôle particulier dans l'élimination des piroplasmes. Il a été montré que des équidés dont la rate est intacte survivent une infection à *Theileria equi* tandis que des équidés splénectomisés y succombent, en atteignant notamment des parasitémies proches de 80%. En revanche, des équidés splénectomisés infectés expérimentalement par *Babesia caballi* ne développent pas forcément de forme clinique, chose explicable par divers facteurs comme la dose infectieuse ou le statut immunitaire général de l'animal.

On sait que l'immunité innée joue un rôle primordial lors d'une infection par un piroplasme, sans que le rôle précis des macrophages, neutrophiles ou lymphocytes natural killer ne soit connu (De Waal *et al.*, 1988; Guimaraes *et al.*, 1997).

Lors d'infection expérimentale par *Babesia caballi* il semblerait que le monoxyde d'azote produit par les macrophages joue un rôle significatif dans l'élimination du parasite (Hanafusa *et al.*, 1998).

b. Rôle de l'immunité adaptative

i. Immunité cellulaire

L'immunité à médiation cellulaire est un complément nécessaire à l'immunité innée. Son rôle dans la lutte contre d'autres hémoprotozoaires comme *Theileria parva* ou *Babesia bovis* est connu mais son fonctionnement exact dans le cadre des piroplasmoses équine reste incompris (Onyiche *et al.*, 2019). La plupart des études sur les réponses immunitaires en lien avec la piroplasmose chez les équidés portent sur *Theileria equi*.

Expérimentalement, il a été montré que des poulains présentant un déficit immunitaire combiné sévère (SCID), bien qu'ayant une rate intacte, ne pouvaient survivre à une infection par *Theileria equi*. Cela est attribué à l'absence de lymphocytes T et B matures chez ces animaux rendant la réponse antigénique spécifique et cellulaire impossible (Knowles *et al.*, 1994).

Par ailleurs, il apparaît qu'*in vitro*, la présence de lymphocytes périphériques d'animaux immunisés inhibe la croissance de lymphoblastes contenant des schizontes (Zweygarth *et al.*, 1983).

ii. Immunité humorale

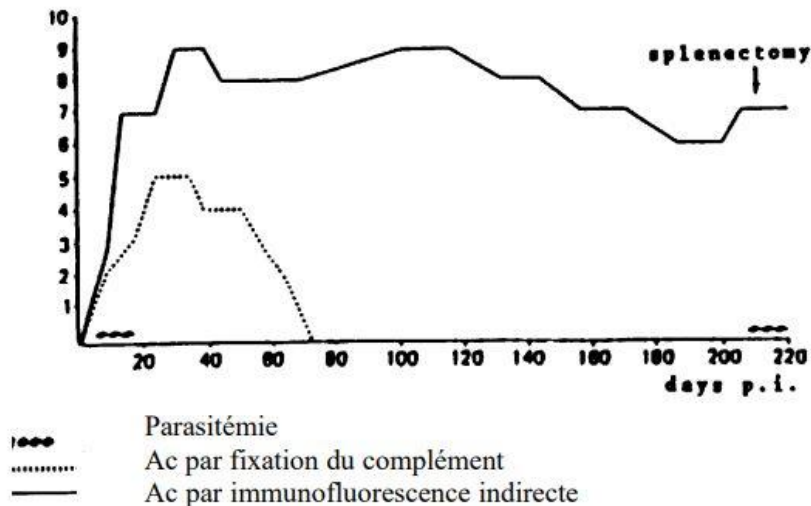
Il ne semble pas exister de relation directe entre le titre d'anticorps et la parasitémie chez les chevaux. Sept immunoglobulines G équine ont été découvertes dans le génome équin et leurs rôles restent pour le moment incertains. Les IgG1, IgG4 et IgG7 augmentent lors d'infections aiguës tandis que les IgG5, et IgG3 dans une moindre mesure, voient leurs titres augmenter lors d'infection chronique avec une parasitémie faible (Cunha *et al.*, 2006).

- *Babesia caballi*

Les chevaux infectés produisent des anticorps contre RAP-1 (protéine rho-protéine associée 1) qui est utilisée dans la détection sérologique d'une infection (Wise *et al.*, 2013).

Comme le montre la Figure 12 (Guillot, 2002), les anticorps apparaissent dans les premiers jours après infection. Leur détection dans le temps varie en fonction de la méthode utilisée mais ils sont généralement détectables dès 7 jours post-infection. Ils disparaissent après 90 jours par fixation du complément, mais persistent au-delà de 220 jours par immunofluorescence indirecte.

Figure 12 : Cinétique des anticorps après une infection expérimentale à *B. caballi* (Guillot, 2002)



Lors de splénectomie, correspondant à une forte chute d'immunité, on observe le retour d'une parasitémie.

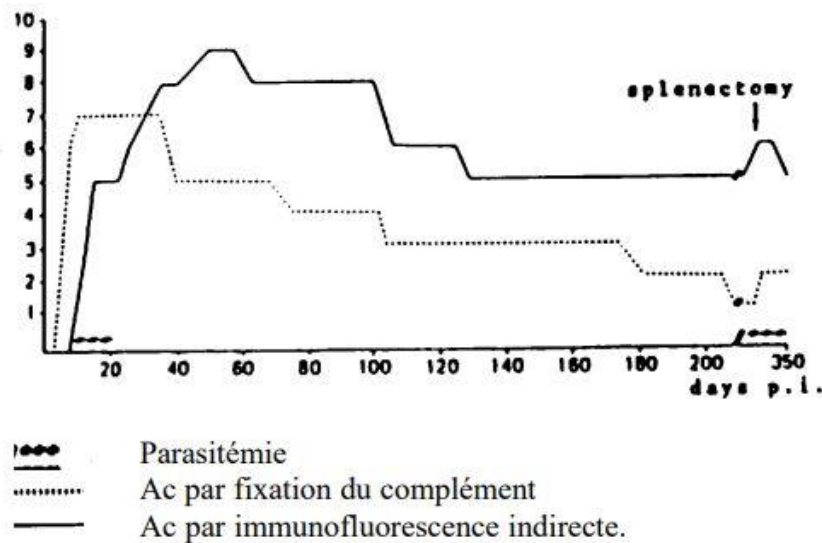
Il apparaît que l'immunité à médiation cellulaire et les cytokines jouent un rôle crucial contre les infections à *Babesia caballi*. Il a été montré que chez des chevaux infectés expérimentalement par *Babesia caballi*, le monoxyde d'azote, le TNFalpha et d'autres cytokines favorisaient la neutralisation du parasite lorsqu'ils étaient produits en quantité optimale (Hanafusa *et al.*, 1998).

- *Theileria equi*

Les chevaux infectés par *Theileria equi* produisent des anticorps contre les antigènes de mérozoïtes équins (EMA-1 en particulier) qui sont des protéines fortement exprimées à la surface des mérozoïtes (Knowles *et al.*, 1994).

Les anticorps apparaissent entre 7 et 11 jours après infection. Comme pour *B. caballi* leur détection dans le temps varie en fonction de la méthode utilisée. Comme illustré par la Figure 13 leur taux détecté est généralement plus bas par fixation du complément. Ils semblent persister au-delà de 350 jours. En l'absence de traitement on observe le retour d'une parasitémie lors de splénectomie (Guillot, 2002).

Figure 13 : Cinétique des anticorps après une infection expérimentale à *T. equi* (Guillot, 2002)



Concernant la protection par les anticorps, son fonctionnement exact reste méconnu.

- Cas des poulains

En zones endémiques, les anticorps maternels protègent les poulains de 1 à 5 mois d'âge, parfois jusqu'à leurs 9 mois (Onyiche *et al.*, 2019). Après cette période le titre en anticorps décline et en zones endémiques les poulains sont généralement infectés autour de leurs 2 ans (Wise *et al.*, 2013).

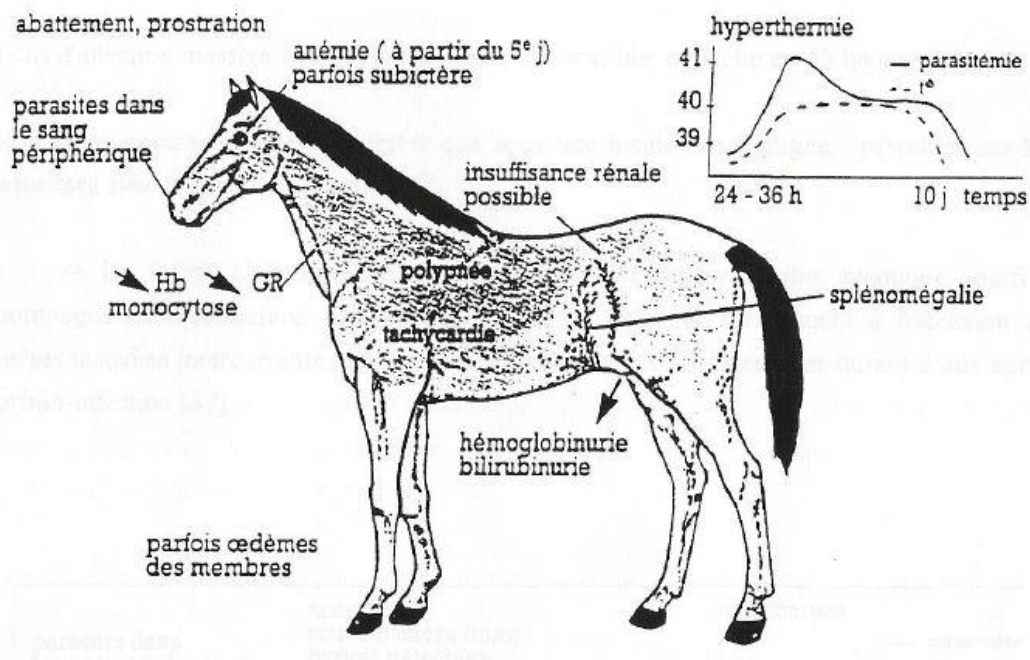
B. Piroplasmose à *Babesia caballi*

L'infection par *Babesia caballi* implique une parasitémie faible, inférieure à 1%.

a. Signes cliniques (Lemetayer, 2007) (Wise et al., 2013)

La forme aiguë survient lors de l'infection d'un animal naïf ou lors de la rechute d'un porteur asymptomatique, c'est la forme la plus caractéristique. L'incubation dure entre 7 et 30 jours (12 jours en moyenne). La Figure 14 (Cadoré *et al.*, 1995) résume les principales manifestations d'une piroplasmose à *B. caballi*.

Figure 14 : Piropasmosse à *Babesia caballi* : Principaux signes cliniques et évolution de la parasitémie dans le temps (Cadore et al, 1995)



Les symptômes généraux comportent un pic d'hyperthermie à 41-42°C sur maximum 36 heures suivi d'un plateau à 40°C sur une dizaine de jours, d'abattement, faiblesse, anorexie, polypnée et tachycardie.

Cliniquement, les muqueuses sont d'abord rouge brique puis deviennent pâles voire ictériques dès le 5-6^{ème} jour en raison de l'anémie hémolytique.

L'observation des urines peut montrer une coloration verte liée à la bilirubinurie autour du 7-8^{ème} jour puis marron en raison de l'hémoglobinurie autour du 8-9^{ème} jour. Une insuffisance rénale aiguë peut apparaître résultant de la néphrotoxicité de l'hémoglobine et du syndrome inflammatoire sévère associé à une hypoperfusion rénale.

On trouve parfois associés à ce tableau des signes :

- digestifs (coliques, entérites, dysphagie),
- respiratoires (congestion et œdème pulmonaire),
- neurologiques (parésie, ataxie, syndrome méningo-encéphalique),
- oculaires (kératite),
- circulatoires (œdèmes des régions déclives, pétéchies).

Le plus souvent, la forme aiguë se poursuit pendant une dizaine de jours et conduit à une rémission.

Les complications possibles, notamment en absence de traitement ou dans le cas d'animaux âgés ou cardiaques, comprennent entre autres : états de choc, hépatopathie, néphropathie, CIVD et cardiopathie.

La forme chronique peut s'installer avec ou sans passage par une phase aiguë. Elle se manifeste principalement par le syndrome anémique caractérisé par un

ensemble de signes peu spécifiques variables comprenant la fatigue, la baisse d'appétit et d'état corporel, l'intolérance à l'effort, les contre-performances, la splénomégalie parfois détectable à la palpation ainsi que des œdèmes en parties déclives.

b. Signes hématologiques et biochimiques (Lemetayer, 2007) (de Waal, 1992) (Onyiche et al., 2019)

Hématologiquement, on note la diminution de l'hématocrite sans modification des érythrocytes dans un premier temps, accompagnée d'une monocytose et d'une neutropénie parfois suivie d'une anémie macrocytaire.

Dans la plupart des études, on observe une augmentation de la TGMH (teneur globulaire moyenne en hémoglobine) et de la CCMH (concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine) (Zobba *et al.*, 2008) (Mahmoud *et al.*, 2016). La thrombocytopénie est très fréquente, menant à des temps de coagulation augmentés (Wise *et al.*, 2013).

Les modifications biochimiques en lien avec la piroplasmose sont investiguées dans de nombreuses études. Leurs variations sont influencées par un large éventail de facteurs comme l'alimentation, l'activité, le climat, l'hydratation et la concomitance d'autres affections ou infections.

Une étude observe, lors d'une infection à *Babesia caballi* chez des chevaux de course, une diminution significative des protéines totales et une augmentation de la bilirubine, des PAL, des GGT, des CK et des ASAT.

On peut également observer une augmentation de l'urée et de la LDH. Ces modifications sont attribuables à l'hypoperfusion hépatique qui peut mener à une nécrose centro-lobulaire dans les cas sévères.

L'altération du métabolisme des érythrocytes peut induire une hypophosphatémie et une hypoferrémie (Wise *et al.*, 2013).

c. Lésions observées à l'autopsie (de Waal, 1992; Onyiche et al., 2019; Wise et al., 2013)

Que la piroplasmose ait pour étiologie *Babesia caballi* ou *Theileria equi*, dans les cas sévères la mort de l'animal est le plus souvent due à une défaillance multi-viscérale, en lien avec un syndrome inflammatoire à réponse systémique (SIRS).

A l'examen nécropsique on peut retrouver un œdème sous cutané des paupières et autres séreuses en lien avec l'hypoprotéïnémie, ainsi qu'une splénomégalie, une hépatomégalie, des hémorragies des tissus endo et épocardiques,

des reins et nœuds lymphatiques hypertrophiés et décolorés et une congestion pulmonaire.

Dans les cas de décès causés par des formes aiguës de babésiose, on retrouve une défaillance multiviscérale en lien avec la formation de micro-thrombi et de coagulation intravasculaire disséminée. Des pétéchies en lien avec la thrombocytopénie sont observables sur les muqueuses, incluant la membrane nictitante. Les muqueuses sont pâles à ictériques.

d. Lésions observées à l'examen histologique (Wise et al., 2013)

Les lésions suivantes peuvent être retrouvées à l'examen histologique :

- nécrose centro-lobulaire hépatique (en lien avec l'hypoperfusion hépatique lors de cas sévères),
- nécrose tubulaire rénale (en lien avec la néphrotoxicité de l'hémoglobine et l'hypoperfusion rénale due au syndrome inflammatoire systémique),
- micro-thrombi dans le foie et les poumons (en lien avec la thrombocytopénie),
- congestion, œdème et macrophages chargés d'hémosidérine dans les alvéoles pulmonaires.

C. Piropasmoses à *Theileria equi*

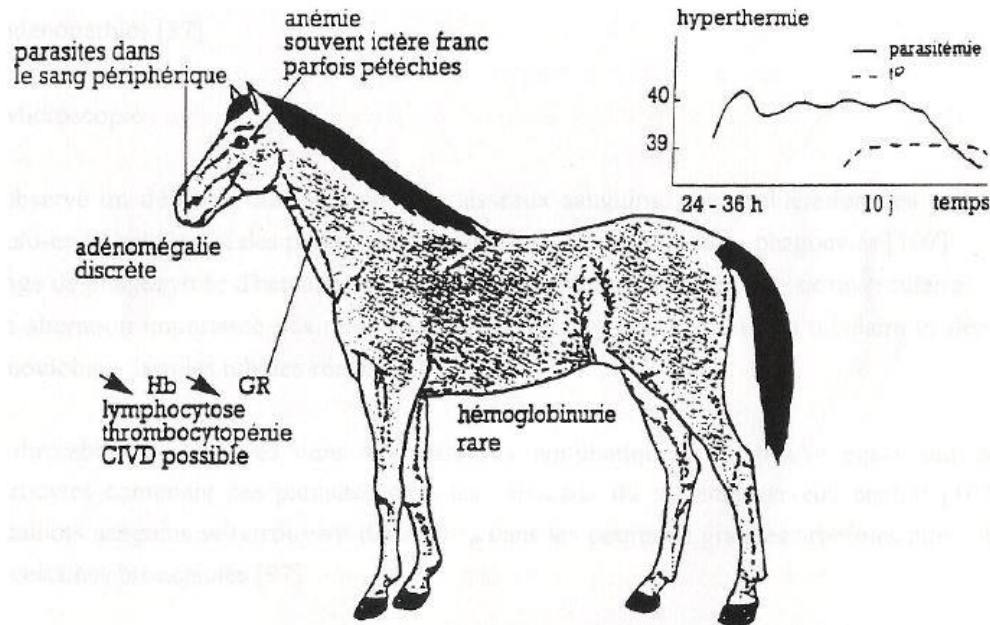
a. Signes cliniques (Cadoré et al., 1995; de Waal, 1992; Lemetayer, 2007)

L'infection à *Theileria equi* implique une parasitémie habituellement comprise entre 1 et 7%, mais qui peut monter jusqu'à 80% en cas d'immunodépression.

La forme aiguë survient après 12 à 19 jours d'incubation et évolue avec plus de rapidité et de gravité que lors d'atteinte par *Babesia caballi*.

La Figure 15 (Cadoré *et al.*, 1995) ci-après illustre les principales manifestations d'une infection à *T. equi*.

Figure 15 : Piroplasmose à *Theileria equi* : Principaux symptômes et évolutions de la parasitémie dans le temps (Cadore et al, 1995)



Les symptômes comprennent une hyperthermie à 39-40°C intermittente, une anémie sévère, un ictère franc constant. On observe que rarement une hémoglobinurie, en général pour les cas graves.

Les signes éventuellement associés sont circulatoires (et non nerveux, digestifs ou respiratoires comme avec *Babesia caballi*) comme des pétéchies ou des œdèmes des parties déclives.

L'évolution de la forme aiguë est rapide et conduit en une dizaine de jours soit à la mort (20 à 50% des cas), soit à une forme chronique.

La forme chronique de la piroplasmose à *Theileria equi* peut apparaître chez l'animal :

- à la suite d'une forme aiguë,
- lors d'une rechute clinique liée à une maladie intercurrente,
- à l'apparition d'une immunodépression chez un porteur sain.

Cliniquement, elle se compose principalement d'un syndrome anémique avec des symptômes frustrés peu spécifiques. On retrouve notamment une baisse d'appétit, d'état et une intolérance à l'effort (Guidi *et al.*, 2015).

En cas d'infection intra-utérine par *Theileria equi*, on peut observer un avortement probablement en lien avec le pic de fièvre ou de la mortinatalité (Wise *et al.*, 2013).

b. Signes hématologiques et biochimiques (*Onyiche et al., 2019; Wise et al., 2013*)

Hématologiquement on retrouve une baisse de l'hématocrite avec les mêmes modifications que pour la babésiose (en termes de VGM, CCMH et TGMH), une lymphocytose et une éosinopénie. La thrombocytopénie est également très fréquente.

Les analyses biochimiques peuvent révéler une augmentation de la bilirubine, de l'urée, des ASAT, des GGT et de la LDH, parfois avec une hypoalbuminémie accompagnant l'hypoprotéinémie. Ces modifications sont attribuables à l'hypoperfusion hépatique qui peut mener à une nécrose centro-lobulaire dans les cas sévères.

Comme pour la babésiose on peut observer une hypophosphatémie et une hypoferrémie en lien avec le dérèglement du métabolisme des érythrocytes.

c. Lésions observées à l'autopsie et à l'examen histologique

Les lésions observées en histologie lors d'infection à *T. equi* sont très similaires à celles observées lors d'infection à *B. caballi*.

D. Diagnostic

a. Diagnostic épidémiologique et clinique

La suspicion de piroplasmose se base essentiellement sur le contexte épidémiologique et sur les signes cliniques.

Le contexte épidémiologique est d'importance capitale car sans lui les signes peu spécifiques des piroplasmoses impliquent d'inclure dans le diagnostic différentiel des maladies comme l'ehrlichiose, l'artérite virale équine, le purpura hémorragique, l'anémie hémolytique auto-immune, l'intoxication aux feuilles d'érable, la peste équine (Wise *et al.*, 2013)...

L'anamnèse, les commémoratifs et l'évolution clinique orientent également la suspicion. Par exemple, en zone endémique, un équidé de 5 ans ayant accès à une pâture dans un élevage ayant déjà eu des cas de piroplasmoses, présentant une fièvre fluctuante et des muqueuses jaunâtres sera fortement suspecté de piroplasmose.

La plupart du temps, ces éléments, lorsqu'ils sont présents, suffisent au clinicien pour poser un diagnostic de piroplasmose. Des examens sanguins type biochimie et numération formule sanguine peuvent venir renforcer fortement la suspicion.

Le diagnostic peut être aussi réalisé par épreuve thérapeutique. Bien que cette méthode soit régulièrement réalisée en pratique, au vu du coût du traitement ainsi que de son impact potentiel sur la santé de l'animal (effets secondaires de type coliques par exemple, leur fréquence n'étant pas citée dans le RCP) il est préférable d'obtenir un diagnostic de certitude avant d'entamer le traitement médicamenteux.

Le diagnostic de certitude s'obtient par la mise en évidence du parasite. Identifier le piroplasma en question permet de donner le pronostic associé à une babésiose ou une theileriose notamment en termes de réussite attendue du traitement, rechutes ou récurrences possibles. Il est alors nécessaire de recourir aux méthodes d'analyses présentées ci-après.

b. Diagnostic direct

i. Frottis sanguin et microscopie

Une méthode facile à mettre en œuvre pour le diagnostic des piroplasmoses est l'observation au microscope optique d'un frottis sanguin en coloration de Giemsa, de Wright ou Diff quik® (Mans *et al.*, 2015).

Tableau 5 : Colorations utilisables en coloration de frotti sanguins pour observation de piroplasmes intra-érythrocytaires

Coloration	Giemsa	Diff quik®	Wright
Composition	- solution éosinophile (eosin Y) - solution basophile (bleu de méthylène et Azure B)	- une solution de fixation (méthanol) - solution éosinophile (eosin Y) - solution basophile (bleu de méthylène et Azure B)	- solution éosinophile - solution basophile (bleu de méthylène)
Avantages Et inconvénients	- Adapté aux frottis fins ou épais - Permet de colorer les chromosomes pour identifier des anomalies - Plus long à réaliser	- Très rapide à réaliser - Utilisable en clinique sur frottis fins ou épais	- Adaptés aux frottis fins - Permet de mieux différencier les types cellulaires - Plus long à réaliser
	<i>Exemple</i> : en cytologie pour identifier des cellules tumorales		<i>Exemple</i> : Frottis sanguin

La parasitémie étant relativement faible même en phase aiguë d'infection, il est nécessaire de réaliser une observation complète et attentive du frottis afin d'éviter les faux négatifs.

Les mérozoïtes intra-érythrocytaires de *B. caballi* sont basophiles et en forme de poire. Ces éléments vont par paires et sont joints en leurs pointes. Ils mesurent environ 2-5 µm de long et 1.3 à 3 µm de diamètre (Onyiche *et al.*, 2019). Lors d'une forme clinique de babésiose, le pourcentage d'érythrocytes infectés est usuellement inférieur à 1%, voire à 0.1% (Figures 16 et 17).

Pour *T. equi* les mérozoïtes sont de plus petite taille car ils mesurent 2 à 3 µm de long. Ils sont joints en leurs pointes, groupés en tétrades aussi appelées « croix de Malte ». Lors de forme clinique de theileriose le pourcentage d'érythrocytes infectés varie usuellement entre 1 et 5% mais peut atteindre 20% (Wise *et al.*, 2013) (Figures 16 et 17).

Figure 16 : Frottis sanguins de chevaux infectés par *Babesia caballi* (à gauche, forme bigéminée) et par *Theileria equi* (à droite, en tétrade ou “Croix de Malte”) en coloration Giemsa (Onyiche *et al.*, 2019)

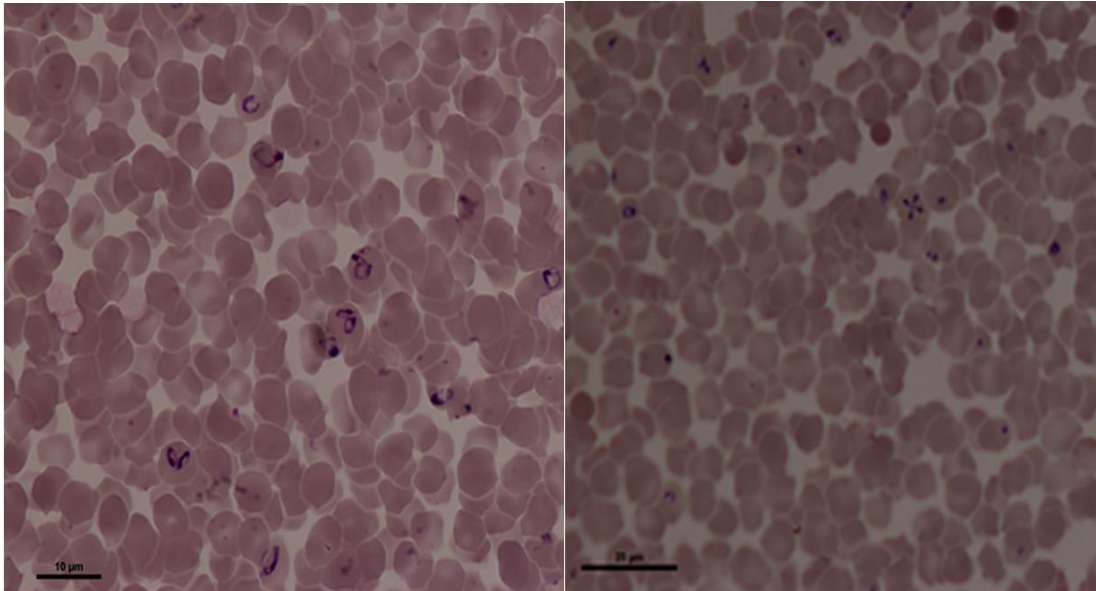
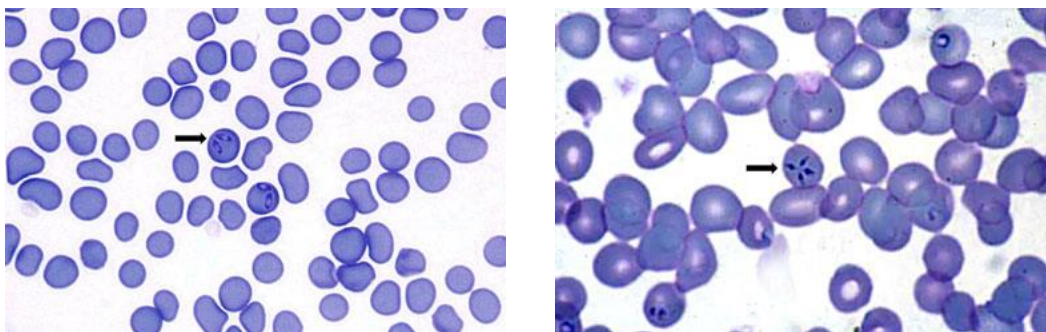


Figure 17 : Frottis sanguins contenant des mérozoïtes intra-érythrocytaires de *Babesia caballi* (à gauche) et *Theileria equi* (à droite), Coloration Diff Quik®. X100. Huile à immersion (Wise *et al.*, 2013)



ii. PCR

La PCR (polymerase Chain Reaction) consiste en la détection du matériel génétique du parasite en l'amplifiant. Il s'agit d'une méthode qualitative, contrairement à la RtPCR qui est une méthode quantitative. En pratique, la PCR peut manquer de sensibilité car la limite de détection par cette méthode est souvent supérieure à la charge parasitaire réelle animaux, sauf dans les zones en endémiques de la maladie (Mans *et al.*, 2015).

Son utilisation dans la détection du gène 18s rRNA et EMA-1 de *T. equi* est fiable, étant donné la conservation de ce gène chez toutes les lignées de *T. equi* (Rüegg *et al.*, 2007). A l'inverse, son utilisation dans la détection de l'ADN de *B. caballi* s'avère régulièrement imprécise en raison de la diversité génétique des lignées, on recherche plutôt le gène RAP-1.

Il est judicieux d'y ajouter une analyse sérologique pour tenter de détecter une infection à *B. caballi* (Wise *et al.*, 2013).

Les laboratoires sont largement équipés pour réaliser des analyses PCR sur de nombreux pathogènes ce qui en fait, en pratique, une méthode de choix pour détecter un portage de piroplasme chez les équidés.

iii. Méthode LAMP

La méthode LAMP (Loop-mediated isothermal Amplification) amplifie l'ADN avec une haute spécificité, efficacité et rapidité. Plusieurs amorces sont utilisées, dont des amorces « en boucle » pour accélérer la réaction, ainsi qu'une polymérase sur un principe de répllication proche de la PCR. Dans le cas de la méthode LAMP, l'amplification est réalisée dans des conditions isothermes contrairement à la PCR qui nécessite plusieurs changements de températures. Cette méthode est donc plus facile à réaliser, moins contraignante en termes de matériel et peut être réalisée au chevet du patient (Notomi *et al.*, 2000).

Pour *Theileria equi* il s'agit de détecter le gène EMA-1 et pour *Babesia caballi* le gène Bc 48 (Alhassan *et al.*, 2007).

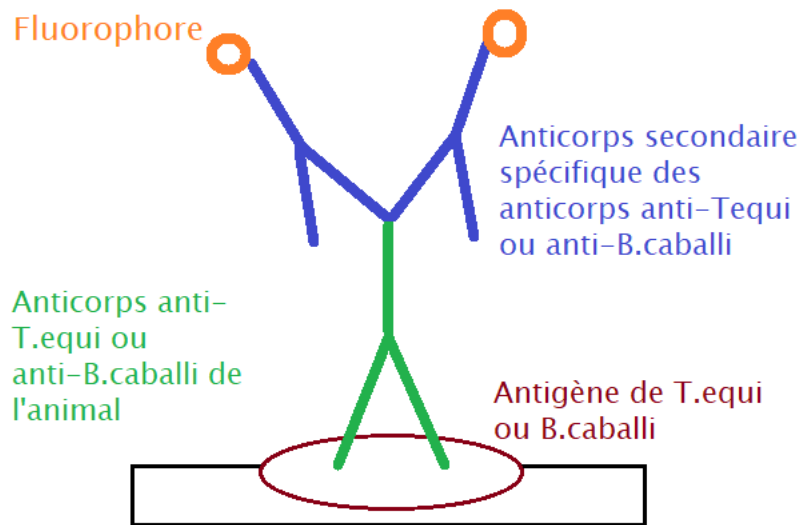
c. Diagnostic indirect

i. IFAT

Le test le plus utilisé en diagnostic indirect est l'IFAT (Indirect Fluorescent Antibody Test) test sérologique d'immunofluorescence indirecte. Il s'agit du « gold standard » recommandé par l'OIE pour les parasites d'importance économique (Mans *et al.*, 2015).

Un antigène de *B. caballi* ou de *T. equi*, est fixé à une lame de verre (Figure 18). Le sérum de l'animal est mis en contact avec cette lame, les anticorps de l'animal testé se lient à l'antigène correspondant. Puis des anticorps liés à une molécule phosphorescente spécifiques des anticorps anti-*T. equi* ou anti-*B. caballi* sont insérés. Après lavage on mesure la fluorescence restant sur la lame sous lumière ultra-violet. On considère le résultat positif lorsque la fluorescence est encore remarquable après une dilution à 1/80 ou plus.

Figure 18 : Schématisation de la technique de l'IFAT



Sa sensibilité pour *B. caballi* est de 92%, sa spécificité de 95% (Ogunremi *et al.*, 2007).

Sa sensibilité pour *T. equi* est de 89% et sa spécificité de 96% (Ogunremi *et al.*, 2008). On obtient en général une réponse positive en IFAT plus longtemps après l'infection qu'avec le test de fixation du complément. Les inconvénients de cette technique incluent les réactions croisées, la potentielle lecture subjective par l'opérateur et le coût (Bakheit *et al.*, 2007; Guidi *et al.*, 2015).

ii. Test de fixation du complément

Le test de fixation du complément (CF) reste l'un des tests de choix pour la confirmation d'une piroplasmose équine. Il fut pendant un temps recommandé par l'OIE pour tester les chevaux importés dans les pays indemnes de piroplasmose (Rothschild, 2013).

Il peut détecter des anticorps de 8-11 jours à 2-3 mois post-infection. Un résultat négatif après traitement peut être obtenu après 3 à 15 mois pour *B. caballi* et 2 ans pour *T. equi* (Bruning, 1996). Il présente des performances peu intéressantes dans le cadre de la détection de *B. caballi* pour lequel sa sensibilité est de 28% et sa spécificité de 99% (Ogunremi *et al.*, 2007). Sa sensibilité pour *T. equi* est de 63% et sa spécificité de 96% (Ogunremi *et al.*, 2008). La sensibilité est d'autant plus mauvaise que l'on réalise ce test chez des animaux en début de maladie ou porteurs latents (Bashiruddin *et al.*, 1999).

Ce test est peu intéressant dans le cadre de dépistage en raison de sa faible sensibilité vis-à-vis de *B. caballi* et de *T. equi* mais sa forte spécificité en fait un bon outil de confirmation d'une infection. Il est à privilégier dans des zones de haute prévalence, notamment lorsqu'on cherche à identifier le parasite présent. Un autre

inconvenient de ce test réside dans l'existence de réactions croisées entre les anticorps contre *T. equi* et *B. caballi* (Bruning, 1996).

iii. ELISA

L'ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assays, iELISA pour indirect ou cELISA pour compétitif) est la seconde méthode approuvée et recommandée par l'OIE depuis 2004 pour tester les chevaux importés en zone non-endémique pour *T. equi* et *B. caballi* (Rothschild, 2013). Ce test est plus sensible que l'IFAT, il détecte les IgG.

- Pour *T. equi*

L'antigène EMA-1 de *T. equi* et un anticorps monoclonal contre cet antigène ont été utilisés pour développer une inhibition compétitive ELISA. Sa sensibilité dans la détection de *T. equi* est de 96%, contre 47% pour le test de fixation du complément (Wise *et al.*, 2013).

L'épitope détecté est fortement conservé d'une lignée à l'autre de *T. equi*, ce qui donne au test une partie de sa bonne sensibilité. La cELISA est utilisable pour détecter des chevaux infectés par *T. equi* dès 21 jours post infection expérimentale et 5 semaines post infection par une tique (Knowles *et al.*, 1992).

L'antigène EMA-2 de *T. equi* est classiquement détectable par ELISA. Une étude Chinoise de 2004 a montré qu'il était possible de fabriquer un test immunologique chromatographique rapide de détection de l'EMA-2 de *T. equi* sur sérum. Le but était de développer et évaluer un test rapide pour *T. equi* utilisable sur le terrain. Les résultats concordent avec ceux de l'ELISA à 96.7% : il s'agit d'un test très sensible. Ce test permet des détections plus précoces de la maladie en détectant tous types d'immunoglobuline dont les IgM, avant le stade IgG. Tester l'EMA-2 permet de différencier la présence de *T. equi* de celle de *B. caballi*. Le test est donc également très spécifique (Huang *et al.*, 2004). Considérant l'absence de test rapide sur le marché aujourd'hui, il apparaît que la recherche sur ce sujet n'a pas été poursuivie.

- Pour *B. caballi*

Pour détecter *B. caballi*, on recherche l'épitope d'un antigène RAP-1 par un cELISA par le biais d'anticorps monoclonaux. Ce test reste plus sensible (91%) que le test de fixation du complément (88%) pour *B. caballi* mais il se base sur la reconnaissance d'épitopes qui ne sont pas toujours conservés en fonction des lignées de *B. caballi* ce qui le rend moins sensible que dans la détection de *T. equi* (Kappmeyer *et al.*, 1999).

Le délai entre infection et détection des anticorps varie en fonction des études et méthodes utilisées, mais il semble que les premiers anticorps peuvent être détectés entre 7 et 11 jours post infection, avec un pic à 30-45 jours puis pendant environ 1 an (Guillot, 2002).

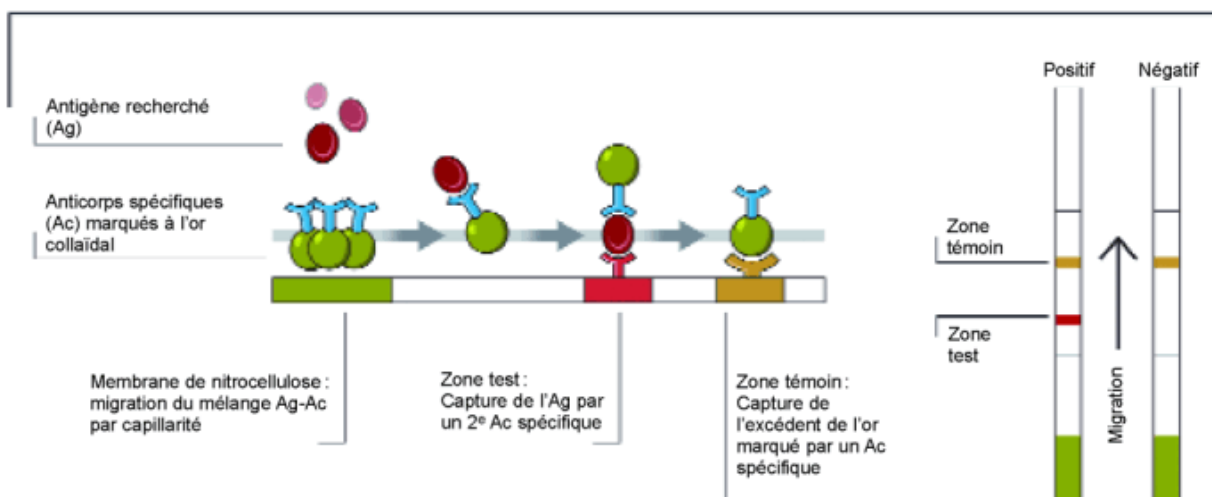
Une étude a montré qu'une protéine des corps sphériques (BcSPB4) était une candidate potentielle pour développer un meilleur test sérologique pour la détection de *B. caballi*, notamment en régions tropicales et subtropicales où les RAP-1 présentent une trop forte variabilité. En effet, BcSBP4 est exprimée dans les stades sanguins du parasite (Mahmoud *et al.*, 2020).

La technique ELISA présente pour principaux avantages le faible coût, le débit d'analyse réalisés et la vitesse de l'analyse et de diagnose pour un grand nombre d'échantillons. Elle est donc la technique la plus utilisée en laboratoire (Mans *et al.*, 2015).

iv. ICT

L'ICT ou test immuno-chromatographique est un test simple et rapide (Figure 20). L'échantillon testé migre sur une membrane de nitrocellulose. Si l'échantillon contient l'antigène recherché, des anticorps spécifiques marqués d'un réactif coloré vont se lier à lui pour former un complexe immun qui va migrer le long de la membrane. La migration s'effectue jusqu'à une zone de capture contenant un second anticorps spécifique de l'antigène cherché qui est fixé à la membrane. La lecture du test consiste à observer ou non une bande colorée dans la zone test de la membrane de nitrocellulose (WIKIPEDIA, 2022c).

Figure 19 : Schéma d'un test d'immuno-chromatographie



Des tests ICT ont été développés pour les piroplasmoses équine mais ils ne peuvent être utilisés comme tests de références en laboratoire : leur utilisation est restreinte au cadre de la recherche (Onyiche *et al.*, 2019).

v. Western blot

Jusqu'à récemment, le western blot était utilisé très fréquemment pour la recherche de *T. equi* et *B. caballi* en laboratoire. Il existe un test pour *B. caballi* développé par le laboratoire des services nationaux à Ames dans l'Iowa (US). La recherche pour l'utilisation de ces tests en routine est en cours (Wise *et al.*, 2013).

E. Traitement

Dans les régions où la piroplasmose est endémique, le traitement est principalement utilisé pour réduire les signes cliniques et éviter une issue fatale. Dans des zones indemnes à l'inverse, il est intéressant d'essayer d'éradiquer le parasite de l'organisme pour éviter les animaux porteurs chroniques et asymptomatiques.

a. Molécules utilisées

i. Traitement disponible en France

Le traitement médicamenteux de la piroplasmose équine est d'efficacité variable. La seule molécule disponible et considérée comme efficace pour le traitement des piroplasmoses est le propionate d'imidocarbe qui a des propriétés babésicides (et anaplasmicides) dont le mécanisme d'action est méconnu. Il bloque la réplication de l'ADN du parasite après y avoir pénétré activement. On le trouve en France dans le Carbésia®. Le RCP n'en couvre l'utilisation à visée prophylactique et thérapeutique que pour les bovins (contre les babésioses, anaplasmoses et infections mixtes) et pour les chiens (contre les babésioses). En France, son utilisation thérapeutique contre les piroplasmoses équines se fait donc dans le cadre de la cascade.

La posologie pour les équidés n'étant pas donnée dans le RCP, on peut considérer celle recommandée pour les bovins : 2,125mg/kg en préventif ou 0,85mg/kg en curatif en intra-musculaire profonde ou en sous-cutané. Chez les bovins une seule injection est dite généralement suffisante (ANSES et INTERVET, 2020a).

ii. Traitement disponible à l'étranger

En Hollande par exemple, il existe avec AMM l'Imidocarb 120inj® traitant les babésioses chez les bovins, ovins, équin et chiens, les anaplasmoses chez les bovins et les ehrlichioses canines. La posologie recommandée pour ce produit chez les équidés est la même en curatif et en préventif : 2mL soit 240mg pour 100kg de poids vif, soit 2,4mg/kg. La voie sous-cutanée est utilisable mais la voie intramusculaire est préférable. Une injection est souvent suffisante en cas d'infection à *Babesia caballi*, une seconde injection est nécessaire à 24h d'intervalle en cas d'infection à *Theileria equi* (KEPRO, 2022, p. 120).

iii. Efficacité et protocoles

En pratique, peu de vétérinaires suivent la recommandation du RCP. Il apparaît que l'efficacité du traitement dépend du piroplasme impliqué. Plusieurs études ont été menées afin de déterminer l'efficacité du traitement contre les différents agents de piroplasmose et de trouver un protocole permettant non seulement la guérison clinique mais également leur éradication biologique de l'organisme.

Frerichs *et al.* ont montré en 1973 une variabilité dans l'efficacité de l'imidocarbe contre les piroplasmes. L'infection est éliminée avec 4 injections de 4mg/kg IM à 72h d'intervalle (un animal sain transfusé avec sang de cheval traité après infection ne montre pas de séroconversion) (Frerichs *et al.*, 1973).

Kuttler *et al.* ont montré en 1987 que *Theileria equi* n'est pas éliminé avec 4mg/kg car le parasite était retrouvé dans la rate de chevaux transfusés avec du sang de chevaux traités. L'utilisation de parvaquone en intra-musculaire à 20mg/kg était efficace en phase aigüe pour faire diminuer la parasitémie, sans pour autant éradiquer le parasite (Kuttler *et al.*, 1987).

D'autres études en 1989 et 1992 ont testé l'efficacité de la parvaquone (hydroxynaphtoquinone anti-protozoaire) contre les agents de la piroplasmose avec différentes doses et protocoles sans obtenir de guérison complète (Zaugg et Lane, 1992, 1989).

L'étude de Grause en 2013 a montré qu'il était possible de guérir des chevaux infectés expérimentalement avec *Theileria equi* avec le propionate d'imidocarbe à la dose de 4mg/kg intramusculaire, répété 4 fois à 72h d'intervalle (Grause *et al.*, 2013).

En revanche en 2009, Schwint *et al.* ont guéri biologiquement avec succès des chevaux infectés expérimentalement par *Babesia caballi* avec une dose de 4mg/kg en 4 injections à 72h d'intervalle (en démontrant l'absence de transmission du parasite à des chevaux sains par transfusion ou par vectorisation) (Schwint *et al.*, 2009).

Butler a montré en 2008 qu'un traitement à 4.7mg/kg de dipropionate d'imidocarbe en 5 doses intra-musculaire à 72h d'intervalle échouait dans l'élimination biologique complète de *Babesia caballi* et de *Theileria equi* chez des chevaux naturellement infectés. Les quatre chevaux ont montré des résultats PCR négatifs après traitement et sont redevenus positifs 6 à 18 semaines plus tard (Butler *et al.*, 2008).

Ueti confirme en 2012 que le dipropionate d'imidocarbe est efficace pour traiter *T. equi*, avec parfois la nécessité de renouveler le traitement (Ueti *et al.*, 2012).

En conclusion, il apparaît d'autant plus important de connaître l'agent étiologique impliqué afin d'adapter le traitement. L'administration d'imidocarbe recommandé implique de hautes doses (4mg/kg contre 2,4mg/kg sur l'AMM chevaux Hollandaise) en injections répétées (4 fois toutes les 72h) pour approcher une guérison biologique. Cette guérison est plus aisée à obtenir pour *Babesia caballi* que pour *Theileria equi*.

iv. Autres molécules citées

D'autres principes actifs furent étudiés au cours de plusieurs études. L'imidocarbe sous forme de sel de dichlorhydrate cause d'importants dommages musculaires au site d'injection, (Frerichs *et al.*, 1973) (Meyer *et al.*, 2005) tout comme l'acétate et le diacétate de diminazène. Ces deux derniers utilisés à la dose de 3.5mg/kg en deux fois à 48h d'intervalle ont montré respectivement 90% et 80% d'efficacité contre *Babesia caballi*. Leurs principaux effets secondaires liés à la toxicité de la molécule incluent détresse respiratoire et léthargie (Rashid et Chaudhry, 2007).

Un certain nombre de principes actifs reportés comme ayant une efficacité dans le traitement de la piroplasmose existent (enflavine, artesunate, buparvaquone, atovaquone...etc) mais ne sont plus utilisées en pratique de nos jours (Donnellan et Marais, 2009; Kumar *et al.*, 2003; Zaugg et Lane, 1989).

Certains protocoles de traitement incluent l'administration d'oxytétracycline en intra-veineux à la dose de 6-7mg/kg/j pendant 7 jours. Cela semble efficace contre *T. equi* mais pas contre *B. caballi*, bien qu'aucune mention de cette utilisation ne soit faite sur le RCP (Zobba *et al.*, 2008).

v. Effets indésirables et leur gestion

Les effets indésirables de l'imidocarbe chez le cheval comportent entre autres une réaction inflammatoire locale au site d'injection et des risques de colique. Pour pallier le premier effet secondaire on associe généralement un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) à l'injection d'imidocarbe. Le second effet indésirable étant particulièrement redouté en pratique équine, on peut administrer un antispasmodique (type Calmagine®, contenant du métamizole, à la dose de 23-46 mg/kg) (ANSES et VETOQUINOL, 2012).

L'imidocarbe ayant une activité anticholinestérase, on peut retrouver des effets secondaires du type sudation et agitation en plus des signes digestifs. En prévention de ces effets il est possible d'administrer du glycopyrrolate à la dose de 0.0025 mg/kg en une injection intra-veineuse (Wise *et al.*, 2013). Cela est rarement réalisé sur le terrain.

vi. Précautions d'emploi

L'administration de ce principe actif est déconseillée chez les ânes et mules qui y sont particulièrement sensibles (Frerichs *et al.*, 1973).

Il a été montré que l'administration de ce produit à une jument suitée donne lieu à une excrétion dans le lait 2 heures plus tard. La toxicité potentielle pour le poulain reste inconnue (Belloli *et al.*, 2002). Un cas d'administration d'imidocarbe à une jument gestante de jumeaux suivi d'un avortement induit a montré un taux circulant d'imidocarbe dans les foëti identique à celui du sérum de la mère (Lewis *et al.*, 1999).

Le produit est donc à éviter dans la mesure du possible chez les juments gestantes ou suitées.

Lors de phase aigüe de la maladie, il est préférable de stabiliser le cheval avant d'administrer le traitement. Une perfusion et des anti-inflammatoires comme la Finadyne®, flunixinine à administrer à la dose de 1mg/kg IV une à deux fois (ANSES et INTERVET, 2020b), peuvent être nécessaires, d'autant plus que la clairance hépatorenale de l'imidocarbe favorise les lésions hépatorenales (Adams, 1981; Meyer *et al.*, 2005).

L'imidocarbe permet en général une guérison clinique sans pour autant assurer une guérison parasitologique. La guérison de *Babesia caballi* peut se faire naturellement grâce au système immunitaire de l'équidé ou bien par voie médicale. En revanche, l'éradication de *Theileria equi* est rendue quasiment impossible par l'existence des schizontes dans les lymphocytes qui sont ses formes de résistances (Mans *et al.*, 2015).

Ainsi, sans connaître l'agent causal d'une piroplasmose clinique, il est impossible de donner un pronostic exact concernant la réussite du traitement. Il apparaît nécessaire de faire un maximum de prévention contre cette maladie.

F. Mesures de prévention

a. Surveillance des imports

A l'échelle mondiale, les pays où la piroplasmose est non-endémique se protègent en contrôlant les importations d'animaux depuis les zones endémiques, notamment par le biais des tests sérologiques comme l'IFAT, le CFT ou le cELISA. Un résultat positif entraîne un refus d'entrée de l'animal dans le pays, sauf dans de rares cas de manifestations sportives par exemple, avec une obligation de quarantaine à l'arrivée.

b. Prévention dans la gestion d'élevage

i. Médicalisation et surveillance des animaux

L'utilisation d'acaricides avant de déplacer des animaux semble une solution satisfaisante afin de limiter la propagation des vecteurs. Sur le court terme, l'utilisation d'organophosphorés, de pyréthriinoïdes et d'amidines semble efficace pour contrôler l'infestation par les tiques sur les chevaux. L'utilisation d'imidocarbe en préventif est parfois réalisé dans certaines régions endémiques avec une forte pression parasitaire. Bien que non prouvée, il semblerait que l'administration de vermifuge à base d'ivermectine aide à limiter les infections (Wise *et al.*, 2013).

De façon générale, une surveillance rapprochée des animaux avec notamment une inspection des chevaux et une pratique journalière de l'étiquage est recommandée. Bien que fastidieuse, cette méthode reste une des plus efficaces dans la prévention des maladies à tiques, avec l'application d'API.

ii. Gestion de l'environnement

Un autre moyen de limiter l'infestation des animaux par les tiques est la réduction de la végétation, avec la réduction du nombre de haies autour des pâtures, ou en éloignant les clôtures de celles-ci (Wise *et al.*, 2013).

c. Prévention dans la pratique vétérinaire

i. Mesures de biosécurité

Tout contact du sang d'un animal naïf avec celui d'un animal porteur est à risque de contamination. Tout vétérinaire se doit donc d'être précautionneux lors d'éventuelles transfusions, doit veiller au bon nettoyage de ses instruments chirurgicaux et doit utiliser du matériel stérile pour toute intervention intraveineuse.

ii. Prévention vaccinale ?

Il n'existe actuellement aucun vaccin contre la theileriose ou la babésiose chez les équidés, ni de vaccin humain contre la babésiose. La littérature ne montre pas d'étude récente en cours sur le sujet.

Partie 2 : Etude expérimentale

Il n'existe que peu de données récentes sur les séroprévalence et prévalence des piroplasmoses équine à *Theileria equi* et *Babesia caballi* en France. L'impact économique et sanitaire de cette maladie est non négligeable pour les propriétaires et pour les filières d'élevage.

L'objectif de notre étude est dans un premier temps de décrire la séroprévalence et la prévalence des piroplasmoses à *Babesia caballi*, à *Theileria equi* et des co-infections chez des chevaux de traits dans une zone endémique (Région Auvergne-Rhône-Alpes). Ensuite, nous avons tenté d'en dégager certains facteurs de risques ou facteurs protecteurs, dans le but d'en tirer d'éventuelles recommandations pour les éleveurs, permettant de limiter les infections.

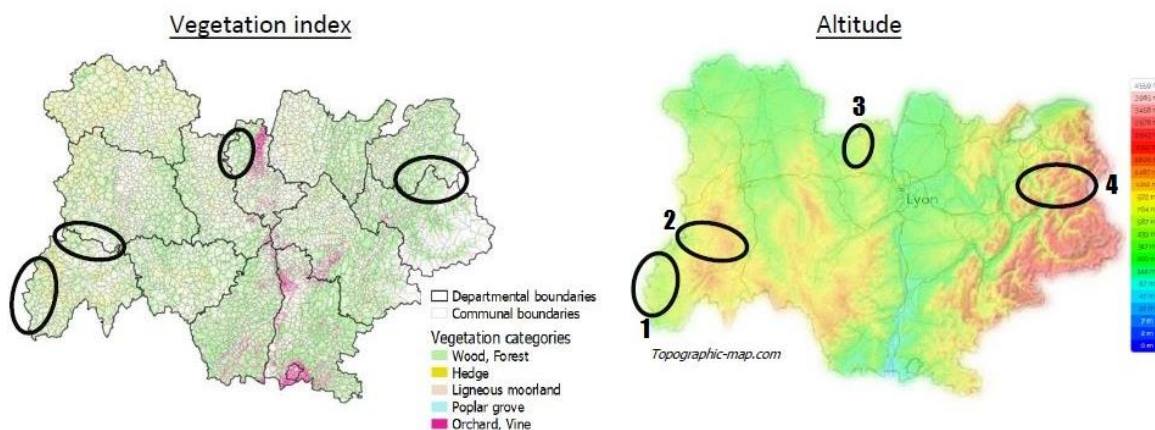
1. Matériel et méthodes

A. Collecte des données

Nous avons inclus dans notre étude des chevaux de trait élevés en Région Auvergne-Rhône-Alpes. Le choix de cette région repose sur la forte séroprévalence de *T. equi* et *B. caballi* d'après l'étude de Soule *et al.* (1998), sa forte activité d'élevage et ses conditions environnementales variées (altitude et végétation). De plus, les chevaux de trait constituent un bon modèle d'étude car ils sont élevés en pâtures où ils sont particulièrement exposés aux tiques.

Cette thèse s'inscrivant dans le cadre de la thèse du Dr. Clémence NADAL, doctorante à l'ANSES, on ne s'intéressera qu'aux deux premières zones étudiées entre le Cantal et le Puy-de-Dôme (Figure 20). Le Rhône et la Haute Savoie feront l'objet d'une analyse semblable par ailleurs dans la thèse du Dr NADAL.

Figure 20 : Caractéristiques des zones étudiées. A gauche : l'index de végétation de zones étudiées. A droite : l'altitude. Les zones 1 et 2 sont celles considérées dans cette étude, les zones 3 et 4 sont étudiées dans la thèse du Dr NADAL. D'après (Nadal, 2020)



La SFET nous a fourni la liste des élevages dans le Cantal, notre région d'intérêt. Le nombre d'élevages inclus dans l'étude a été calculé en fonction des séroprévalences attendues pour *T. equi* et *B. caballi*, soit environ 40% pour la région (Lemetayer, 2007). Notre étude correspond à un sondage à deux degrés, le premier étant l'élevage et le second étant le cheval, le nombre d'élevages à prélever a été calculé en fonction de la prévalence attendue, d'une précision relative fixée à 22%, d'un risque alpha de 5% et d'un coefficient intra-classe de 4,5% (Costa *et al.*, 2019).

Ce calcul a indiqué que pour trois chevaux prélevés par élevage, il fallait inclure 45 élevages (soit 136 chevaux) et que pour cinq chevaux prélevés par élevage, il fallait inclure 29 élevages. Nous avons estimé pouvoir prélever quatre chevaux par élevages, ainsi nous avons choisi d'inclure 38 élevages dans l'étude.

A partir de la liste fournie, environ 70 élevages ont été tirés au sort dans chaque zone. Une phase de prospection téléphonique nous a ensuite permis d'inclure les élevages dans l'étude sur base de volontariat. L'étude présentée dans cette thèse n'est réalisée que sur les deux premières zones étudiées et comprend 20 élevages.

Le nombre de chevaux prélevés est fonction de la taille de l'élevage. Pour les exploitations de moins de 4 chevaux, tous les chevaux présents sont inclus dans l'étude. Pour les exploitations de 5 à 9 chevaux, seuls 5 animaux sont inclus. Pour les exploitations de 10 chevaux et plus, seuls 7 animaux sont inclus.

B. Prélèvements sur le terrain

Pour chaque cheval de l'étude, nous avons collecté les caractéristiques individuelles, fait une collecte des tiques présentes sur l'animal et prélevé des échantillons sanguins. Nous avons également recueilli des informations sur les pratiques d'élevage et sur les caractéristiques des pâtures fréquentées par les chevaux.

a. Données sur les pratiques d'élevage

Afin de connaître les pratiques d'élevage auxquelles chaque cheval a été exposé, nous avons envoyé par mail le questionnaire présenté en *Annexe 1* à chaque éleveur en amont de notre visite. Lorsque l'envoi par mail n'était pas possible, lors d'oubli ou en cas de questions ce questionnaire était rempli avec l'éleveur au cours de la visite.

Nous avons ainsi collecté des informations sur le type d'élevage (exploitation bovine, activités annexes), sa taille, sa conduite (gestion des sorties des animaux, pratiques de détiqage et de déparasitage), ses antécédents éventuels de piroplasmose et son entretien environnemental.

b. Données individuelles

Lors de la visite de chaque élevage, une « Fiche cheval » dont le modèle est présenté en *Annexe 2* est remplie pour chaque animal inclus dans l'étude. On y recueille l'âge, le sexe, la race, la robe, la note d'état corporel, les traitements antiparasitaires internes et externes reçus, le statut vaccinal et les éventuels antécédents médicaux.

Une collecte des tiques est réalisée sur chaque cheval, lorsque le parasite est présent (Figures 21 et 22). La localisation de chaque parasite est notée sur la « Fiche cheval » (*Annexe 2*) ainsi que le nombre de tiques trouvées par animal. Les tiques sont collectées dans des tubes à prélèvements, avec pour objectif d'en identifier l'espèce et d'analyser les agents pathogènes qu'elles portent. Ces dernières données étant présentées dans les thèses de C. CHANET et C. NADAL.

Figure 21 : Tique en déplacement sur le garrot d'un cheval de



Figure 22 : Retrait d'une tique du poitrail d'un cheval de l'étude



c. Données environnementales sur les pâtures

Pour chaque cheval on réalise une collecte de données sur les pâtures fréquentées dans les deux derniers mois. En général il s'agit de la pâture actuellement fréquentée. Pour chacune on remplit une « Fiche pâture » dont le modèle est présenté en *Annexe 2*. La surface est estimée et un plan de chaque pâture est dessiné. On collecte des informations suivantes :

- type de pâturage (densité animale, co-pâturage avec des bovins ou non),
- végétation (présence de buissons, de forêt dans la pâture, de points d'eau),
- espace environnant (présence de faune sauvage, contiguïté avec des pâtures de bétail, avec des cultures agricoles ou une forêt).

Un exemple de pâture étudiée en zone 2 est présenté en Figure 23.

Figure 23 : Exemple d'une pâture en zone 2, comprenant une forêt dans la pâture et à proximité directe



Une pâture est dite humide si elle comporte des zones de stagnation d'eau ou des cours d'eau à proximité ou dans la pâture. On considère qu'une pâture est à proximité d'une forêt lorsqu'au moins une portion de clôture de la pâture est en contact direct avec un bois.

C. Collecte, envoi et analyse des échantillons sanguins

a. Collecte et envoi des prélèvements

Après la collecte de l'ensemble des informations sur chaque animal et sur son environnement, nous avons effectué deux prélèvements sanguins à la veine jugulaire sur chaque cheval. L'un sur tube sec pour analyse sérologique (ELISA), l'autre sur tube EDTA pour analyse PCR. Chaque tube est identifié avec le numéro de zone, d'élevage, de cheval et de pâtures concernés (Figure 24). Les prélèvements ont été conservés au frais après formation du caillot pour les tubes secs, puis envoyés par Chronopost au laboratoire LABEO en Normandie (Calvados) pour analyse.

Figure 24 : Tubes de prélèvements envoyés au laboratoire



b. Analyse des prélèvements

Le fabricant du kit sérologique (cELISA) utilisé par le laboratoire ayant travaillé sur cette étude affiche, par rapport au set de référence de l'OIE, une sensibilité et une spécificité de 100% pour *B. caballi* (VMRD, 2021) et une sensibilité de 95% et une spécificité de 99,5% pour *T. equi* (VMRD, 2020). Les informations sur la sensibilité et la spécificité du test PCR pour *B. caballi* et du test pour *T. equi* effectué par le laboratoire ne sont pas connues.

D. Analyses statistiques

a. Constitution de la base de données

L'ensemble des informations collectées sur les caractéristiques individuelles des animaux de l'étude, concernant les pratiques d'élevage leur étant associées et leurs environnements sont saisies dans un tableur Excel. Chaque ligne correspond à un cheval. Les colonnes contiennent les caractéristiques individuelles : le numéro de l'élevage concerné, la race, le sexe, l'âge, la robe (classée en « claire », soit les chevaux gris, rouans, alezans et alezans crins lavés ou « foncée » pour les chevaux alezan brûlés, bais et noirs), le nombre de tiques prélevées, le résultat sérologique et PCR pour *Babesia caballi* et pour *Theileria equi*, une colonne pour les coinfections et une pour les doubles séropositivités.

On saisit ensuite les pratiques d'élevages : la fréquence annuelle d'utilisation d'antiparasitaire externe (APE), d'antiparasitaire interne ou vermifuge (API), les molécules concernées et le statut vaccinal (classé en « à jour » ou « non à jour »).

Enfin, les données saisies concernant les facteurs environnementaux sont : la zone étudiée (n°1 ou n°2), la taille de pâture en hectares, le nombre de chevaux dans la pâture, le chargement de la pâture en nombre de chevaux par hectare (nombre moyen de chevaux dans la pâture divisé par la taille de la pâture), la présence de bovins en co-pâturage, l'humidité de la pâture (classée binairesment en « oui » ou « non »), la présence de forêt à proximité directe de la pâture, la présence de forêt dans la pâture (absente, de zéro à 25% en surface, de 25 à 50% en surface), la présence de buissons, d'arbustes dans la pâture. On assemble ces trois dernières variables pour créer la variable « Végétation de la pâture » (faible ou forte).

b. Analyse descriptive

Les caractéristiques des chevaux de l'échantillon sont étudiées avec le logiciel Excel, en utilisant la fonction de tri, de somme, de calculs de moyenne. Pour les calculs de séroprévalence et prévalence ainsi que pour le calcul des écarts types, on utilise également Excel.

Pour un individu, être « doublement séropositif » signifie avoir obtenu un résultat sérologique positif à *B. caballi* et à *T. equi*. Être « co-infecté » signifie avoir obtenu un résultat PCR positif à *B. caballi* et à *T. equi*.

c. Modèles statistiques

Pour nos analyses statistiques, on utilise le logiciel R. L'unique cheval de race percheron, ainsi que les quatre chevaux « croisés » sont exclus des analyses car trois d'entre eux sont groupés dans le même élevage créant ainsi un biais potentiel non négligeable.

i. Random forest

Le nombre de variables étudiées étant trop important pour pouvoir toutes les intégrer directement à un modèle statistique au vu du nombre limité de chevaux inclus dans l'analyse, nous avons recours aux forêts aléatoires (random forest sur le logiciel R) afin de réaliser un premier tri des variables associées à notre variable d'intérêt. Nos variables d'intérêt correspondent à la séropositivité ou la positivité à l'un ou l'autre agent de piroplasmose équine (Annexe 4).

Cet outil génère aléatoirement un nombre défini d'arbres de classification (n=500) confrontant plusieurs variables parmi la liste de variables explicatives à chaque nœud des arbres. Chaque issue d'arbre décisionnel correspond à un « vote » pour la variable supposée la plus probablement liée à la variable d'intérêt. Au bout des 500 simulations, le nombre de votes pour chaque variable est comptabilisé et présenté sous forme de liste. Cette liste est une classification des variables les plus aux moins probablement associées à la variable d'intérêt.

ii. Modèles de régression logistique mixte

Dans notre étude, l'échantillonnage est réalisé en « strates », car plusieurs chevaux sont prélevés dans chaque élevage. Ces individus présentent plus de similitudes entre eux qu'ils n'en présentent avec des animaux d'autres élevages, car ils sont globalement soumis aux mêmes pratiques d'élevages et aux mêmes conditions environnementales. Pour prendre en compte cet élément, on utilise des modèles de régression logistique mixte afin de trouver les éventuelles associations entre nos variables d'intérêt binaires (statuts sérologiques ou PCR) et les variables individuelles, en lien avec les pratiques d'élevage ou les conditions environnementales. Les modèles ont pour effet fixe la variable d'intérêt, et pour effet aléatoire la variable « élevage ».

A l'aide des forêts aléatoires, on sélectionne un minimum de deux variables à inclure dans chaque modèle de régression logistique mixte. On inclut les variables présentes dans plus de 50% des arbres (ordonnées supérieures à 0.5 sur les graphiques présentés), ou bien le groupe de variable se démarquant des autres s'il n'existe pas de variables répondant au premier critère.

2. Résultats

A. Collecte de données

Au total, la visite de nos 20 élevages a permis d'inclure 77 chevaux dans cette étude, soit 35 chevaux en zone 1 et 42 en zone 2. Nous avons donc prélevé entre 1 et 7 chevaux par exploitation et en moyenne 3,85 chevaux par élevage.

La non-inclusion d'élevages s'expliquait par une non-réponse de l'éleveur, par une activité devenue inexistante, par un refus simple, par un manque de temps ou une indisponibilité sur la période visée ou par un manque de manipulabilité des animaux. L'objectif était d'obtenir 10 élevages volontaires par zone. En zone 1, pour 37 personnes contactées, 17 n'ont pas été joignables, 4 ont refusé, 6 ne possédaient plus de chevaux et 10 ont accepté. En zone 2, pour 45 personnes contactées, 29 n'ont pas été joignables, trois n'avaient plus de chevaux, trois ont refusé et 10 ont accepté.

B. Analyses statistiques

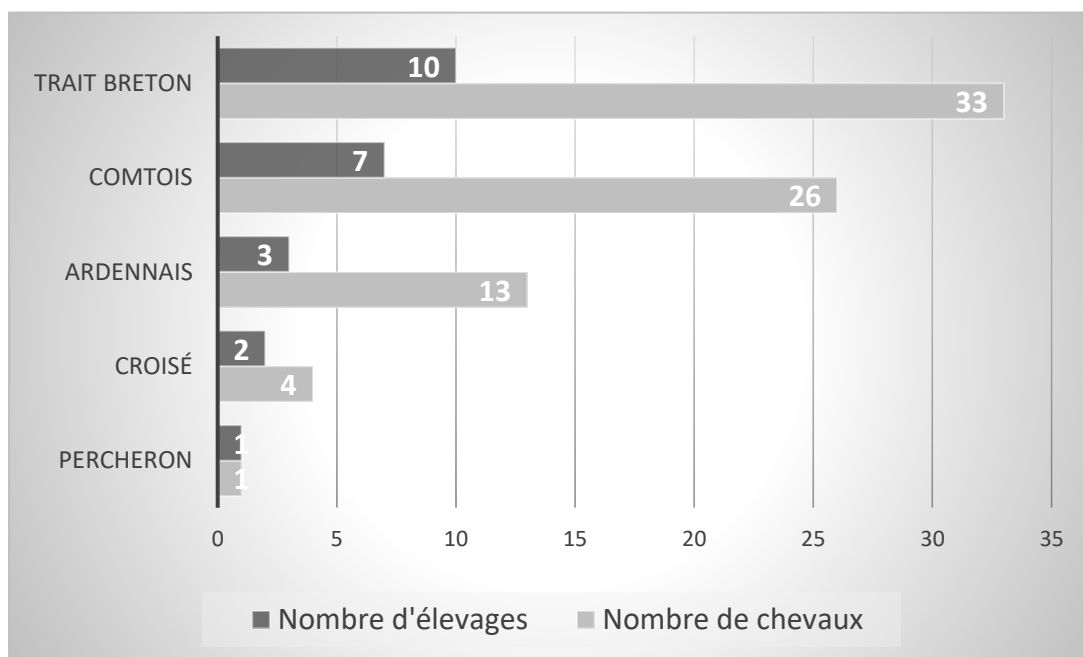
a. Description des données

Dans cette partie, nous décrivons la population de chevaux que nous avons prélevée.

- Races de chevaux prélevés

Comme présenté en Figure 25, les races les plus représentées dans l'échantillon sont les traits bretons et les comtois. Les croisés correspondent à des chevaux croisés trait breton ou ardennais, trois d'entre eux appartiennent au même élevage.

Figure 25 : Répartition des races dans les élevages et effectifs prélevés



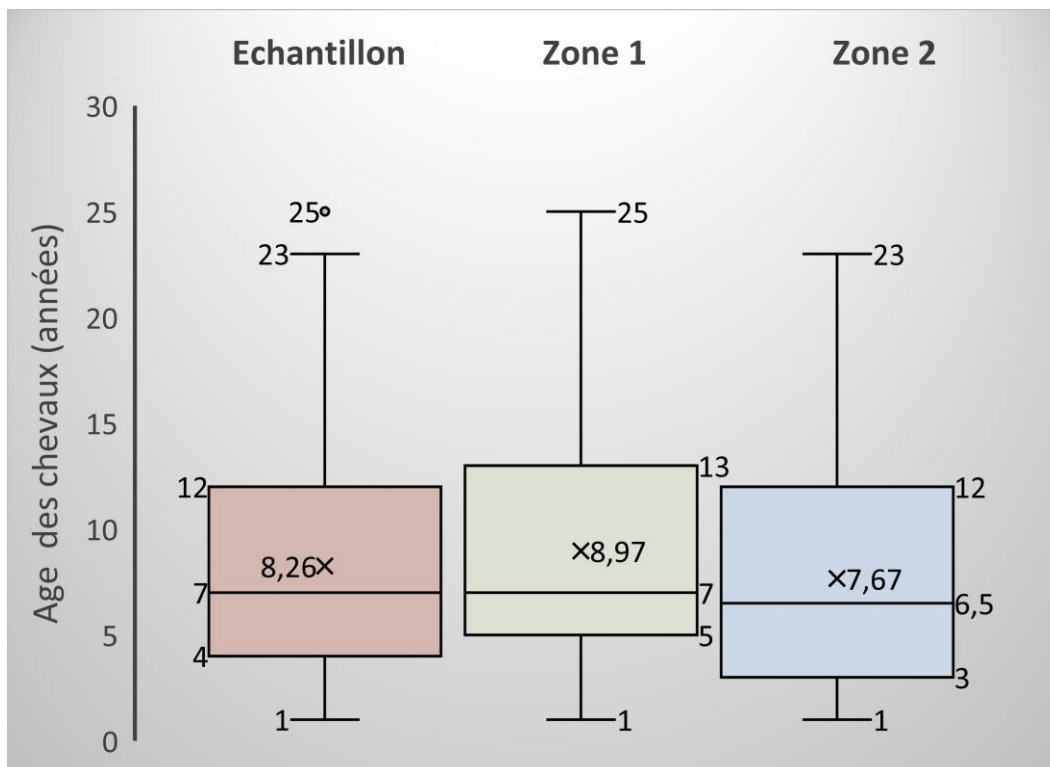
- Robe des chevaux prélevés

Dans notre échantillon, 28,5% des chevaux ont une robe foncée. Dans la zone 1, il y a 12 chevaux à robe foncée sur 35 (34,3%), en zone 2 il y en a 10 sur 42 (23,8%). Les robes claires prédominent dans notre étude.

- Age des chevaux prélevés

Il y a de jeunes chevaux et des vieux individus en zone 1 comme en zone 2 (Figure 26). La moyenne d'âge en zone 1 est de 8,97 ans alors qu'elle n'est que de 7,67 ans en zone 2.

Figure 26 : Age des chevaux de l'échantillon et en fonction de la zone



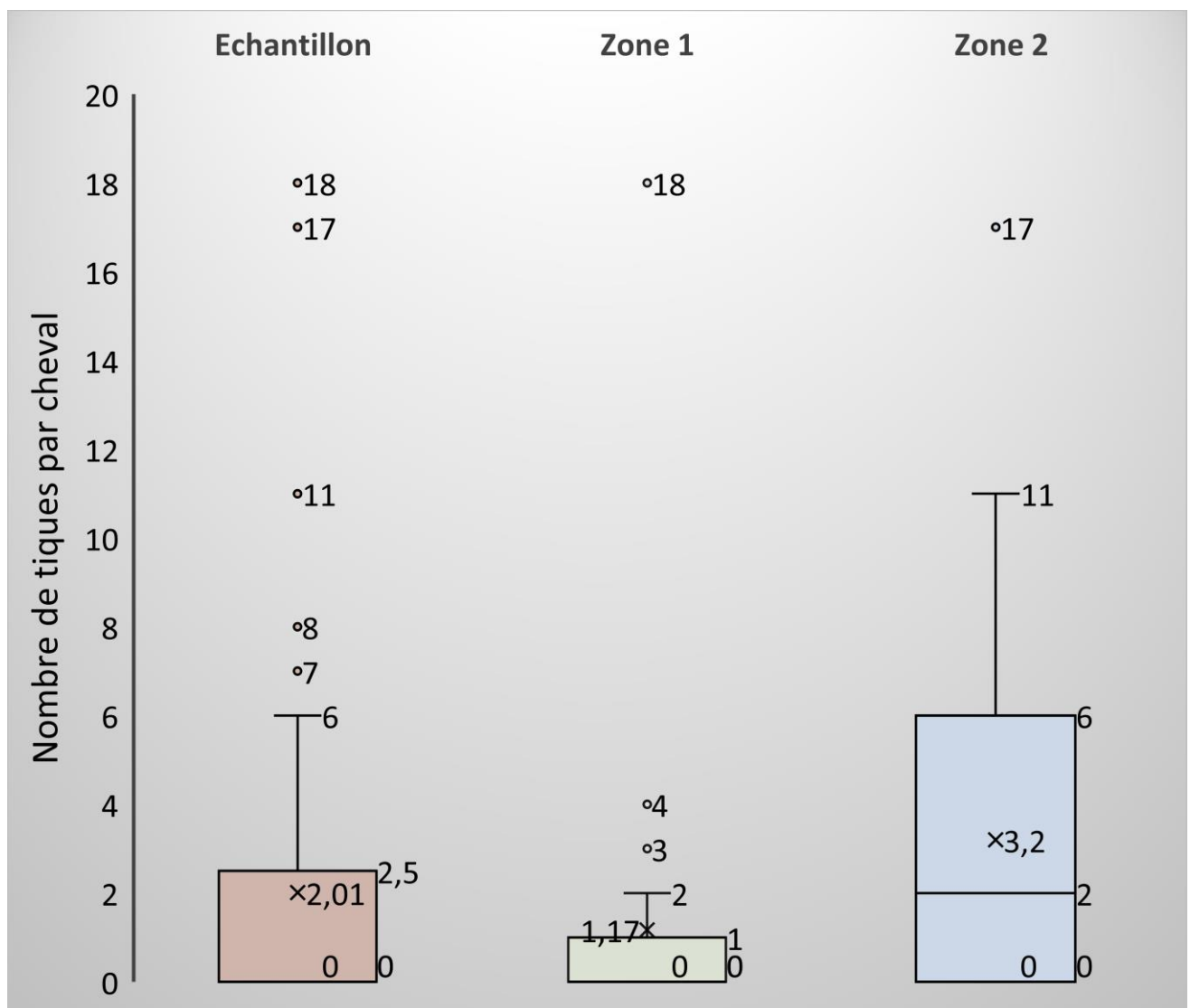
- Genre des chevaux prélevés

Notre étude comporte 4 étalons, dont trois en zone 1 et 73 juments

- Nombre de tiques par cheval

Sur les 77 chevaux prélevés, 44 chevaux ne portaient aucune tique visible. Au total 155 tiques furent retirées. On a collecté en moyenne 1,17 tiques par cheval en zone 1, contre 3,2 tiques par cheval en moyenne en zone 2 (Figure 27).

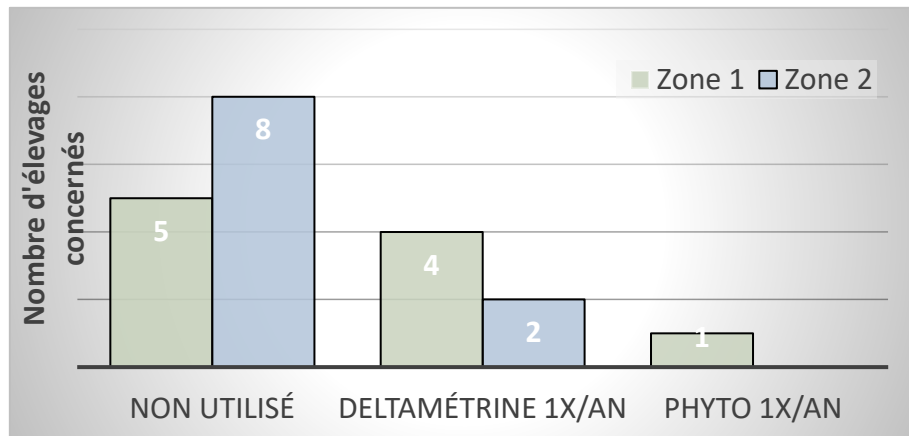
Figure 27 : Nombre de tiques par cheval dans l'échantillon et en fonction de la zone



- Usage des antiparasitaires externes (APE)

On observe que 65% des élevages étudiés, soit 71,4% des chevaux de l'échantillon, n'utilisent pas d'APE. L'utilisation des APE par les élevages en fonction de la zone est présenté en Figure 28.

Figure 28 : Utilisation des APE dans les élevages étudiés en fonction de la zone

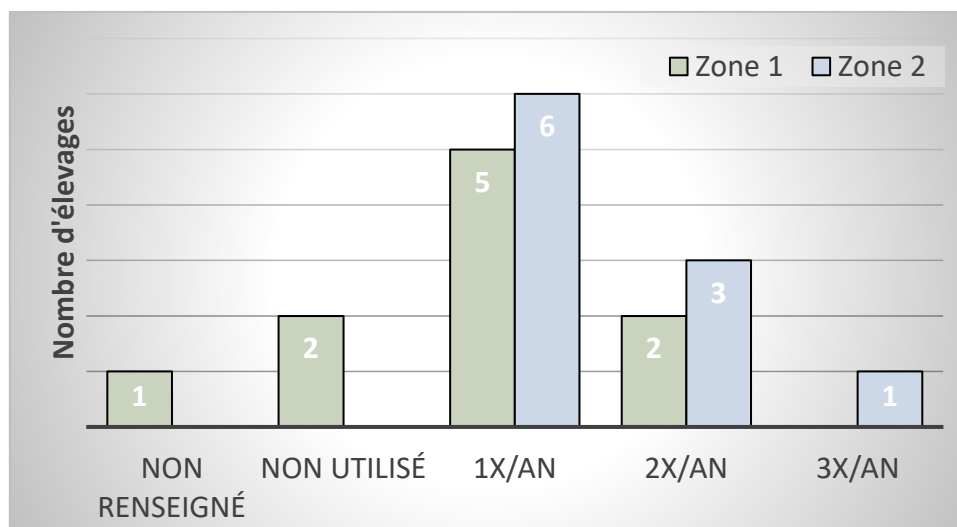


Un élevage déclare utiliser de la phytothérapie comme antiparasitaire externe (Emouchine®) et le reste des élevages (30% correspondant à 26% des chevaux de l'échantillon) utilise de la deltaméthrine une fois par an. Tous produits confondus, en zone 1 17 chevaux sur 35 (soit 48,5%) des chevaux sont traités, contre 5 chevaux sur 42 (soit 11,9%) en zone 2.

- Usage des antiparasitaires internes (API) ou vermifuges

Sur les 20 élevages étudiés, 11 utilisaient un antiparasitaire interne une fois par an (soit 55,55%), 10% n'utilisent pas d'API et 5% en utilisent 3 fois par an. La fréquence d'utilisation des API par les élevages en fonction de la zone est présenté en figure 29.

Figure 29 : Fréquence d'utilisation des API dans les élevages étudiés en fonction de la zone



Environ 65% des chevaux de l'étude reçoivent de l'ivermectine seule ou en association avec un autre antiparasitaire (dont 13% avec du fenbendazole), 11,6% reçoivent du praziquantel seul ou en association et quasiment 26% des chevaux reçoivent de la moxidectine seule ou en association.

- Statut vaccinal des chevaux de l'échantillon

La majorité des élevages de l'échantillon vaccinaient leurs chevaux régulièrement contre la grippe et le tétanos.

Le nombre d'élevages maintenant une vaccination de ses chevaux à jour (rappel de vaccin grippe de moins d'un an et tétanos de moins de trois ans) et le nombre d'élevages ne vaccinant pas son cheptel sont identiques entre les zones 1 et 2.

- Taille des pâtures étudiées

Une à trois pâtures furent étudiées par élevage visité, pour un total de 34 pâtures explorées. En zone 1, 18 pâtures furent étudiées, leur taille varie entre 0,25 et 50 hectares, pour mesurer en moyenne 5,32 hectares. En zone 2, 16 pâtures furent étudiées, leur taille varie entre 0,25 et 15 hectares et elles mesurent en moyenne 5,09 hectares.

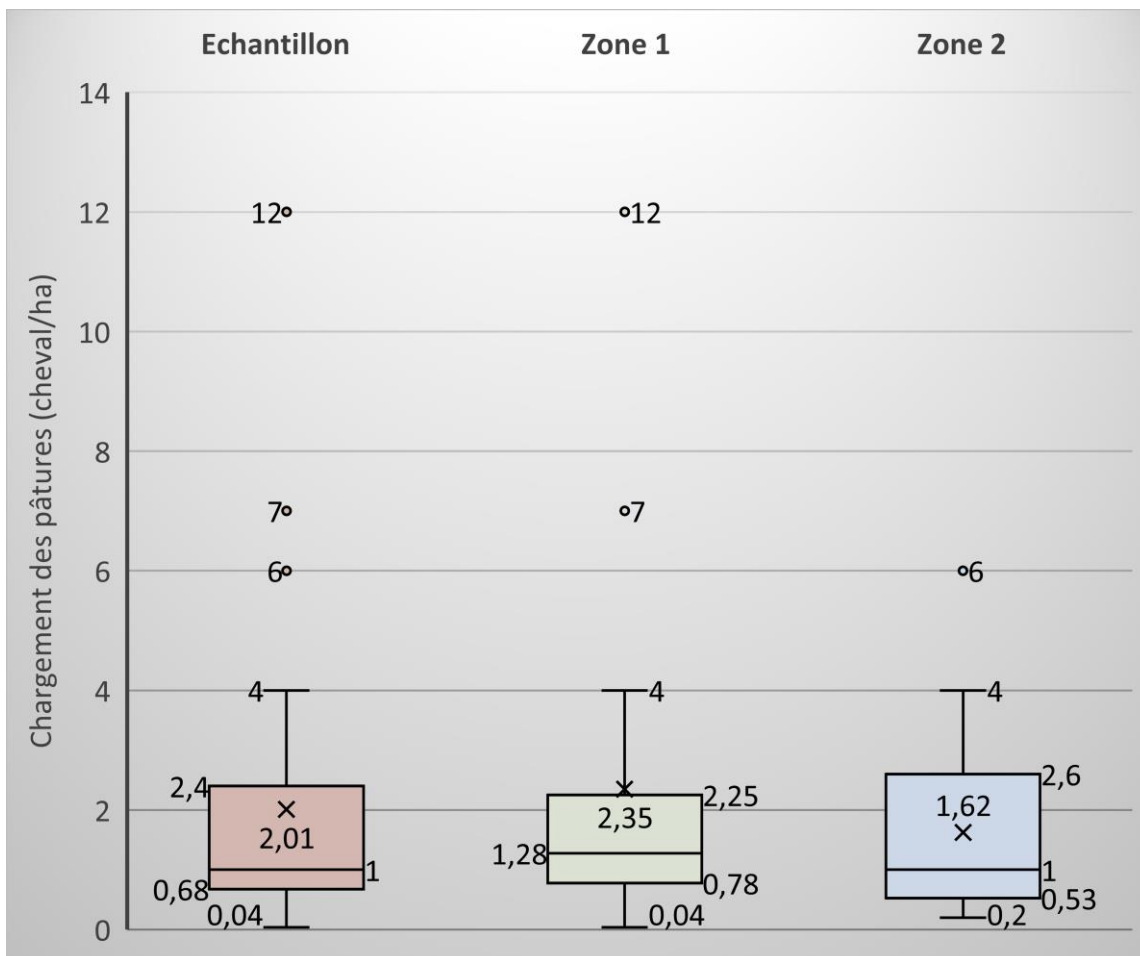
- Nombre de chevaux dans les pâtures étudiées

Les pâtures de l'échantillon hébergent en moyenne 3,8 chevaux. En zone 1, les pâtures hébergent entre 1 et 7 chevaux avec en moyenne 3,22 chevaux par pâture. En zone 2, les pâtures hébergent entre 1 et 9 chevaux avec en moyenne 4,44 chevaux par pâture.

- Chargement des pâtures

En zone 1, le chargement des pâtures varie entre 0,04 et 12 chevaux par hectare, avec une valeur de chargement moyen des pâtures de 2,35 chevaux par hectare. En zone 2, le chargement des pâtures varie entre 0,2 et 6 chevaux par hectare et le chargement moyen est de 1,62 cheval par hectare (figure 30).

Figure 30 : Chargement des pâtures dans l'échantillon et en fonction de la zone



- Humidité des pâtures

Dans notre étude, sur les 17 pâtures (sur les 34 étudiées) considérées comme humides, 8 sont en zone 1 et 9 sont en zone 2. Les données récoltées sur l'inondabilité des pâtures n'ont pas été exploitées, car la fiabilité de cette information fournie par les éleveurs n'était pas suffisante.

- Co-pâturage avec des bovins

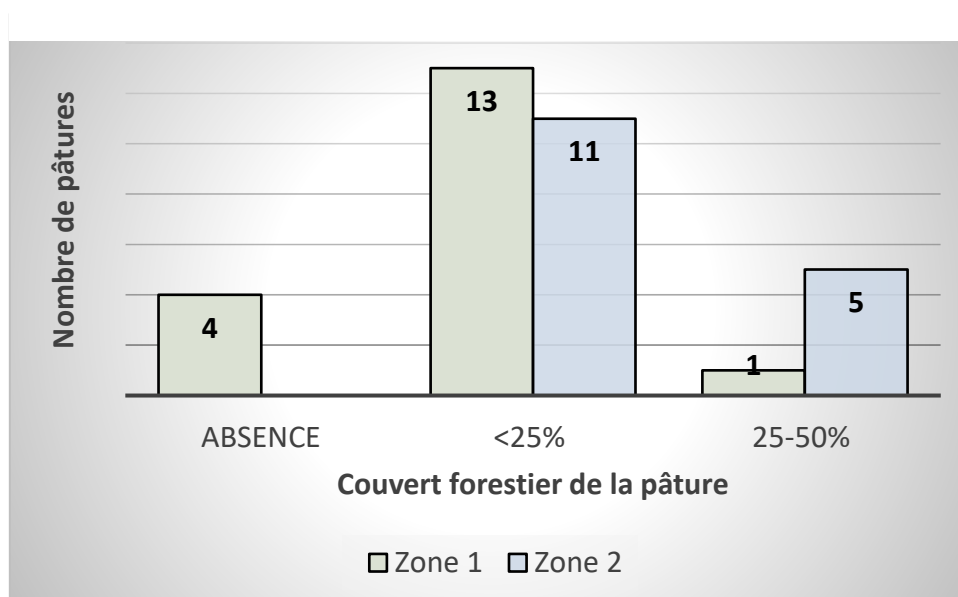
Une forte proportion des pâtures étudiées accueillait des bovins en co-pâturage alterné. Dans l'échantillon 24/34 pâtures soit 70.5% fonctionnent en co-pâturage : 12/18 pâtures soit 66% des pâtures étudiées en zone 1 et 12/16 pâtures soit 75% des pâtures étudiées en zone 2.

A l'échelle des chevaux, dans l'échantillon 74% des individus sont en co-pâturage avec des bovins : en zone 1 cela représente 65,7% des chevaux et 80, 9% en zone 2.

- Végétation dans les pâtures

On observe que 22 pâtures sur les 34 considérées (64,7%) comportent des buissons ou des arbustes. Le couvert forestier des pâtures était généralement faible, comme l'illustre la Figure 31 ci-dessous.

Figure 31 : Couvert forestier des pâtures en fonction de la zone



La majorité des pâtures étudiées comportaient un couvert végétal moyen à important. Les trois pâtures à faible couvert végétal appartiennent à deux élevages de la zone 1. Parmi les six pâtures à fort couvert végétal, une appartient à la zone 1 et les cinq autres appartiennent à cinq élevages de la zone 2.

- Présence de forêt à proximité directe de la pâture

Qu'il s'agisse de l'échantillon, de la zone 1 ou de la zone 2, il y a exactement 50% des pâtures à proximité directe d'une forêt.

b. Séroprévalence et prévalence de *B. caballi* et *T. equi*

Sur les 77 chevaux de l'étude, on observe 42 chevaux séropositifs et huit positifs à *B. caballi*, 20 chevaux séropositifs et 24 positifs à *T. equi*, 16 chevaux doublement séropositifs et 4 chevaux co-infectés. Les séroprévalences et prévalences obtenues sont présentées dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Séroprévalence et prévalence dans l'échantillon avec intervalles de confiance à 95%

	<i>B. caballi</i>	<i>T. equi</i>	<i>B. caballi</i> et <i>T. equi</i>
Séroprévalence	54,5 % IC95% = [43,4 ; 65,6]	26 % IC95% = [16,1 ; 35,8]	20,8 % IC95% = [11,7 ; 29,9]
Prévalence	10,4 % IC95% = [3,5 ; 17,2]	31,2 % IC95% = [20,8 ; 41,6]	5,2 % IC95% = [0,2 ; 10,2]

On observe les points suivants :

- les huit chevaux positifs à *B. caballi* y sont également séropositifs,
- 80% des chevaux séropositifs à *T. equi* le sont également à *B. caballi*,
- 40,3% des chevaux de l'étude sont sérologiquement indemnes de piroplasmose,
- 20 des 24 chevaux positifs en PCR à *T. equi* y sont également séropositifs.

c. Résultats sérologiques et PCR dans l'échantillon en fonction des variables individuelles, liées aux pratiques d'élevage et environnementales

i. Babesia caballi

On observe une séroprévalence de *B. caballi* de $54.5 \pm 11,1\%$ IC95% = [43,4 ; 65,6] et une prévalence de $10,4 \pm 6,8 \%$ (IC95% = [3,5 ; 17,2]).

Les trois tableaux suivants présentent les effectifs de chevaux séropositifs ou positifs à *B. caballi* en fonction des variables individuelles (Tableau 7), des variables liées aux conditions d'élevage (Tableau 8) et des variables liées aux conditions environnementales (Tableau 9).

Tableau 7 : Résultats sérologiques et PCR pour *B. caballi* en fonction des variables individuelles

<i>Babesia caballi</i>		Sérologie			PCR	
		Total n	Positive		Positive	
			n	(%)	n	(%)
		77	42	54,5	8	10,4
Age (années)	< 2	10	6	60,0	1	10,0
	3-10	42	19	45,2	3	7,1
	> 10	25	17	68,0	4	16,0
Genre	Etalon	4	2	50,0	1	25,0
	Jument	73	42	57,5	7	9,6
Race	Trait breton	33	15	45,5	1	3,0
	Comtois	26	20	76,9	4	15,4
	Ardennais	13	2	15,4	1	7,7
	Percheron	1	1	100,0	0	0,0
	Croisé	4	4	100,0	2	50,0
Robe	Claire	55	34	61,8	7	12,7
	Foncée	22	8	36,4	1	4,5

Les chevaux séropositifs à *B. caballi* ont en moyenne 8,8 ans, les chevaux positifs à *B. caballi* ont en moyenne 7,6 ans. On note que pour les huit chevaux positifs

à *B. caballi* seuls trois (37,5%) sont vaccinés, trois chevaux (60%) sont traités avec des anti-parasitaires externes (Deltamétrine), tous ne reçoivent qu'un vermifuge par an contenant au moins de l'ivermectine, sauf un qui en reçoit trois fois par an à base d'ivermectine et de moxidectine.

Tableau 8 : Résultats sérologiques et PCR pour *B. caballi* en fonction des pratiques d'élevage

<i>Babesia caballi</i>		Sérologie			PCR	
		Total	Positive		Positive	
		n	n	(%)	n	(%)
		77	42	54,5	8	10,4
Vaccination	Non vacciné	29	16	55,2	5	17,2
	Vaccins à jour	48	26	54,2	3	6,3
API (3 NR)	Non utilisé	3	3	100,0	0	0,0
	1x/an	48	23	47,9	7	14,6
	2x/an	16	7	43,8	0	0,0
	3x/an	7	6	85,7	1	14,3
APE	Non utilisé	48	25	52,1	5	10,4
	1x/an	29	17	58,6	3	10,3

Il y a des proportions similaires de chevaux séropositifs parmi les chevaux vaccinés que parmi les chevaux non vaccinés. En revanche il y a 17,2% de chevaux non vaccinés positifs à *B. caballi* contre 6,3% négatifs.

Les chevaux ne recevant pas de vermifuge, qui sont tous séropositifs et tous négatifs, appartiennent à deux élevages en zone 1. Les chevaux recevant trois traitements vermifuges par an, séropositifs à 85,7% et positifs à 14,3% sont tous du même élevage en zone 2.

Les proportions de chevaux séropositifs ou positifs à *B. caballi* parmi les chevaux non traités avec un APE sont respectivement semblables aux proportions de chevaux séropositifs ou positifs parmi les chevaux recevant un traitement par an.

Tableau 9 : Résultats sérologiques et PCR pour *B. caballi* en fonction des variables environnementales

<i>Babesia caballi</i>		Sérologie			PCR	
		Total n	Positive n (%)		Positive n (%)	
		77	42	54,5	8	10,4
Zone	Zone 1	35	16	45,7	1	2,9
	Zone 2	42	26	61,9	7	16,7
Portage de tiques (tiques/cv)	0	44	14	31,8	1	2,3
	1 à 10	29	24	82,8	6	20,7
	> 10	4	4	100,0	1	25,0
Taille de pâture (ha)	Jusqu'à 1	13	4	30,8	0	0,0
	1 à 5	39	23	59,0	4	10,3
	> 5	25	15	60,0	4	16,0
Nombre de chevaux par pâture	Seul	6	2	33,3	0	0,0
	2 à 4	32	22	68,8	4	12,5
	> 5	39	18	46,2	4	10,3
Chargement moyen de la pâture (cv/ha)	Jusqu'à 1	46	26	56,5	5	10,9
]1 à 2]	14	10	71,4	1	7,1
	> 2	17	6	35,3	2	11,8
Co-pâturage avec des bovins	Non	20	8	40,0	1	5,0
	Oui	57	34	59,6	7	12,3
Pâture humide	Non	35	17	48,6	3	8,6
	Oui	42	25	59,5	5	11,9
Forêt dans la pâture	Absence	7	6	85,7	0	0,0
	<25%	53	23	43,4	6	11,3
	25-50%	17	13	76,5	2	11,8
Buissons dans la pâture	Non	24	15	62,5	4	16,7
	Oui	53	27	50,9	4	7,5
Couvert végétal de la pâture	Absent	4	3	75,0	0	0,0
	Moyen	56	26	46,4	6	10,7
	Fort	17	13	76,5	2	11,8
	Non	34	14	41,2	3	8,8

Proximité de forêt	Oui	43	28	65,1	5	11,6
---------------------------	------------	-----------	----	------	---	------

On remarque que les chevaux séropositifs à *B. caballi* portent en moyenne 3,1 tiques. De plus, les chevaux séropositifs à *B. caballi* vivent dans les pâtures mesurant en moyenne 6,5 ha, comportant 4,4 chevaux par pâture en moyenne avec pour chargement moyen de 1,37 cheval par hectare.

Les huit chevaux positifs à *B. caballi* sont répartis dans 7 élevages qui sont tous, à une exception près, dans la zone 2, portent entre 0 et 17 tiques, pour en moyenne 4 tiques par cheval. La taille moyenne de leurs pâtures va de 3 à 50ha, pour une moyenne de 11,8 ha, et elles hébergent en moyenne 4,9 chevaux pour un chargement moyen de 1 cheval par hectare.

De plus, 62,5% des pâtures sont à proximité direct d'une forêt.

d. Séroprévalence et prévalence de *T. equi*

Dans notre étude nous observons une séroprévalence de *T. equi* de 26 % (IC95% = [16,1 ; 35,8]) et une prévalence de 31,2 % (IC95% = [20,8 ; 41,6]). Les trois tableaux suivants présentent les effectifs de chevaux séropositifs ou positifs à *T. equi* en fonction des variables individuelles (Tableau 10), des variables liées aux conditions d'élevage (Tableau 11) et des variables liées aux conditions environnementales (Tableau 12).

Tableau 10 : Résultats sérologiques et PCR pour *T. equi* en fonction des variables individuelles

<i>Theileria equi</i>		Sérologie			PCR	
		Total n	Positive		Négative	
			n	(%)	n	(%)
		77	20	26,0	24	31,2
Age (années)	< 2	10	3	30,0	3	30,0
	3 – 10	42	9	21,4	10	23,8
	> 10	25	8	32,0	11	44,0
Genre	Etalon	4	2	50,0	2	50,0
	Jument	73	18	24,7	22	30,1
Race	Trait breton	33	4	12,1	8	24,2
	Comtois	26	10	38,5	10	38,5
	Ardennais	13	2	15,4	2	15,4
	Percheron	1	0	0,0	0	0,0
	Croisé	4	4	100,0	4	100,0
Robe	Claire	55	18	32,7	20	36,4
	Foncée	22	2	9,1	4	18,2

La moyenne d'âge des chevaux séropositifs à *T. equi* est de 7,5 ans, quand celle des chevaux positifs à *T. equi* est de 7,95 ans.

Deux des quatre étalons de l'étude sont séropositifs et positifs à *T. equi*, c'est également le cas des quatre chevaux croisés de l'étude. En proportion et en nombre, les comtois sont les chevaux présentant le plus de séropositifs et de positifs à *T. equi*.

En proportion et en nombre, les robes claires prédominent parmi les séropositifs et les positifs. Seulement 16,7 % des chevaux positifs à *T. equi* ont une robe foncée.

Tableau 11 : Résultats sérologiques et PCR pour *T. equi* en fonction des pratiques d'élevage

<i>Theileria equi</i>		Sérologie			PCR	
		Total	Positive		Positive	
		n	n	(%)	n	(%)
		77	20	26,0	24	31,2
Vacciné	Non vacciné	29	6	20,7	7	24,1
	Vaccins à jour	48	14	29,2	17	35,4
API (3 NR)	Non utilisé	3	0	0,0	1	33,3
	1x/an	48	12	25,0	12	25,0
	2x/an	16	1	6,3	2	12,5
	3x/an	7	6	85,7	6	85,7
APE	Non utilisé	48	14	29,2	16	33,3
	1x/an	29	6	20,7	8	27,6

On observe plus de chevaux séropositifs et positifs avec une vaccination à jour que l'inverse, mais plus de séropositifs et de positifs parmi les chevaux non traités aux APE que l'inverse.

Sur les 24 chevaux positifs : les chevaux traités aux antiparasitaires externes reçoivent de la deltaméthrine, les chevaux vermifugés une à deux fois par an, pour lesquels on connaît le produit utilisé, sont traités avec de l'ivermectine seule (6 cas), en association avec du fenbendazole (2 cas), avec du praziquantel (2 cas) ou alors avec de la moxidectine seule (1 cas) ou du praziquantel seul (1 cas). Les chevaux vermifugés 3 fois par an sont tous traités avec une association d'ivermectine et de moxidectine.

Les chevaux recevant un API trois fois par an présentaient une plus forte proportion de séropositifs et de positifs. Ces chevaux étaient tous les comtois d'un même élevage en zone 2. Ils sont suivis en proportion de positifs par les chevaux ne recevant aucun API.

Tableau 12 : Résultats sérologiques et PCR pour *T. equi* en fonction des variables environnementales

<i>Theileria equi</i>		Sérologie			PCR	
		Total n	Positive n	(%)	Positive n	(%)
		77	20	26,0%	24	31,2%
Zone	Zone 1	35	5	14,3%	9	25,7%
	Zone 2	42	15	35,7%	15	35,7%
Portage de tiques (tiques/cv)	0	44	6	13,6%	6	13,6%
	1 à 10	29	12	41,4%	16	55,2%
	>10	4	2	50,0%	2	50,0%
Taille de pâturage (ha)	< 1	13	1	7,7%	2	15,4%
	1 à 5	39	8	20,5%	11	28,2%
	> 5	25	11	44,0%	11	44,0%
Nombre de chevaux par pâturage	Seul	6	0	0,0%	0	0,0%
	2 à 4	32	7	21,9%	11	34,4%
	> 5	39	13	33,3%	13	33,3%
Chargement moyen de la pâturage (cv/ha)	Jusqu'à 1	46	13	28,3%	16	34,8%
	1 à 2	14	3	21,4%	4	28,6%
	> 2	17	4	23,5%	4	23,5%
Co- pâturage avec des bovins	Non	20	2	10,0%	4	20,0%
	Oui	57	18	31,6%	20	35,1%
Pâturage humide	Non	35	8	22,9%	9	25,7%
	Oui	42	12	28,6%	15	35,7%
Forêt dans la pâturage	Absence	7	1	14,3%	4	57,1%
	<25%	53	9	17,0%	10	18,9%
	25-50%	17	10	58,8%	10	58,8%
Buissons dans la pâturage	Non	24	6	25,0%	8	33,3%
	Oui	53	14	26,4%	16	30,2%
Couvert végétal de la pâturage	Absent	4	0	0,0%	1	25,0%
	Moyen	56	10	17,9%	13	23,2%
	Fort	17	10	58,8%	10	58,8%

Proximité de forêt	Non	34	5	14,7%	7	20,6%
	Oui	43	15	34,9%	17	39,5%

On observe qu'en zone 2, trois élevages concentrent 12 des 20 chevaux séropositifs à *T. equi*.

Les chevaux séropositifs à *T. equi* en zone 2 : portent en moyenne 4,8 tiques par cheval, sont dans des pâtures de 6,2 ha en moyenne, hébergeant en moyenne à 5,8 chevaux par pâture pour un chargement moyen de 1,21 cheval par hectare. Ils sont proportionnellement plus nombreux à être en co-pâturage avec des bovins que les chevaux séronégatifs. Les pâtures à fort couvert végétal rassemblent plus d'animaux séropositifs que les pâtures à couvert végétal absent ou moyen.

De plus, on note que les 24 chevaux positifs : portent en moyenne 3,5 tiques par cheval, vivent dans des pâtures de 7,4 ha en moyenne, qui hébergent en moyenne 5 chevaux par pâture et dont le chargement moyen est de 1,3 chevaux par hectare. Il y a proportionnellement : plus de chevaux positifs en co-pâturage avec des bovins que l'inverse, plus de positifs dans les pâtures à fort couvert végétal et plus de positifs chez les chevaux hébergés dans des pâtures à proximité directe d'une forêt.

e. Double séropositivité et co-infections

Dans notre étude, on observe une proportion de chevaux séropositifs à *B. caballi* et à *T. equi* de 20,8 % (IC95% = [11,7 ; 29,9]). La prévalence des co-infections est de 5,2 ± 5 % (IC95% = [0,2 ; 10,2]). Les trois tableaux suivants présentent les effectifs de chevaux séropositifs ou positifs à *B. caballi* et *T. equi* de façon conjointe en fonction des variables individuelles (Tableau 13), des variables liées aux conditions d'élevage (Tableau 14) et des variables liées aux conditions environnementales (Tableau 15).

Les quatre chevaux co-infectés sont caractérisés comme suit :

- un étalon trait breton de 11 ans dans l'élevage n°6 en zone 1,
- deux juments croisées, de 1 et 4 ans, dans l'élevage n°17 en zone 2,
- une jument comtoise de 4 ans dans l'élevage n°18 en zone 2,
- tous sont doublement séropositifs à *B. caballi* et *T. equi*.

Tableau 13 : Résultats sérologiques et PCR pour *B. caballi* et *T. equi* en fonction des variables individuelles

<i>Babesia caballi</i> et <i>Theileria equi</i>		Sérologie			PCR	
		Total	Doublement positive		Co-infection	
		n	n	(%)	n	(%)
		77	16	20,8	4	5,2
Age (années)	< 2	10	3	30,0	1	10,0
	3- 10	42	7	16,7	1	2,4
	> 10	25	6	24,0	2	8,0
Genre	Etalon	4	2	50,0	1	25,0
	Jument	73	14	19,2	3	4,1
Race	Trait breton	33	2	6,1	1	3,0
	Comtois	26	9	34,6	1	3,8
	Ardennais	13	1	7,7	0	0,0
	Percheron	1	0	0,0	0	0,0
	Croisé	4	4	100,0	2	50,0
Robe	Claire	55	15	27,3	3	5,5
	Foncée	22	1	4,5	1	4,5

On remarque que les chevaux séropositifs à *B. caballi* et *T. equi* de façon conjointe ont en moyenne 7,2 ans, présentent une majorité de robes claires.

Les chevaux co-infectés ont en moyenne 7 ans et ont également une majorité de robes claires, deux d'entre eux étant des croisés.

Tableau 14 : Résultats sérologiques et PCR pour *B. caballi* et *T. equi* en fonction des pratiques d'élevage

<i>Babesia caballi</i> Et <i>Theileria equi</i>		Sérologie			PCR	
		Total	Doublement positive		Co-infection	
		n	n	(%)	n	(%)
		77	16	20,8	4	5,2
Vacciné	Non vacciné	29	5	17,2	3	10,3
	Vaccins à jour	48	11	22,9	1	2,1
API (3NR)	Non utilisé	3	0	0,0	0	0,0
	1x/an	48	9	18,8	3	6,3
	2x/an	16	0	0,0	0	0,0
	3x/an	7	6	85,7	1	14,3
APE	Non utilisé	48	11	22,9	2	4,2
	Utilisé 1x/an	29	5	17,2	2	6,9

La proportion de chevaux doublement séropositifs est plus importante chez les chevaux vaccinés que parmi les chevaux non vaccinés.

Ces chevaux co-infectés par *B. caballi* et *T. equi* sont deux à recevoir un APE à base de deltaméthrine (soit 50%) et reçoivent un vermifuge une fois par an à base d'ivermectine soit seule (élevage n°17), soit en association avec du fenbendazole (élevage n°6), soit trois fois par an en association avec de la moxidectine.

Tableau 15 : Résultats sérologiques et PCR pour *B. caballi* et *T. equi* en fonction des variables environnementales

<i>Babesia caballi</i> Et <i>Theileria equi</i>		Sérologie			PCR	
		Total	Doublement positif		Co-infection	
		n	n	(%)	n	(%)
		77	16	20,8	4	5,2
Zone	Zone 1	35	2	5,7	1	2,9
	Zone 2	42	14	33,3	3	7,1
Portage de tiques (tiques/cv)	0	44	3	6,8	0	0,0
	1 à 10	29	11	37,9	3	10,3
	> 10	4	2	50,0	1	25,0
Taille de pâturage (ha)	Jusqu'à 1	13	0	0,0	0	0,0
	1 à 5	39	7	17,9	2	5,1
	> 5	25	9	36,0	2	8,0
Nombre de chevaux par pâturage	Seul	6	0	0,0	0	0,0
	2 à 4	32	6	18,8	1	3,1
	5 et plus	39	10	25,6	3	7,7
Chargement moyen de la pâturage (cv/ha)	Jusqu'à 1	46	10	21,7	2	4,3
]1 à 2]	14	3	21,4	0	0,0
	> 2	17	3	17,6	2	11,8
Co- pâturage de bovins	Non	20	2	10,0	0	0,0
	Oui	57	14	24,6	4	7,0
Pâturage humide	Non	35	5	14,3	0	0,0
	Oui	42	11	26,2	4	9,5
Forêt dans la pâturage	Absent	7	1	14,3	0	0,0
	<25%	53	6	11,3	3	5,7
	25-50%	17	9	52,9	1	5,9
Buissons dans la pâturage	Non	24	4	16,7	3	12,5
	Oui	53	12	22,6	1	1,9
Couvert végétal	Absente	4	0	0,0	0	0,0
	Moyen	56	7	12,5	3	5,4
	Fort	17	9	52,9	1	5,9

Proximité de forêt	Non	34	4	11,8	2	5,9
	Oui	43	12	27,9	2	4,7

Le cas de la double séropositivité concerne 16 chevaux : deux en zone 1 et 14 en zone 2, dont 12 sont concentrés dans les trois élevages de la zone 2.

On remarque que ces chevaux portent en moyenne 4,5 tiques par cheval. Concernant les pâtures hébergeant ces individus : leur taille moyenne est de 8,8 ha, elles hébergent en moyenne 5,6 chevaux par pâture pour un chargement moyen de 1,16 cheval par hectare, leur couvert végétal est entre moyen et fort, et 12 pâtures sur 16 (75%) sont à proximité directe de forêt. De plus, 11 chevaux sur 16 (68,7%) sont en pâtures humides, 14 chevaux sur 16 (87,5%) sont en copâturage avec des bovins.

Par ailleurs, les quatre chevaux co-infectés portent entre 1 et 17 tiques et sont hébergés dans des pâtures de tailles disparates (50 ha, 3 ha ou 7 ha), hébergeant 2 ou 7 chevaux pour un chargement moyen de 1,4 cheval par hectare.

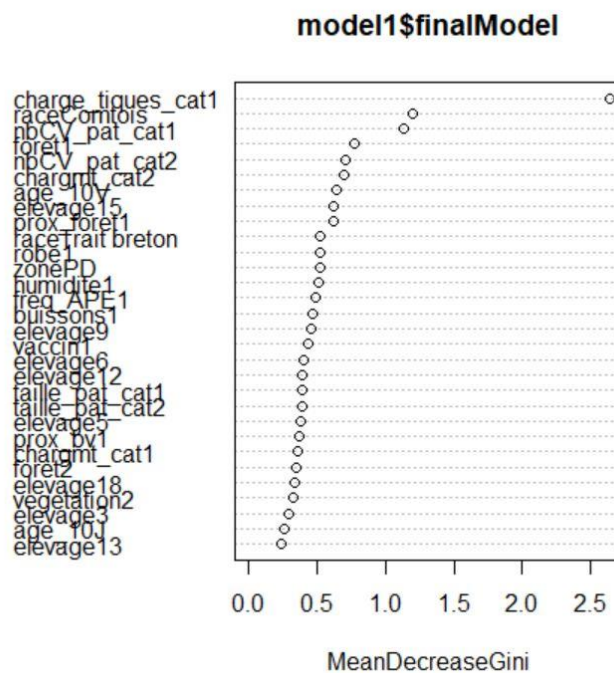
C. Etude analytique

a. *Babesia caballi*

i. Facteurs associés à une séropositivité à *B. caballi*

L'utilisation des forêts aléatoires sur R (Figure 32) nous permet d'isoler les variables suivantes comme étant probablement associées à une séropositivité à *B. caballi* : le portage de tiques, la race, le nombre de chevaux dans la pâture, la présence de forêt dans la pâture, la présence de forêt à proximité directe de la pâture, le chargement de la pâture et l'âge.

Figure 32 : Random forest du modèle 1 pour la séropositivité à *B. caballi*



Avec les variables précédemment citées, on crée le premier modèle de régression logistique mixte en lien avec la séropositivité à *B. caballi* (Tableau 31).

Tableau 16 : Odd ratio et intervalle de confiance du modèle exprimant la séropositivité à *B. caballi* en fonction de l'âge, du portage de tiques, de la race, du nombre de chevaux dans la pâture, de la présence de forêt dans la pâture et à proximité directe de la pâture

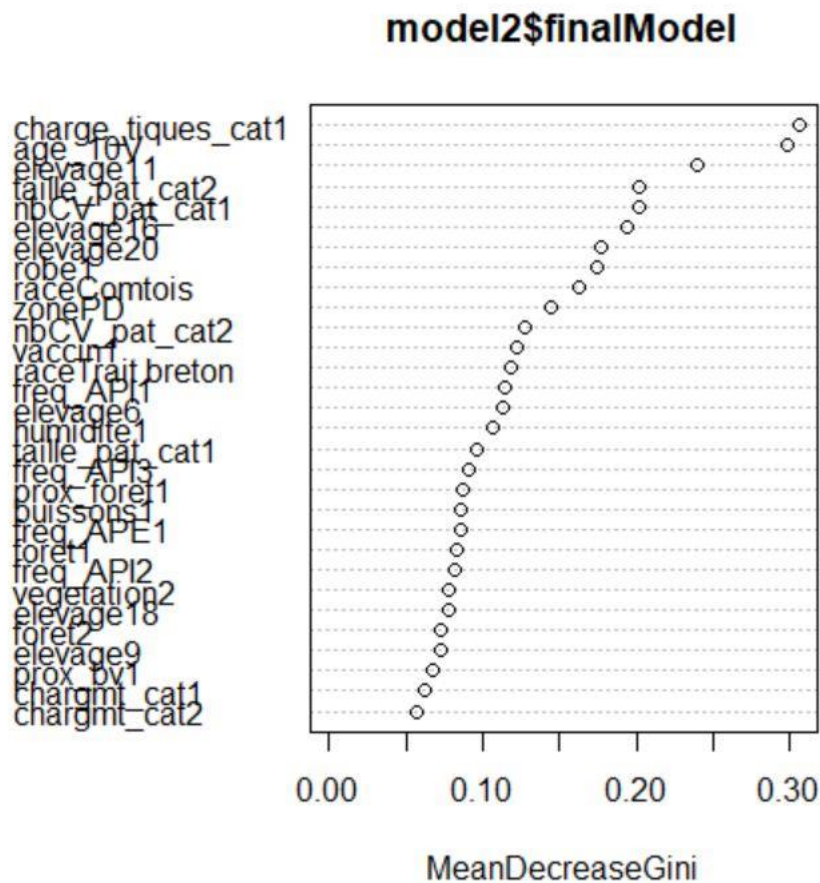
Variables		Odd Ratio	Intervalle de confiance à 95%	p-value (significatif : *, non significatif : NS)
Intercept		0,00	[0,00 ; 2,59]	NS
Age (années)	< 2	2,90	[0,21 ; 40,79]	NS
	2-10	Référence		
	> 10	26,25	[1,08 ; 637,45]	0,045 *
Portage de tiques	Non	Référence		
	Oui	81,10	[6,36 ; 1034,56]	0,001 *
Race	Ardennais	Référence		
	Comtois	1677,69	[17,55 ; 160414,00]	0,001 *
	Trait Breton	4,82	[0,23 ; 101,63]	NS
Nombre de chevaux par pâture	Seul	Référence		
	2 - 4	168,30	[1,18 ; 24099,09]	0,043 *
	Plus de 5	28,46	[0,33 ; 2422,53]	NS
Couvert forestier	Absent	Référence		
	< 25 %	0,05	[0,00 ; 2,39]	NS
	25 - 50 %	0,00	[0,00 ; 0,55]	0,029 *
Proximité de forêt	Non	Référence		
	Oui	0,47	[0,04 ; 4,81]	NS
Chargement de la pâture (cv/ha)	Jusqu'à 1	Référence		
] 1 ; 2]	13,13	[0,41 ; 420,37]	NS
	Plus de 2	0,44	[0,01 ; 19,61]	NS

On observe une association statistique positive entre séropositivité à *B. caballi* et le fait d'être infesté par des tiques au moment de l'étude, d'être de race comtoise, d'avoir plus de 10 ans et d'être dans une pâture hébergeant deux à quatre chevaux. On observe une association statistique négative entre la séropositivité à *B. caballi* et le fait d'être dans une pâture présentant un fort couvert forestier.

ii. Facteurs associés au portage de *B. caballi*

L'utilisation des forêts aléatoires sur R (Figure 33) ont permis d'isoler l'âge et le portage de tiques comme variables les plus probablement associées au portage de *B. caballi*.

Figure 33 : Random forest du modèle 2 pour la positivité à *B. caballi*



On utilise les variables précédemment citées pour créer le second modèle de régression logistique mixte en lien avec la positivité à *B. caballi* (Tableau 17).

Tableau 17 : Odd ratio et intervalle de confiance du modèle exprimant la positivité à *B. caballi* en fonction de l'âge et du portage de tiques

Variables		Odd Ratio	Intervalle de confiance à 95%	p-value (significatif : *, non significatif : NS)
Intercept		0,01	[0,00 ; 0,14]	<0,001
Age (années)	< 2	0,00	[0,00 ; inf]	NS
	2-10	Référence		
	> 10	4,21	[0,65 ; 27,10]	NS
Portage de tiques	Non	Référence		
	Oui	8,89	[0,94 ; 84,29]	NS (0,057)

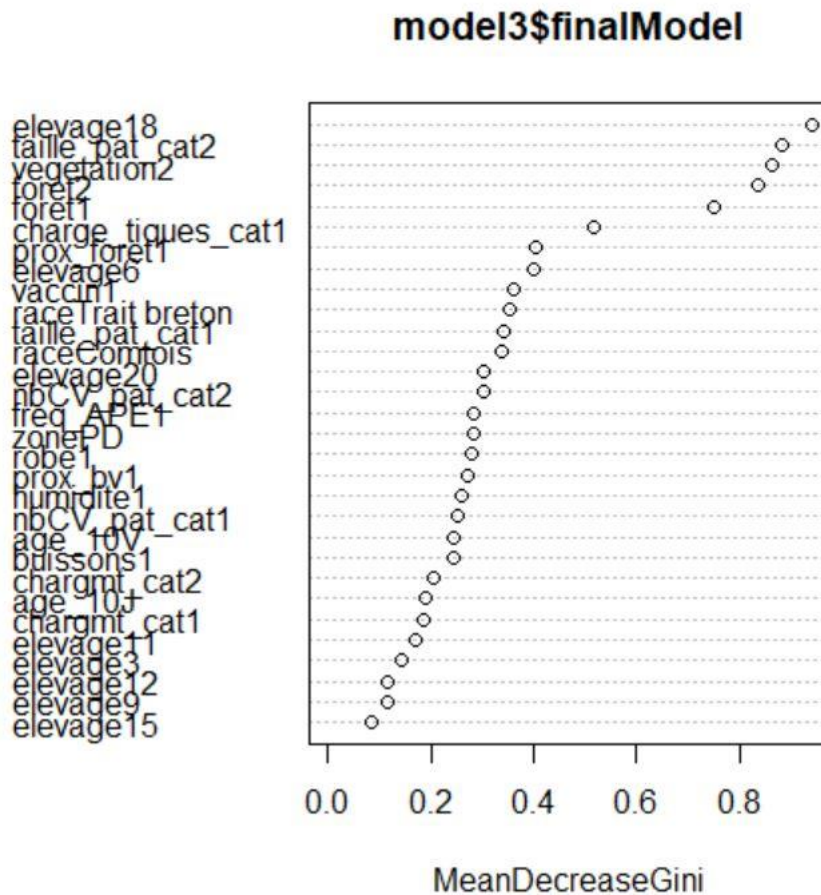
Aucune des deux variables incluses dans ce modèle n'est positivement associée à un résultat PCR positif à *B. caballi*.

b. Theileria equi

i. Facteurs associés à une séropositivité à T. equi

L'utilisation des forêts aléatoires (Figure 34) permet d'isoler les variables suivantes comme les plus probablement associées à la séropositivité à *T. equi* : la taille de la pâture, le couvert végétal de la pâture et le portage de tiques.

Figure 34 : Random forest du modèle 3 pour la séropositivité à *T. equi*



On utilise les variables précédemment citées pour produire le troisième modèle de régression logistique mixte en lien avec la séropositivité à *T. equi* (Tableau 18).

Tableau 18 : Odd ratio et intervalles de confiance du modèle exprimant la séropositivité à *T. equi* en fonction de la taille de la pâture, du portage de tiques et du couvert végétal.

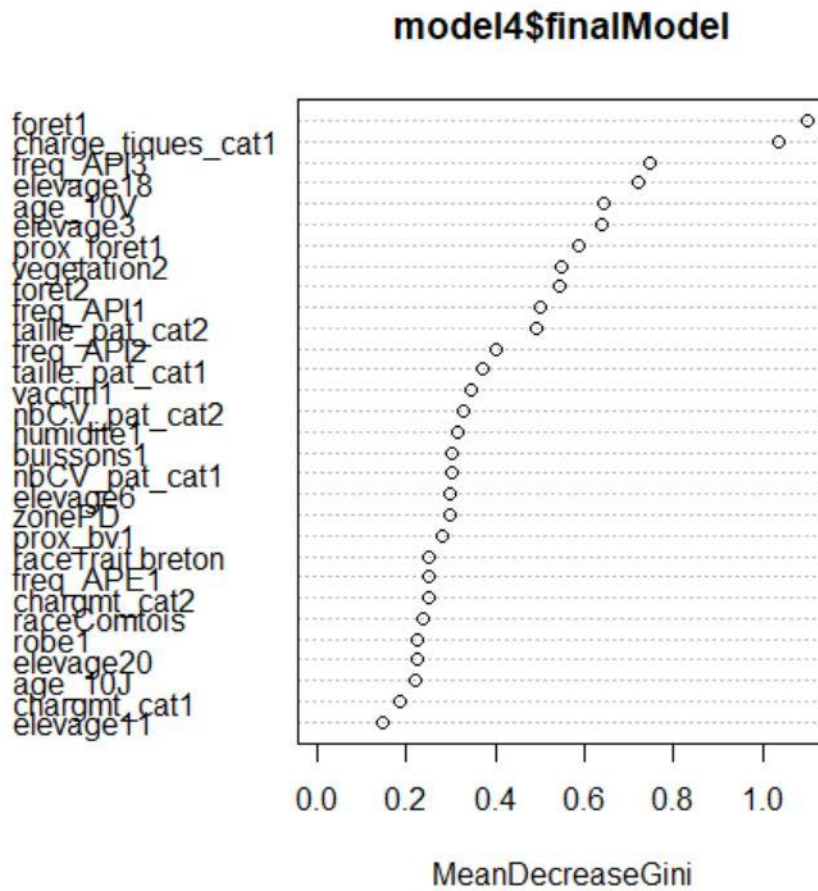
Variables		Odd Ratio	Intervalle de confiance à 95%	p-value (significatif : *, non significatif : NS)
Intercept		0,03	[0,00 ; 0,36]	0,005
Taille de la pâture (ha)	< 1	Référence		
	1 - 5	1,10	[0,09 ; 14,05]	NS
	> 5	9,08	[0,78 ; 106,01]	NS
Portage de tiques	Non	Référence		
	Oui	2,89	[0,67 ; 12,50]	NS
Couvert Végétal	Faible à Nul	Référence		
	Fort	9,11	[1,82 ; 45,56]	0,007 *

Dans notre échantillon, on observe qu'un fort couvert végétal dans la pâture est positivement associé à la séropositivité à *T. equi*.

ii. Facteurs associés au portage de *T. equi*

L'utilisation des forêts aléatoires (Figure 35) nous permet de conserver comme variables potentiellement associées à une positivité à *T. equi* : le couvert forestier de la pâture, le portage de tiques, l'usage d'API, l'âge et la proximité de forêt.

Figure 35 : Random forest du modèle 4 pour la positivité à *T. equi*



On utilise ces cinq variables pour produire le quatrième modèle de régression logistique mixte en lien avec la positivité à *T. equi* (Tableau 19).

Tableau 19 : Odd ratio et intervalle de confiance du modèle exprimant la positivité à *T. equi* en fonction du portage de tiques, de l'usage d'API, du couvert végétal, de la présence de forêt à proximité de la pâture et de l'âge

Variables		Odd Ratio	Intervalle de confiance à 95%	p-value (significatif : *, non significatif : NS)
Intercept		0,39	[0,02 ; 7,04]	NS
Portage de tiques	Non	Référence		
	Oui	4,39	[0,98 ; 19,74]	NS (0,053)
Usage des API	Non utilisé	Référence		
	1x/an	0,03	[0,00 ; 0,60]	0,023 *
	2x /an	0,02	[0,00 ; 0,52]	0,020 *
	3x/an	0,14	[0,00 ; 10,54]	NS
Couvert Végétal	Faible	Référence		
	Fort	2,77	[0,36 ; 21,43]	NS
Proximité de forêt	Non	Référence		
	Oui	10,51	[1,07 ; 103,15]	0,044 *
Age (années)	< 2	1,13	[0,12 ; 10,71]	NS
	2-10	Référence		
	> 10	4,19	[0,70 ; 24,93]	NS

On observe que l'usage d'un API une à deux fois par an est négativement associée à une positivité PCR à *T. equi*. Le fait d'avoir une pâture à proximité de forêt est positivement associé à la positivité PCR à *T. equi*.

c. Conclusion de l'étude analytique

Le tableau ci-dessous (Tableau 20) regroupe les conclusions tirées des modèles réalisés précédemment. Il présente les variables associées au statut sérologique ou PCR des chevaux de notre étude pour nos deux parasites d'intérêt.

Tableau 20 : Résultats de l'étude analytique

	<i>B. caballi</i>	<i>T. equi</i>	Association statistique
Sérologie	Portage de tiques Age > 10 ans Race comtoise 2 - 4 chevaux / pâturage	Fort couvert végétal	<i>Positive</i>
	Fort couvert végétal dans la pâturage	-	<i>Négative</i>
PCR	-	Proximité de forêt	<i>Positive</i>
	-	API 1-2x/an	<i>Négative</i>

3. Discussion

A. Discussion de nos résultats

a. *Babesia caballi*

i. Sérologie

□ Séroprévalence de *B. caballi*, comparaison à diverses échelles

On observe une séroprévalence de *B. caballi* dans notre échantillon de 54.5% (IC95% = [43,4 ; 65,6]).

Cette séroprévalence est supérieure aux séroprévalences observées en Camargue par J. Guillot (2002), qui trouvait une valeur de 22,8%, et E. Guidi (2014) qui trouvait une valeur de 12,9%. Leurs intervalles de confiance concernant ces chiffres ne sont pas présentés, mais on peut raisonnablement penser que leurs séroprévalences resteraient inférieures à celle obtenue dans notre étude.

Cette valeur est également largement supérieure aux valeurs estimées en Europe par les études/revues les plus récemment réalisées. En effet S. Tirosh-Levy (Tirosh-Levy *et al.*, 2020) estime une séroprévalence de *B. caballi* en Europe autour de 9,42 %, quand C. Nadal (Nadal *et al.*, 2021) estime une séroprévalence européenne de 7,67 % (IC95% = [4,94 ; 12,20]).

Notre résultat s'approche de celui d'une étude sicilienne menée entre 2003 et 2005 avec une séroprévalence de *B. caballi* de 56,77 % (IC95%= [50,18 ; 64,23]). L'hypothèse principale formulée dans cette étude expliquant l'importante séroprévalence de *B. caballi* dans la région est la présence de bétail en abondance, qui joue un important rôle de réservoir (Torina *et al.*, 2006). Or dans notre étude, on a vu en partie description de l'échantillon que 14 élevages sur 20 hébergent des bovins et que 70,5% des pâtures étudiées sont utilisées en co-pâturage avec des bovins, ce qui pourrait contribuer à diffuser les tiques vectrices de *B. caballi* dans la région. Or sur les 14 élevages en question, 12 hébergent des chevaux séropositifs à *B. caballi*.

□ Comparaison avec la séroprévalence de *T. equi*

Dans notre étude, nous obtenons une séroprévalence de *B. caballi* (54.5%, IC95% = [43,4 ; 65,6]) supérieure à celle de *T. equi* (26 %, IC95% = [16,1 ; 35,8]).

A l'échelle nationale, ce résultat est peu surprenant. En effet, une étude menée sur des données allant de 1981 à 1996 (Soule *et al.*, 1998) nous montre quelques départements où la séroprévalence de *B. caballi* est supérieure à celle de *T. equi*. La Somme, la Loire Atlantique, le Maine et Loire, la Vendée, les Deux-Sèvres, la Haute-Vienne, l'Indre, la Meurthe-et-Moselle, le Doubs, la Saône-et-Loire, l'Aveyron, le Lot-et-Garonne, ainsi que le Puy-de-Dôme et le Cantal. Nos régions d'intérêt figurent dans cette liste.

En revanche, ce cas est plutôt rare à l'échelle mondiale. On le retrouve dans moins de 15 études sur les 20 dernières années. Les cas sporadiques observés sont en Sicile, en Italie, en Suisse, au Brésil, en Chine, en Indonésie, au Japon, en Malaisie, en Mongolie, à Trinidad, en Turquie et au Venezuela (2 études). Les intervalles de confiance, lorsque présentés, se chevauchent, contestant l'existence d'une différence réelle dans ces pays, contrairement au cas rencontré dans notre zone d'étude. (Nadal *et al.*, 2021; Tirosh-Levy *et al.*, 2020)

□ Facteurs associés à la séropositivité à *B. caballi*

Notre étude analytique nous a permis de mettre en évidence une association statistique :

- négative entre la séropositivité à *B. caballi* et le fait d'être dans une pâture avec un fort couvert végétal, ce qui n'avait pas été montré jusqu'à présent,
- positive entre la séropositivité à *B. caballi* et le fait de porter des tiques le jour de l'étude, d'être âgé de plus de 10 ans et être de race comtoise, ce qui confirme trois des 6 hypothèses citées en Partie 1.2.C. (García-Bocanegra *et al.*, 2013; Guidi *et al.*, 2015; Montes Cortés, 2017), et d'être dans une pâture hébergeant deux à quatre chevaux.

Le critère d'antériorité au statut séropositif à *B. caballi* n'est vérifié que pour la race, ainsi on peut parler de facteur de risque pour la race comtoise. En revanche, les variables environnementales (couvert végétal, portage de tiques et peuplement de la pâture) n'ont pas forcément été des facteurs présents avant que l'animal ne soit séropositif à *B. caballi* : on ne pourra qu'émettre des hypothèses sur ces variables à la vue de leur association avec la séropositivité à *B. caballi*.

Concernant la présence d'un fort couvert végétal dans la pâture, correspondant à la présence de forêt, d'arbustes et de buissons, l'hypothèse émise est que cet élément favorise le passage et l'hébergement de faune sauvage vectrice de tiques porteuses de *B. caballi*. Notre résultat semble s'opposer à cette hypothèse. Il serait intéressant de connaître les espèces de tiques présentes dans ces pâtures et les agents pathogènes qu'elles transportent, ainsi que d'avoir une estimation du passage de faune sauvage dans ces pâtures en comparaison de pâtures sans couvert végétal pour déterminer s'il existe une différence sur ce sujet et en trouver l'explication.

Plus un animal est âgé, plus il semblerait avoir de chances d'avoir rencontré *B. caballi* dans les conditions de notre étude, c'est-à-dire en étant un cheval de trait élevé en pâture. Malgré l'absence de consensus sur l'âge dans la littérature, notre résultat est cohérent à la vue de la séroprévalence de *B. caballi* dans la région. Cela soulève la question pour d'autres régions, avec une séroprévalence moindre de *B. caballi* : un cheval aurait-il réellement plus de chances de rencontrer l'agent pathogène en vieillissant ou l'influence des pratiques d'élevages serait-elle plus importante ?

La race comtoise est associée à la séropositivité à *B. caballi* dans notre étude. La robe à crins lavés de cette race joue-t-elle un rôle dans ce phénomène ? Nous n'avons pas réussi à montrer cela mais notre classification pour la robe des chevaux comportait deux catégories sans prise en compte spécifique de la couleur des crins. Par ailleurs, nous avons vu en décrivant la population de notre échantillon que la zone 2 hébergeait une majorité de comtois. On peut dès lors se demander si la zone, donc l'environnement ou l'altitude, n'aurait pas en réalité un rôle favorisant les infections à *B. caballi*, là encore explicable par des spécificités des espèces de tiques vectrices.

Le portage de tique avait déjà été déterminé comme facteur positivement associé à la séropositivité à *B. caballi* (García-Bocanegra *et al.*, 2013), menant à penser qu'une lutte active contre les tiques est un point clef de la prévention de la piroplasmose à *B. caballi*. Cette lutte peut être réalisée sur les animaux, même si nous n'avons pas pu montrer que l'usage d'un antiparasitaire externe était un potentiel facteur protecteur de la piroplasmose, ou dans l'environnement en modifiant la gestion de la végétation. Malheureusement, peu de directives sont disponibles actuellement à ce propos.

Le nombre de chevaux présents dans une pâture influence la transmission des tiques vectrices de piroplasmes. En effet, un cheval seul dans une pâture (cas de six pâtures sur les 17 de notre étude) ne fournit pas la même diversité d'hôtes pour les tiques que des chevaux élevés par petit groupe de deux, trois ou quatre (cas de 16 pâtures de notre étude). En revanche, on peut se demander pourquoi une pâture hébergeant 5 chevaux et plus (12 pâtures de notre étude) n'est pas encore plus à risque d'héberger plus de cas de piroplasmose. Un plus grand nombre de pâtures étudiées permettrait d'avoir une meilleure estimation de l'effet du peuplement d'une

pâture sur la séroprévalence et la prévalence des infections à *B. caballi*, afin d'adapter les pratiques d'élevages en conséquence.

ii. PCR

□ Prévalence de *B. caballi*, comparaison à diverses échelles

On observe une prévalence de *B. caballi* 10,4% (IC95% = [3,5 ; 17,2]).

Les données sur la prévalence de *B. caballi* en France manquent. La valeur mesurée dans notre étude semble supérieure à celles mesurées :

- entre 2006 et 2008 par D. Fritz dans le sud de la France qui valait 1,9% (pas d'IC95% indiqué) (Fritz, 2010),
- en France continentale ou en Corse en 2019 par H. Dahmana qui était nulle (les intervalles de confiance à 95% allaient de 0% à respectivement jusqu'à 8 et 15%) (Dahmana *et al.*, 2019).

Si on compare notre chiffre aux données européennes, on remarque les choses suivantes. Premièrement, d'après Tirosh-Levy (2020), notre résultat est supérieur à la prévalence européenne estimée de *B. caballi* (2,48%, pas d'intervalle de confiance disponible). Peut-être cela a-t-il un lien avec notre choix de région et de sujets, qui sont des chevaux particulièrement exposés aux tiques vectrices ? Ensuite, d'après C. Nadal (2021) la prévalence de *B. caballi* dans notre étude (10,4%, IC95% = [3,5 ; 17,2]) se rapproche de celle de la Sicile (9,06, IC95% = [1,06 ; 77,37]) (Nadal *et al.*, 2021). Ce second point rejoint notre observation sur la séroprévalence de *B. caballi* dans notre étude, proche de celle mesurée en Sicile, peut être en raison de l'abondante présence de bovins.

A l'échelle mondiale, on retrouve des résultats :

- ponctuellement semblables au Brésil (7,9% ; 23,5%), en Israël (9,3%), en Jordanie (7,3%),
- parfois potentiellement supérieurs (les IC95% ne sont pas présentés) mesurés en Chine (24,5%), à Cuba (25%), en Mongolie (17,9%), au Nicaragua (26,8%),
- parfois potentiellement inférieurs (les IC95% ne sont pas présentés) mesurés en Iran (5,8%), en Roumanie (4,5%), à Trinidad (3,6%), en Turquie (1,97%) et au Venezuela (4,4%).

Ces pays n'ayant pas de points communs majeurs d'un point de vue géographique, les éléments explicatifs communs de ces prévalences seraient à comparer étude par étude.

□ Facteurs associés à la positivité

Malgré l'ensemble de facteurs pour lesquels nos chevaux positifs à *B. caballi* se démarquent de l'échantillon, notre étude analytique ne nous a pas permis de mettre en évidence d'association statistique entre la positivité à *B. caballi* et une de nos variables étudiées.

Ceci est intéressant car, comme vu en Partie 1.2.C., la littérature ne cite aucun potentiel « facteur de risque » de l'infection par *B. caballi*. Par ailleurs le seul « facteur protecteur » potentiel cité par la littérature est le fait de ne pas être élevé en pâture (Rapoport *et al.*, 2014), variable que nous n'avons pas pu explorer car l'ensemble des chevaux de notre échantillon (chevaux de trait) ont été choisis pour être homogènes sur ce point.

Un travail similaire sur une cohorte de plus grande taille permettrait de gagner en puissance statistique, et peut-être de mettre en évidence des facteurs associés à la positivité à *B. caballi*.

b. Theileria equi

i. Sérologie

□ Séroprévalence de *T. equi*, comparaison à diverses échelles

Nous observons une séroprévalence de *T. equi* de 26 % (IC95% = [16,1 ; 35,8]), avec significativement plus de cas en zone 2, où trois élevages concentrent 12 des 20 chevaux séropositifs à *T. equi*. La zone 2 correspondant à une zone d'altitude moyenne plus élevée, on pourrait supposer que l'altitude, ou l'environnement de « montagne » favoriserait les infections.

Cette valeur semble inférieure aux valeurs de séropositivité à *T. equi* obtenues en Camargue en 2002 par J. Guillot et en 2014 par E. Guidi, soit 67,2% et 58% respectivement. Il est possible que cette différence s'explique par le lieu d'échantillonnage. La séroprévalence de *T. equi* est-elle plus faible en Auvergne que dans le Sud de la France ? Il nous manque des données récentes sur le sujet dans la région Camarguaise.

En revanche, elle est similaire aux valeurs européennes obtenues par S. Tirosh-Levy (2020) et C. Nadal (2021), soit 27,89% et 30,04% (IC95% = [25,37 ; 35,16]) respectivement.

Ainsi la séroprévalence de *T. equi* obtenue dans notre étude est :

- proche de celle obtenue par des études en Italie (30,87%), au Portugal (21,69%) et en Hongrie (32,10%)
- significativement supérieure à celle des Pays-Bas (1%) ou de la Suisse (2,17%),
- plutôt inférieure à celle de la Grèce (58,01%), de l'Espagne (41,41%) et de la Sicile (46,82%). (Nadal *et al.*, 2021).

On retrouve ici la tendance à une distribution décroissante du sud vers le nord en Europe, en accord avec la distribution des tiques vectrices de *T. equi*.

□ Facteurs associés à la séropositivité

Nous avons vu ci-dessus que les chevaux séropositifs à *T. equi* se démarquaient dans notre échantillon pour plusieurs éléments. Cela étant, notre étude analytique nous a seulement permis de mettre en évidence une association statistique positive entre la séropositivité à *T. equi* et le fait d'être dans une pâture avec un fort couvert végétal.

Aucun cheval n'a pu être hébergé de façon certaine dans une pâture à fort couvert végétal avant d'être séropositif à *T. equi* : on ne pourra pas parler de « facteur de risque » ou « facteur protecteur », on restera sur des hypothèses basées sur cette association. Ainsi notre étude ne confirme aucune des hypothèses de « facteur de risque » ou d'éventuels « facteurs protecteurs » citées en partie 1. 2. C. pour la séropositivité à *T. equi*.

On peut confronter notre résultat à celui de Bartolomé Del Pino *et al.* (2016), qui ont trouvé qu'à l'échelle régionale, la présence de moins de 75% de couvert forestier pouvait être un facteur protecteur.

De plus, notre résultat est à l'opposé de ce qui est observé pour *B. caballi*, où la présence d'un couvert forestier est négativement associée à la séropositivité à *B. caballi*. Il serait très intéressant d'étudier plus précisément la répartition des tiques

vectrices de *T. equi* et de *B. caballi* et de leurs hôtes en fonction du couvert forestier et végétal afin de déterminer les différences expliquant cette opposition dans nos résultats pour les séropositivités à *B. caballi* et à *T. equi*.

ii. PCR

□ Prévalence de *T. equi*, comparaison à diverses échelles

On observe une prévalence de *T. equi* dans notre échantillon de 31,2% (IC95% = [20,8 ; 41,6]).

Dans notre étude la prévalence de *T. equi* est significativement supérieure à celle de *B. caballi* (10,4%, IC95% = [3,5 ; 17,2]), ce qui est la tendance retrouvée dans les études précédemment citées concernant la France, l'Europe mais aussi le reste du monde. Seules deux exceptions sont citées dans la revue de 2020. Il s'agit de deux îles : celle de Saint Louis au Nord-est du Brésil (prévalence de *T. equi* de 38,5% contre 60% pour *B. caballi*) qui n'est séparée du continent que par un fleuve, et la partie occidentale de l'île de Java en Indonésie (prévalence de *T. equi* de 0,4% contre 1,7% pour *B. caballi*) (Tirosh-Levy *et al.*, 2020).

Comme pour *B. caballi*, les données sur la prévalence de *T. equi* en France manquent. La valeur mesurée dans notre étude est inférieure à celle mesurée par D. Fritz (86%) entre 2006 et 2008 (Fritz, 2010). En revanche, notre valeur (31,2%, IC95% = [20,8 ; 41,6]) est du même ordre de grandeur que celles mesurées par H. Dahmana en région marseillaise et en Corse en 2019 : respectivement 29,41 % (IC95% = [17,60 ; 42,75]) et 39,80% (IC95% = [30,29 ; 49,70]) (Dahmana *et al.*, 2019), observation encourageant l'hypothèse selon laquelle les vecteurs de *T. equi* auraient migré vers le nord à la faveur de modifications climatiques sur les dernières décennies.

Si on compare notre chiffre aux données européennes, on remarque les choses suivantes. Premièrement, d'après Tirosh-Levy (2020) et C. Nadal (2021), notre résultat est du même ordre de grandeur que la prévalence européenne estimée de *T. equi*. Cela correspond dans chaque étude respectivement à 22,26% (pas d'intervalle de confiance disponible) et 24,48% (IC95% = [16,48 ; 33,44]). Ensuite, d'après C. Nadal (2021) la prévalence de *T. equi* dans notre étude (31,2%, IC95% = [20,8 ; 41,6]) se rapproche de celle de l'Italie (29,29%) et de l'Espagne (34,37%), voire de l'Ukraine (38,76%) ou de la Roumanie (38,76%) même si les intervalles de confiance de ces deux dernières valeurs sont larges (Nadal *et al.*, 2021).

Remarquons que la valeur de séropositivité à *T. equi* de notre étude se rapprochait également de la valeur italienne. Du reste, la prévalence de *T. equi* dans notre échantillon (31,2%, IC95% = [20,8 ; 41,6]) semble supérieure à celles des Pays-Bas (1,67%), de la Pologne (1,32%) et de la Slovaquie (0%), même si pour ces trois cas, les intervalles de confiance se chevauchent de quelques pourcents avec celui de notre résultat.

A l'échelle mondiale il existe de très nombreuses données sur la prévalence de *T. equi*. En tenant compte de l'absence d'intervalles de confiance, on retrouve des résultats :

- ponctuellement semblables dans les Balkans (22,5%), au Chad (20,8%), en Chine (30,2%, 40,8%, 39,5%), en Iran (22,8%, 27,7%), en Jordanie (18,8%), en Mongolie (25,6%), en Arabie Saoudite (42%), au Soudan (25,2%, 35,9%), soit plutôt côté continent asiatique,

- parfois potentiellement supérieurs mesurés au Brésil (81%, 84,3%, 85,7%), au Tchad (72,8%), à Cuba (73%), au Ghana (53,3%, 60%), en Iran (96,7%), en Mongolie (92,7%), en Afrique du sud (50%), au Venezuela (61,8%),

- parfois potentiellement inférieurs mesurés au Sénégal (16,5%), en Tunisie (12,5%) et en Turquie (2,96%, 8,8%).

□ Cas des porteurs séronégatifs

Dans notre étude la séroprévalence de *T. equi* est inférieure à la prévalence de *T. equi*, car quatre des 24 chevaux négatifs à *T. equi* sont séronégatifs à *T. equi*. Ceci peut paraître surprenant car un animal porteur du parasite développe rapidement des anticorps contre celui-ci, car J. Guillot (2002) montre que des anticorps contre *T. equi* sont détectables par immunofluorescence indirecte et par fixation du complément avant que la parasitémie ne soit détectée.

On peut formuler deux hypothèses principales : soit les chevaux testés sont en cours de séroconversion mais à un seuil encore indétectable, soit ils sont porteurs du parasite et réellement séropositifs mais ont donné de faux négatifs en sérologie en raison d'une sensibilité insuffisante du test. Rappelons que le test ELISA utilisé ne détecte les anticorps contre *T. equi* que 21 jours après une infection expérimentale, et approximativement 5 semaines après une infection par une tique (Wise *et al.*, 2013), quand la parasitémie est détectable dès 15-20 jours après infection.

□ Facteurs associés à la positivité

Notre étude analytique nous a permis de mettre en évidence une association statistique négative entre la positivité à *T. equi* et le fait d'être vermifugé une à deux fois par an. L'ivermectine et la moxidectine ayant un effet acaricide, on peut tirer de ce résultat l'idée qu'une utilisation régulière de vermifuges à base de ces molécules pourrait jouer un rôle de « facteur protecteur » pour les infections à *T. equi* et que cette pratique serait recommandable aux éleveurs dans le cadre de la lutte contre la piroplasmose.

Le facteur précédent n'était pas cité dans la littérature, contrairement à l'âge (avoir plus de 2 ans comme « facteur de risque » ou plus de 12 ans comme « facteur protecteur ») pour lequel nous n'avons pas retrouvé de lien avec l'infection à *T. equi*. L'autre « facteur de risque » potentiel cité était le fait de vivre dans les terres *versus* sur la côte (Bartolomé Del Pino *et al.*, 2016), chose que nous n'avons pas pu investiguer car notre étude a lieu au centre de la France.

La présence de forêt à proximité de la pâture est positivement associée au portage de *T. equi*, ce qui rejoint notre résultat précédent associant fort couvert végétal dans la pâture et séropositivité à *T. equi* : cette présence abondante de végétation favoriserait la prolifération et la transmission des tiques vectrices de *T. equi* (mais pas de *B. caballi*, à l'inverse) peut être en raison de l'implication encore méconnue de la faune sauvage ?

c. Double séropositivité

i. Séroprévalence

On observe une proportion de chevaux séropositifs à *B. caballi* et à *T. equi* de 20,8 % (IC95% = [11,7 ; 29,9]).

Ce chiffre rejoint celui déterminé en Camargue en 2002 par J. Guillot (20,6%), qui diffère du résultat de E. Guidi (8,1%) obtenu plus tard, en 2014, en Camargue également. Il n'existe pas d'autre étude fournissant des données sur les cas de double séropositivité en France.

A l'échelle européenne, cette valeur peut s'approcher de celle obtenue par certaines études italiennes (Laus *et al.*, 2013; Moretti *et al.*, 2010).

A l'échelle mondiale on trouve quelques études avec des chiffres similaires au Brésil, au Venezuela et en Mongolie par exemple, ce qui représente une très grande diversité géographique.

En revanche cette prévalence des doubles infections est bien supérieure à ce qui a pu être mesuré au Royaume-Uni ou en Arabie Saoudite dont les séroprévalences respectives des deux parasites sont plus basses qu'en France. C'est également le cas pour la Turquie, où des études montrent une séroprévalence de *T. equi* proche de celle de notre étude et une séroprévalence de *B. caballi* généralement inférieure à celle de notre étude (Acici *et al.*, 2008; Karatepe *et al.*, 2009; Sevinc *et al.*, 2008). Il serait intéressant de chercher à comprendre quels facteurs épidémiologiques et environnementaux pourraient être à l'origine des similitudes et différences entre les valeurs turques et celles de la région que nous avons étudiée.

ii. Facteurs associés à la double séropositivité

Bien que nous n'ayons pas présenté de modèle en lien avec la séropositivité conjointe à *B. caballi* et *T. equi*, notons qu'il n'existe pas de données sur d'éventuels facteurs de risque à la double séropositivité dans la littérature. Il serait intéressant d'avoir cette donnée à l'avenir, pour les études mesurant les séroprévalences des deux parasites.

d. Co-infections

i. Prévalence

Dans notre échantillon on observe une prévalence des co-infections de 5,2 % (IC95% = [0,2 ; 10,2]).

Comme vu en partie 1. 2. B. c. nous ne disposons pas d'information sur la prévalence des co-infections à *T. equi* et *B. caballi* à l'échelle de la France ou de l'Europe. Notre mesure (5,2 %, IC95% = [0,2 ; 10,2]) est donc la première à être présentée.

A l'échelle mondiale, la plupart des prévalences de co-infections mesurées chez des chevaux sont comprises dans notre intervalle de confiance. Cela inclut la Chine (2,1%), le Costa Rica (7,7%), l'Iran (1,6%), la Mongolie (2,5%), la Tunisie (1,9%) et le Venezuela (4,4%), alors que chacun de ses pays présente des valeurs de prévalence des infections à *T. equi* et *B. caballi* plus ou moins différentes de celles mesurée dans notre échantillon. En revanche, on peut se demander si la prévalence des co-infections à Cuba (20%) est réellement supérieure à la nôtre, sachant que ce chiffre ne repose sur une seule étude incluant une centaine de chevaux et ne fournissant pas d'intervalle de confiance (Tirosh-Levy *et al.*, 2020).

ii. Facteurs associés aux co-infections

Comme pour les doubles séropositivités, on manque de données sur les éventuels « facteurs de risque » des co-infections, car les rares études fournissant des prévalences de co-infections ne dégagent pas de facteurs significativement associés à ces cas. L'hypothèse la plus probable est le faible nombre d'animaux concernés, rendant difficile l'établissement de modèles corrects. En effet comme vu plus haut, les rares prévalences de co-infection mesurées dans le monde sur les 20 dernières années sont incluses dans notre intervalle de confiance, soit entre 0 et 10,2%, à l'exception de Cuba (20%).

B.Limites de l'étude

a. Matériel et méthodes

i. Echantillonnage

La région Auvergne-Rhône-Alpes a été choisie pour l'étude de la piroplasmose équine en raison de l'importante circulation des tiques vectrices de nos piroplasmes d'intérêt, les chevaux de trait étant tout particulièrement exposés du fait de leur élevage au pâturage. Ces faits ont permis de réduire la taille de l'échantillon nécessaire à une estimation correcte de la prévalence et séroprévalence des piroplasmoses équines.

Tirer au sort les élevages intégrables dans l'étude a permis d'attribuer au hasard des conditions d'élevage à différents groupes de chevaux de l'étude. Cependant, le fait que l'on ait prélevé plusieurs individus par élevage fait de la variable « élevage » une variable à contrôler. Ceci est pris en compte dans l'utilisation de modèles statistiques de régression logistiques mixtes qui prennent la variable « élevage » comme effet aléatoire.

Pour inclure définitivement un élevage dans l'étude, il nous a fallu réaliser une étape de prospection téléphonique ponctuée de nombreux refus. En somme nous n'avons inclus que des élevages dont les gestionnaires avaient la volonté et le temps de participer. Un léger biais de sélection est possible dans cette étape, sans qu'il ne remette réellement en cause nos conclusions.

Nous craignons de ne réussir à inclure dans l'étude que les chevaux manipulables, en réalité il a été très rare de ne pas pouvoir approcher et prélever les chevaux présents dans les exploitations. En revanche on peut penser que dans ces

rare cas de chevaux peu manipulables, les éleveurs auraient eu plus de difficulté à procéder à un détiqage. Ce biais est négligeable car en réalité peu, voire aucun propriétaire ne cherchait à réaliser de détiqage complet et systématique sur ses animaux, et la vaccination ainsi que les traitements antiparasitaires étaient aussi bien réalisés sur chaque cheval d'une exploitation.

ii. Collecte des données

□ Biais de classement sur les variables d'exposition

Le biais de classement correspond par exemple au fait d'attribuer la mauvaise exposition à un individu de l'étude. Dans notre étude, plusieurs erreurs de classement listées ci-dessous ont pu être commises. La collecte de données ayant été réalisée avant de connaître le statut sérologique et biologique des chevaux, le biais de classement décrit ci-après correspond à un biais de classement non différentiel (Desquilbet, 2021), qui tend à diminuer la force de l'association observée par rapport à l'association réelle entre deux variables.

Les informations concernant le genre, la race, l'âge et le statut vaccinal des chevaux sont, à moins d'une erreur de saisie, globalement correctes. En effet ces données sont issues des informations figurant sur le carnet de santé et papiers d'identité de cheval (bien que quelques animaux furent cependant vus sans leurs carnets).

La robe des animaux est une variable sujette au biais de classement car malgré la volonté d'homogénéiser les définitions des robes au cours de l'étude, il est possible que le changement d'observateurs en zone 2 ait pu entraîner de rares erreurs dans la classification des robes, notamment dans les nuances d'alezan. Par exemple, un cheval de robe alezan brûlé aux crins lavés a pu être classé en robe claire ou foncée en fonction de l'observateur.

Le portage de tiques positif n'est pas discutable, en revanche l'absence de visualisation de tiques sur un animal n'était pas nécessairement synonyme d'absence réelle de tiques.

Le biais de classement sur l'usage d'API et d'APE est très certainement très important car la collecte de cette information s'est faite à partir des données souvent approximatives données par les éleveurs. La majorité n'ayant pas de protocole de traitement précis prédéfini, une part non négligeable des données obtenues est potentiellement inexacte ou a pu varier au cours du temps.

Il en va de même pour les informations sur la taille des pâtures et le nombre de chevaux moyen par pâture (et par conséquent le chargement moyen de pâture calculé à partir des deux précédentes). Ces informations parfois approximatives furent collectées oralement auprès des éleveurs et non mesurées précisément sur le terrain.

Pour ce qui est de la collecte des données environnementales en lien avec le couvert végétal de la pâture, des erreurs de classement causées par de mauvaises approximations ont pu être commises, notamment pour le couvert forestier autour de 25%. Nous avons cependant utilisé la dichotomie « couvert faible » *versus* « couvert fort » pour nos modèles, rendant ce biais négligeable.

Malgré l'ensemble des points cités comme ayant pu générer un léger biais, nous pouvons considérer le biais de classement sur les variables négligeable dans notre étude, car il n'a concerné qu'un nombre faible d'individus. Par ailleurs, le biais de classement non différentiel diminuant la force des associations, il ne remet pas en cause les associations significatives obtenues dans notre étude.

□ Biais de classement sur la maladie

Les séroprévalences et prévalences apparentes de *B. caballi*, *T. equi* et des co-infections dans l'échantillon présentées en Partie 2. 2. A et B. diffèrent potentiellement des séroprévalences et prévalences réelles en raison de la sensibilité de la méthode utilisée pour l'analyse sérologique et PCR.

Nous avons vu qu'en théorie, la sensibilité de l'ELISA est de 91% pour *B. caballi* et de 96% pour *T. equi*, ce qui donne une probabilité de faux négatifs de 9% pour *B. caballi* et de 4% pour *T. equi*. Il faut ajouter à cela les données sur le test utilisé par le laboratoire, notamment pour *T. equi* où la sensibilité correspond à 95% de la sensibilité du test de référence. Le taux de faux négatifs n'est donc pas forcément négligeable pour les deux parasites. Le même raisonnement s'applique concernant le classement en « positif » ou « négatif » en PCR. La sensibilité de la PCR pour *B. caballi* et *T. equi* utilisé par notre laboratoire n'a pas pu être obtenue, malgré des échanges avec les équipes techniques.

Pour cette raison, des erreurs de classement non différentielles ont pu être commises lors du classement des animaux en séropositifs versus séronégatifs. La seconde raison possible serait que l'animal était en cours de séroconversion sous le seuil de détection.

En revanche, comme cité plus haut, le biais de classement non différentiel, même s'il est présent ne remet pas en cause les associations statistiques observées dans notre étude.

iii. Traitement des données

De nombreuses données de notre étude n'ont pas pu être pleinement étudiées et exploitées. Par exemple :

- pour le genre, nous n'avions que 4 étalons sur les 77 chevaux de l'étude, c'est insuffisant pour obtenir un résultat interprétable,
- pour la race, l'unique percheron et les quatre croisés posaient le même problème (d'où leur écartement des modèles),
- une variable comme l'utilisation des API était difficile à utiliser bien qu'intéressante. Il nous manquait l'information pour trois animaux, trois autres chevaux n'en recevaient pas ce qui fait de petits effectifs et les quelques chevaux traités 3 fois par an appartenaient au même élevage, renforçant par là le biais lié à l'échantillonnage.

Ensuite, pour les autres variables intégrées dans les modèles dont l'association à la (séro-)positivité n'est pas significative, on peut émettre l'hypothèse qu'un biais de classement non différentiel présent dans notre étude a pu masquer certaines associations, en en diminuant leur force.

C.Perspectives

En comparant la taille de notre échantillon (77 chevaux) avec celle des autres études françaises, européennes et mondiales parcourues lors des recherches bibliographiques, on peut supposer que notre étude, bien qu'elle ait dégagé des connaissances nouvelles, manque de puissance statistique. Il serait intéressant de poursuivre ce travail à plus grande échelle en incluant notamment plus d'animaux et d'autres départements français, comme réalisé dans la thèse universitaire en cours du Dr. Clémence NADAL qui inclut les quatre zones mentionnées précédemment.

Nous avons pu dégager huit facteurs de risques ou facteurs protecteurs potentiels pour les piroplasmoses à *B. caballi* et *T. equi*. A l'issue de notre étude l'élément qui questionne le plus concerne le rôle du couvert végétal dans les pâtures. En effet, héberger des chevaux dans des pâtures à fort couvert végétal (définition incluant de la forêt, des arbustes et des buissons) pourrait être un facteur favorisant la séropositivité à *T. equi*, quand il pourrait s'agir d'un élément protecteur à l'égard de la séropositivité à *B. caballi*. De plus, la présence de forêt à proximité directe des pâtures serait un facteur favorisant les infections à *T. equi*. Ces éléments, qui pourraient être à l'origine de recommandations concrètes à l'intention des éleveurs d'équidés pour la protection de leur cheptel contre les piroplasmoses, soulignent la complexité de l'éco-épidémiologie de ces maladies et la nécessité de poursuivre la recherche sur le sujet.

En effet, comprendre le rôle exact de la végétation dans la transmission des tiques vectrices de *T. equi* et *B. caballi*, voire d'autres maladies vectorielles, semble primordial pour arriver à une lutte efficace contre les maladies.

Conclusion

Babesia caballi et *Theileria equi* sont les deux agents principaux de la piroplasmose équine. Les formes cliniques et subcliniques de cette maladie ont un impact sanitaire et économique non négligeable. En France, on manque de données sur sa répartition.

L'objectif premier de notre étude était de décrire la séroprévalence et la prévalence de *B. caballi* et *T. equi* chez des chevaux de trait sur deux zones situées entre le Cantal et le Puy-de-Dôme. Pour cela nous avons étudié 20 élevages, 34 pâtures et inclus 77 chevaux au total. Le second objectif était de déterminer si des facteurs individuels, des facteurs en lien avec les pratiques d'élevage ou des facteurs environnementaux apparaissent statistiquement associés au statut sérologique ou PCR des chevaux de notre étude.

Pour *B. caballi*, nous observons une séroprévalence de 54.5% (IC95% = [43,4 ; 65,6]) et une prévalence de 10,4% (IC95% = [3,5 ; 17,2]). La séropositivité à *B. caballi* est positivement associée au portage de tiques, à un âge supérieur à 10 ans, à la race comtoise et au fait d'être en pâture de deux à quatre chevaux. Elle est négativement associée à la présence d'un fort couvert végétal dans la pâture. La positivité à *B. caballi* n'est associée à aucune variable de notre étude.

Pour *T. equi*, nous observons une séroprévalence de 26 % (IC95% = [16,1 ; 35,8]) et une prévalence de 31,2% (IC95% = [20,8 ; 41,6]). La séropositivité à *T. equi* est positivement associée à la présence d'un fort couvert végétal dans la pâture. La positivité à *T. equi* est négativement associée à la vermifugation une à deux fois par an et positivement associée à la présence de forêt à proximité de la pâture.

Nous observons une proportion de chevaux doublement séropositifs (*B. caballi* et à *T. equi*) de 20,8 % (IC95% = [11,7 ; 29,9]). La prévalence des co-infections est de 5,2 % (IC95% = [0,2 ; 10,2]).

Notre étude a permis de mettre en évidence que la gestion du peuplement et de la végétation des pâtures pourrait impacter la séroprévalence et la prévalence de la maladie, et que l'utilisation régulière de vermifuge à effet acaricides (moxidectine et ivermectine) pourrait jouer un rôle protecteur contre la piroplasmose à *T. equi*.

La comparaison de la taille de notre échantillon avec celles d'études étrangères ou françaises nous mène à penser que notre étude manque de puissance statistique. Pour poursuivre, il serait intéressant de mener une étude de plus grande ampleur avec une cohorte plus importante pour étudier plus précisément nos variables d'intérêt. Nous avons soulevé en discussion plusieurs points nécessitant une recherche au sujet de la répartition des tiques vectrices de *T. equi* et *B. caballi*, notamment en fonction des conditions environnementales et caractéristiques de pâtures. Ces points sont abordés dans la thèse de doctorat vétérinaire de Claire CHANET (ENVA 2022) sur la

même cohorte, et dans la thèse universitaire de Clémence NADAL sur deux zones supplémentaires entre Cantal et Puy-de-Dôme. On peut espérer une multiplication des études et de la surveillance sérologique et PCR de la piroplasmose, afin d'améliorer notre connaissance du statut français vis-à-vis de ces parasites.

Liste des références bibliographiques

- ABUTARBUSH, S.M., ALQAWASMEH, D.M., MUKBEL, R.M., *et al.* (2012) Equine babesiosis: seroprevalence, risk factors and comparison of different diagnostic methods in Jordan. *Transboundary and Emerging Diseases* vol. 59, n° 1, p. 72-78. [https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01244.x]
- ACICI, M., UMUR, S., GUVENC, T., *et al.* (2008) Seroprevalence of equine babesiosis in the Black Sea region of Turkey. *Parasitology International* vol. 57, n° 2, p. 198-200. [https://doi.org/10.1016/j.parint.2007.12.009]
- ADAMS, L.G. (1981) Clinicopathological aspects of imidocarb dipropionate toxicity in horses. *Research in Veterinary Science* vol. 31, p. 54-61.
- ALHASSAN, A.A., THEKISOE, O., NAOAKI, Y., *et al.* (2007) Development of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for diagnosis of equine piroplasmosis. *Veterinary Parasitology* vol. 143, n° 2, p. 155-160. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.08.014]
- ALLSOPP, M.T.E.P., LEWIS, B.D., PENZHORN, B.L. (2007) Molecular evidence for transplacental transmission of Theileria equi from carrier mares to their apparently healthy foals. *Veterinary Parasitology* vol. 148, n° 2, p. 130-136. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.05.017]
- ANSES, INTERVET (2020a) RCP Carbesia. [http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=CARBESIA] (consulté le 14/01/2022).
- ANSES, INTERVET (2020b) RCP Finadyne. [http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=FINADYNE] (consulté le 09/09/2022).
- ANSES, VETOQUINOL (2012) RCP Calmagine. [http://www.ircp.anmv.anses.fr/rcp.aspx?NomMedicament=CALMAGINE] (consulté le 09/09/2022).
- BAKHEIT, M.A., SEITZER, U., MBATI, P.A., *et al.* (2007) Serological diagnostic tools for the major tick-borne protozoan diseases of livestock. *Parasitologia* vol. 49, p. 53-62.
- BARTOLOMÉ DEL PINO, L.E., NARDINI, R., VENEZIANO, V., *et al.* (2016) Babesia caballi and Theileria equi infections in horses in Central-Southern Italy: Sero-molecular survey and associated risk factors. *Ticks and Tick-Borne Diseases* vol. 7, n° 3, p. 462-469. [https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.01.011]
- BASHIRUDDIN, J.B., CAMMÀ, C., REBÊLO, E. (1999) Molecular detection of Babesia equi and Babesia caballi in horse blood by PCR amplification of part of the 16S rRNA gene. *Veterinary Parasitology* vol. 84, n° 1-2, p. 75-83. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017(99)00049-7]
- BELLOLI, C., CRESCENZO, G., LAI, O. (2002) Pharmacokinetics of imidocarb dipropionate in horses after intramuscular administration. *Equine Veterinary Journal* vol. 34, n° 6, p. 625-629. [https://doi.org/10.2746/042516402776180124]
- BRUNING, A. (1996) Equine piroplasmosis an update on diagnosis, treatment and prevention. *British Veterinary Journal* vol. 152, p. 139-151. [https://doi.org/10.1016/S0007-1935(96)80070-4]
- BUTLER, C.M., NIJHOF, A.M., VAN DER KOLK, J.H., *et al.* (2008) Repeated high dose imidocarb dipropionate treatment did not eliminate Babesia caballi from naturally infected horses as determined by PCR-reverse line blot hybridization. *Veterinary Parasitology* vol. 151, n° 2, p. 320-322. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.11.010]
- CADORÉ, J.L., BOURDOISEAU, G., BEUGNET, F. (1995) Symptômes et traitement des babésioses équine. *Le Point Vétérinaire* vol. 27, n° 168, p. 123.
- CAMINO, E., DE LA CRUZ, M.L., DOMINGUEZ, L., *et al.* (2018) Epidemiological Situation of the Exposure to Agents Causing Equine Piroplasmosis in Spanish Purebred Horses in Spain: Seroprevalence and Associated Risk Factors. *Journal of Equine Veterinary Science* vol. 67, p. 81-86. [https://doi.org/10.1016/j.jevs.2018.03.012]

- CAMINO, E., POZO, P., DORREGO, A., *et al.* (2020) Importance of equine piroplasmosis antibody presence in Spanish horses prior to export. *Ticks and Tick-Borne Diseases* vol. 11, n° 2, p. 101-329. [<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.101329>]
- COSTA, S.C.L., FREITAS, J. de S., SILVA, A.N. da, *et al.* (2019) Frequency and factors associated with *Theileria equi*, *Babesia caballi* and *Trypanosoma evansi* in equids from Bahia (Northeast Brazil). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* vol. 28, n° 1, p. 47-58. [<https://doi.org/10.1590/s1984-296120180090>]
- CUNHA, C.W., MCGUIRE, T.C., KAPPEMEYER, L.S., *et al.* (2006) Development of specific immunoglobulin G_a (IgG_a) and IgG_b antibodies correlates with control of parasitemia in *Babesia equi* infection. *Clinical and Vaccine Immunology* vol. 13, n° 2, p. 297-300. [<https://doi.org/10.1128/cvi.13.2.297-300.2006>]
- DAHMANA, H., AMANZOUAGHENE, N., DAVOUST, B., *et al.* (2019) Great diversity of Piroplasmida in Equidae in Africa and Europe, including potential new species. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* vol. 18, p. 100332. [<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100332>]
- DESQUILBET, L. (2021) Tutoriel sur les stat' avec Excel et BiostaTGV. *In Bases en biostatistiques*. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Imprimerie du cercle des élèves, p. 17-19.
- DE WAAL, D.T., HEERDEN, J.V. (2004) Equine piroplasmosis. *Infection Diseases of Livestock*. vol. 1, p. 425-443.
- DE WAAL, D.T., VAN HEERDEN, J., VAN DEN BERG, S.S. (1988) Isolation of pure *Babesia equi* and *Babesia caballi* organisms in splenectomized horses from endemic areas in South Africa. *Journal of Veterinary Research* vol. 55, p. 33-35.
- DE WAAL, D.T. (1992) Equine piroplasmosis: a review. *The British Veterinary Journal* vol. 148, n° 1, p. 6-14. [[https://doi.org/10.1016/0007-1935\(92\)90061-5](https://doi.org/10.1016/0007-1935(92)90061-5)]
- DÍAZ-SÁNCHEZ, A.A., ROBLEJO-ARIAS, L., MARRERO-PERERA, R., *et al.* (2020) Piroplasmosis equina. *Revista de Salud Animal* vol. 42, n° 1, p. 74-77.
- DONNELLAN, C.M., MARAIS, H.J. (2009) Equine piroplasmosis. *Infectious Diseases of the Horse*. vol. 12, p. 333-340.
- EUZEBY, J. (1988) Babésiidés et Babésiidoses. *In Protozoologie médicale comparée - Volume III : Apicomplexa, 2 : Hémosporidioses. Fascicule 1: Plasmodiidés, Haemoproteidés, « Piroplasmés » (caractères généraux)*, Fondation Marcel Mérieux. Lyon, p. 403-552.
- FRERICHS, W.M., ALLEN, P.C., HOLBROOK, A.A. (1973) Equine piroplasmosis (*Babesia equi*): therapeutic trials of imidocarb dihydrochloride in horses and donkeys. *The Veterinary Record* vol. 93, n° 3, p. 73-75. [<https://doi.org/10.1136/vr.93.3.73>]
- FRITZ, D. (2010) A PCR study of piroplasms in 166 dogs and 111 horses in France (March 2006 to March 2008). *Parasitology Research* vol. 106, n° 6, p. 1339-1342. [<https://doi.org/10.1007/s00436-010-1804-3>]
- GARCÍA-BOCANEGRA, I., ARENAS-MONTES, A., HERNÁNDEZ, E., *et al.* (2013) Seroprevalence and risk factors associated with *Babesia caballi* and *Theileria equi* infection in equids. *The Veterinary Journal* vol. 195, n° 2, p. 172-178. [<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.06.012>]
- GRAUSE, J.F., UETI, M.W., NELSON, J.T., *et al.* (2013) Efficacy of imidocarb dipropionate in eliminating *Theileria equi* from experimentally infected horses. *The Veterinary Journal* vol. 196, n° 3, p. 541-546. [<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.10.025>]
- GUIDI, E., PRADIER, S., LEBERT, I., *et al.* (2015) Piroplasmosis in an endemic area: analysis of the risk factors and their implications in the control of Theileriosis and Babesiosis in horses. *Parasitology Research* vol. 114, n° 1, p. 71-83. [<https://doi.org/10.1007/s00436-014-4161-9>]
- GUILLOT, J. (2002) Etude de la prévalence et des facteurs de risque de la Babésiose sur la population des chevaux en Camargue. Thèse de médecine vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse.
- GUIMARAES, A.M., LIMA, J.D., TAFURI (1997) Clinical and histopathological aspects of splenectomized foals infected by *Babesia equi*. *Journal of Equine Veterinary Science* vol. 17, p. 211-216. [[https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(97\)80563-1](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(97)80563-1)]
- GUMMOW, B., DE WET, C.S., DE WAAL, D.T. (1996) Sero-epidemiological survey of equine piroplasmosis in the Northern and Eastern Cape Provinces of South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association* vol. 67, n° 4, p. 204-208.

- HANAFUSA, Y., CHO, K.O., KANEMARU, T., *et al.* (1998) Pathogenesis of *Babesia caballi* infection in experimental horses. *The Journal of Veterinary Medical Science* vol. 60, n° 10, p. 1127-1132. [<https://doi.org/10.1292/jvms.60.1127>]
- HOLBROOK, A.A. (1969) The biology of *Babesia*: development of the *Babesia* of horses. In *Proceedings of the 2nd International Conference on Equine Infectious Diseases*. Paris, p. 249-257.
- HOLBROOK, A.A., JOHNSON, A.J., MADDEN, B.S. (1968) Equine piroplasmiasis : Intraerythrocytic development of *Babesia caballi* (Nuttall) and *Babesia equi* (Laveran). *American Journal of Veterinary Research*, vol. 28, p. 297-303.
- HUANG, X., XUAN, X., XU, L., *et al.* (2004) Development of an Immunochromatographic Test with Recombinant EMA-2 for the Rapid Detection of Antibodies against *Babesia equi* in Horses. *Journal of Clinical Microbiology* vol. 42, n° 1, p. 359-361. [<https://doi.org/10.1128/JCM.42.1.359-361.2004>]
- KAPPEMEYER, L.S., PERRYMAN, L.E., HINES, S.A. (1999) Detection of equine antibodies to *Babesia caballi* by recombinant B. *caballi* rhoptry-associated protein 1 in a competitive-inhibition enzymelinked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology* vol. 37, p. 2285-2290. [<https://doi.org/10.1128/jcm.37.7.2285-2290.1999>]
- KARATEPE, B., KARATEPE, M., ÇAKMAK, A., *et al.* (2009) Investigation of seroprevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses in Nigde province, Turkey. *Tropical Animal Health and Production* vol. 41, n° 1, p. 109-113.
- KEPRO (2022) IMIDOCARB 120 INJ. In *Kepro*. [<https://www.kepro.nl/fr/products/imidocarb-120-inj-3/>] (consulté le 14/01/2022).
- KNOWLES, D.P., KAPPEMEYER, L.S., PERRYMAN, L.E. (1994) Specific immune responses are required to control parasitemia in *Babesia equi* infection. *Infection and Immunity* vol. 62, n° 5, p. 1909-1913. [<https://doi.org/10.1128/iai.62.5.1909-1913.1994>]
- KNOWLES, D.P., KAPPEMEYER, L.S., STILLER, D. (1992) Antibody to a recombinant merozoite protein epitope identifies horses infected with *Babesia equi*. *Journal of Clinical Microbiology* vol. 30, n° 2, p. 3122-3126. [<https://doi.org/10.1128/jcm.30.12.3122-3126.1992>]
- KUMAR, S., GUPTA, A.K., PAL, Y. (2003) In-vivo therapeutic efficacy trial with artemisinin derivative, buparvaquone and imidocarb dipropionate against *Babesia equi* infection in donkeys. *The Journal of Veterinary Medical Science* vol. 65, p. 1171-1177. [<https://doi.org/10.1292/jvms.65.1171>]
- KUTTLER, K.L., ZAUGG, J.L., GIPSON, C.A. (1987) Imidocarb and parvaquone in the treatment of piroplasmiasis (*Babesia equi*) in equids. *American Journal of Veterinary Research* vol. 48, n° 11, p. 1613-1616.
- LAUS, F., VERONESI, F., PASSAMONTI, F., *et al.* (2013) Prevalence of Tick Born Pathogens in Horses from Italy. *Journal of Veterinary Medical Science* vol. 75, n° 6, p. 715-720. [<https://doi.org/10.1292/jvms.12-0449>]
- LEMETAYER, G. (2007) Séroprévalence des piroplasmoses équine en France entre 1997 et 2005. Thèse de médecine vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- LEWIS, B.D., PENZHORN, B.L., VOLKMANN, D.H. (1999) Could treatment of pregnant mares prevent abortions due to equine piroplasmiasis ? *Journal of the South African Veterinary Association* vol. 70, n° 2, p. 90-91. [<https://doi.org/10.4102/jsava.v70i2.760>]
- LOSTFELD, C. (2021) Bilan statistiques de la filière équine française - IFCE Données 2020. [<https://equipedia.ifce.fr/bibliotheque/6.Statistiques/6.1.Ecus-depliant/IFCE-Depliant-chiffres-cles-2021-WEB.pdf>] (consulté le 03/12/2022).
- MAHMOUD, M.S., EL-EZZ, N.T.A., ABDEL-SHAFY, S., *et al.* (2016) Assessment of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in equine populations in Egypt by molecular, serological and hematological approaches. *Parasites Vectors* vol. 9, p. 260. [<https://doi.org/10.1186/s13071-016-1539-9>]
- MAHMOUD, M.S., KANDIL, O.M., ABU EL-EZZ, N.T., *et al.* (2020) Identification and antigenicity of the *Babesia caballi* spherical body protein 4 (SBP4). *Parasites & Vectors* vol. 13, n° 1, p. 369. [<https://doi.org/10.1186/s13071-020-04241-9>]

- MANS, B.J., PIENAAR, R., LATIF, A.A. (2015) A review of Theileria diagnostics and epidemiology. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* vol. 4, n° 1, p. 104-118. [https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.12.006]
- MEHLHORN, H., SCHEIN, E. (1985) The piroplasms: Life cycle and sexual stages. *Advanced Parasitology* vol. 23, p. 37-103. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60285-7]
- MEYER, C., GUTHRIE, A.J., STEVEN, K.B. (2005) Clinical and clinicopathological changes in 6 healthy ponies following intramuscular administration of multiple doses of imidocarb dipropionate. *Journal of the South African Veterinary Association* vol. 76, n° 1, p. 26-32. [https://doi.org/10.4102/jsava.v76i1.390]
- MONTES CORTÉS, M.G. (2017) Seroprevalence of Theileria equi and Babesia caballi in horses in Spain. *Parasite* vol. 24, p. 14. [https://doi.org/10.1051/parasite/2017015]
- MORETTI, A., MANGILI, V., SALVATORI, R., et al. (2010) Prevalence and diagnosis of Babesia and Theileria infections in horses in Italy: a preliminary study. *The Veterinary Journal* vol. 184, n° 3, p. 346-350. [https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.03.021]
- NADAL, C., BONNET, S.I., MARSOT, M. (2021) Eco-epidemiology of equine piroplasmiasis and its associated tick vectors in Europe: A systematic literature review and a meta-analysis of prevalence. *Transboundary and Emerging Diseases* vol. 69, n° 5. [https://doi.org/10.1111/tbed.14261]
- NOTOMI, T., OKAYAMA, H., MASUBUCHI, H., et al. (2000) Loop mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research* vol. 28, n° 12, p. e63. [https://dx.doi.org/10.1093/nar/28.12.e63]
- OGUNREMI, O., GEORGIADIS, M.P., HALBERT, G., et al. (2007) Validation of the indirect fluorescent antibody and the complement fixation tests for the diagnosis of Theileria equi. *Veterinary Parasitology* vol. 148, n° 2, p. 102-108. [https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.06.006]
- OGUNREMI, O., HALBERT, G., MAINAR-JAIME, R., et al. (2008) Accuracy of an indirect fluorescent-antibody test and of a complement-fixation test for the diagnosis of Babesia caballi in field samples from horses. *Preventive Veterinary Medicine* vol. 83, n° 1, p. 41-51. [https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2007.06.009]
- ONYICHE, T.E., SUGANUMA, K., IGARASHI, I., et al. (2019) A Review on Equine Piroplasmiasis: Epidemiology, Vector Ecology, Risk Factors, Host Immunity, Diagnosis and Control. *International Journal of Environmental Research and Public Health* vol. 16, n° 10, p. E1736. [https://doi.org/10.3390/ijerph16101736]
- PIANTEDOSI, D., D'ALESSIO, N., DI LORIA, A., et al. (2014) Seroprevalence and risk factors associated with Babesia caballi and Theileria equi infections in donkeys from Southern Italy. *The Veterinary Journal* vol. 202, n° 3, p. 578-582. [https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.09.025]
- RAPOPORT, A., AHARONSON-RAZ, K., BERLIN, D., et al. (2014) Molecular characterization of the Babesia caballi rap-1 gene and epidemiological survey in horses in Israel. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* vol. 23, p. 115-120. [https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.01.033]
- RASHID, H., CHAUDHRY, M. (2007) Comparative efficacy of diminazene diaceturate and diminazene aceturate for the treatment of babesiosis in horses. *Tropical Animal Health and Production* vol. 40, n° 6, p. 463-467. [https://doi.org/10.1007/s11250-007-9121-2]
- RIBEIRO, A.J., CARDOSO, L., MAIA, J.M., et al. (2013) Prevalence of Theileria equi, Babesia caballi, and Anaplasma phagocytophilum in horses from the north of Portugal. *Parasitology Research* vol. 112, n° 7, p. 2611-2617. [https://doi.org/10.1007/s00436-013-3429-9]
- ROTHSCHILD, C.M. (2013) Equine Piroplasmiasis. *Journal of Equine Veterinary Science* vol. 33, n° 7, p. 497-508. [https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.03.189]
- RÜEGG, S.R., TORGERSON, P., DEPLAZES, P., et al. (2007) Age-dependent dynamics of Theileria equi and Babesia caballi infections in southwest Mongolia based on IFAT and/or PCR prevalence data from domestic horses and ticks. *Parasitology* vol. 134, n° 7, p. 939-947. [https://doi.org/10.1017/S0031182007002405]
- SCHWINT, O.N., UETI, M.W., PALMER, G.H., et al. (2009) Imidocarb Dipropionate Clears Persistent Babesia caballi Infection with Elimination of Transmission Potential. *Antimicrobial*

- Agents and Chemotherapy* vol. 53, n° 10, p. 4327-4332. [<https://doi.org/10.1128/AAC.00404-09>]
- SCOLES, G.A., UETI, M.W. (2015) Vector ecology of equine piroplasmosis. *Annual Review of Entomology* vol. 60, p. 561-580. [<https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-021110>]
- SEVINC, F., MADEN, M., KUMAS, C., *et al.* (2008) A comparative study on the prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in horse sub-populations in Turkey. *Veterinary Parasitology* vol. 156, n° 3, p. 173-177. [<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.06.006>]
- SOULE, C., PERRET, C., CARROUE, O., *et al.* (1998) Répartition géographique des babésioses équines latentes en France. *Médecine et Maladies Infectieuses* vol. 28, n° 4, p. 403-404. [[https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(98\)70238-0](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(98)70238-0)]
- TIROSH-LEVY, S., GOTTLIEB, Y., FRY, L.M., *et al.* (2020) Twenty Years of Equine Piroplasmosis Research: Global Distribution, Molecular Diagnosis, and Phylogeny. *Pathogens* vol. 9, n° 11, p. 926. [<https://doi.org/10.3390/pathogens9110926>]
- TORINA, A., VICENTE, J., ALONGI, A., *et al.* (2006) Observed Prevalence of Tick-borne Pathogens in Domestic Animals in Sicily, Italy during 2003-2005. *Zoonoses and Public Health* vol. 54, n° 1, p. 8-15. [<https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2007.00989.x>]
- UETI, M.W., MEALEY, R.H., KAPPEMEYER, L.S., *et al.* (2012) Re-emergence of the apicomplexan *Theileria equi* in the United States: elimination of persistent infection and transmission risk. *PLoS ONE* vol. 7, n° 9, p. e44713. [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044713>]
- UETI, M.W., PALMER, G.H., SCOLES, G.A., *et al.* (2008) Persistently Infected Horses Are Reservoirs for Intrastadial Tick-Borne Transmission of the Apicomplexan Parasite *Babesia equi*. *Infection and Immunity* vol. 76, n° 8, p. 3525-3529. [<https://doi.org/10.1128/IAI.00251-08>]
- UILENBERG, G. (2006) *Babesia*—A historical overview. *Veterinary Parasitology, Babesiosis* vol. 138, n° 1, p. 3-10. [<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.035>]
- VMRD (2021) Equine - Test Kits - *Babesia caballi* Antibody Test Kit, cELISA. In *Veterinary Medical Research & Development*. [<https://vmrd.com/test-kits/detail/babesia-caballi-antibody-test-kit-celisa>] (consulté le 12/10/2022).
- VMRD (2020) Equine - Test Kits - *Theileria equi* Antibody Test Kit, cELISA. In *Veterinary Medical Research & Development*. [<https://vmrd.com/test-kits/detail/theileria-equi-antibody-test-kit-celisa>] (consulté le 12/10/2022).
- WIKIPEDIA (2022a) *Babesia canis*. In *Wikipédia*. [<https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Babesia&oldid=195866768>] (consulté le 09/09/2022).
- WIKIPEDIA (2022b) *Theileria*. In *Wikipédia*. [<https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Theileria&oldid=195274626>] (consulté le 09/09/2022).
- WIKIPEDIA (2022c) Immunochromatographie. In *Wikipédia*. [<https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Immunochromatographie&oldid=189939132>] (consulté le 26/01/2022).
- WISE, L. n., KAPPEMEYER, L. s., MEALEY, R. h., *et al.* (2013) Review of Equine Piroplasmosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* vol. 27, n° 6, p. 1334-1346. [<https://doi.org/10.1111/jvim.12168>]
- ZAUGG, J.L., LANE, V.M. (1992) Efficacy of buparvaquone as a therapeutic and clearing agent of *Babesia equi* of European origin in horses. *American Journal of Veterinary Research* vol. 53, n° 8, p. 1396-1399.
- ZAUGG, J.L., LANE, V.M. (1989) Evaluations of buparvaquone as a treatment for equine babesiosis (*Babesia equi*). *American Journal of Veterinary Research* vol. 50, n° 5, p. 782-785.
- ZOBBA, R., ARDU, M., NICCOLIN, S., *et al.* (2008) Clinical and laboratory findings in equine piroplasmosis. *Journal of Equine Veterinary Science* vol. 28, n° 5, p. 301-308. [<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2008.03.005>]
- ZWEYGARTH, E., AHMED, J.S., REHBEIN, G., *et al.* (1983) Cell-mediated immune response to *Babesia equi*-transformed lymphoblastoid cells in vitro. *Zentralblatt für Bakteriologie Mikrobiologie und Hygiene. A Medizinische Mikrobiologie Infektionskrankheiten und Parasitologie* vol. 254, n° 2, p. 281-289.

Annexe 1 : Questionnaire éleveur

Questionnaire sur les pratiques d'élevage et l'environnement des chevaux de trait pour l'étude des facteurs de risque de la piroplasmose équine

Nom

Prénom

Code postal de l'élevage

Commune

INFORMATIONS GENERALES

Quelle est votre activité principale ?

- Elevage de chevaux de trait Autre
 Autre type d'élevage

Quelle part de votre temps de travail allouez-vous à l'élevage de chevaux de trait ?

- Moins de 25% de mon temps Entre 50 et 75% de mon temps
 Entre 25 et 50% de mon temps Plus de 75% de mon temps

Combien de chevaux de trait (adultes et poulains compris) possédez-vous actuellement ?

Questionnaire sur les pratiques d'élevage et l'environnement des chevaux de trait pour l'étude des facteurs de risque de la piroplasmose équine

PRATIQUES D'ELEVAGE

Quelle(s) race(s) de chevaux de trait produisez-vous ?

- Ardennais Franches Montagnes
 Auxois Percheron
 Boulonnais Trait du Nord
 Breton Trait Poitevin Mulassier
 Cob Normand Croisé
 Comtois Autre

Si vous avez une race croisée, merci de préciser :

Pour quel type d'activité possédez-vous des chevaux de trait ?

- Elevage pour viande Loisir
 Travail

Les juments suitées sortent-elles de l'élevage (mise à la reproduction par exemple) ?

- Oui Non

Pouvez-vous préciser le nombre de chevaux que vous avez ?

Ardennais	<input type="text"/>
Auxois	<input type="text"/>
Boulonnais	<input type="text"/>
Breton	<input type="text"/>
Cob Normand	<input type="text"/>
Comtois	<input type="text"/>
Franches Montagnes	<input type="text"/>
Percheron	<input type="text"/>
Trait du Nord	<input type="text"/>
Trait Poitevin Mulassier	<input type="text"/>
Croisé	<input type="text"/>
Autre	<input type="text"/>

Questionnaire sur les pratiques d'élevage et l'environnement des chevaux de trait pour l'étude des facteurs de risque de la piroplasmose équine

Si oui, à quelle(s) période(s) sortent-ils en pâture ?

- Printemps Automne
 Eté Hiver

Les juments suitées sortent-elles en pâture ?

- Oui Non

Si oui, à quelle(s) période(s) sortent-elles en pâture ?

- Printemps Automne
 Eté Hiver

Les juments non suitées sortent-elles en pâture ?

- Oui Non

Si oui, à quelle(s) période(s) sortent-elles en pâture ?

- Printemps Automne
 Eté Hiver

Pratiquez-vous des pâturages mixtes (système de rotation, ou simultanément sur la pâture) ?

- Oui, simultané Non
 Oui, alterné

Si oui, avec quelle espèce réalisez-vous le pâturage mixte ?

- Bovin Autre
 Ovin

Questionnaire sur les pratiques d'élevage et l'environnement des chevaux de trait pour l'étude des facteurs de risque de la piroplasmose équine

Combien de naissances avez-vous eu cette année dans votre élevage ?

Possédez-vous un élevage autre que les chevaux de trait ?

- Oui Non

Si oui, quelle(s) espèce(s) élevez-vous ?

- Bovins Autre
 Ovins

Quelle est la taille de cet élevage ? (nombre de têtes)

Certains de vos chevaux ont-ils déjà eu de la piroplasmose ?

- Oui Je ne sais pas
 Non Je ne connais pas cette maladie

Si oui, combien de vos chevaux ont été atteints de piroplasmose ?

Certains de vos chevaux ont-ils déjà eu d'autres pathologies notables ?

- Borréliose (Maladie de Lyme) Pas à ma connaissance
 Anaplasmose équine Autre

Questionnaire sur les pratiques d'élevage et l'environnement des chevaux de trait pour l'étude des facteurs de risque de la piroplasmose équine Etude piroplasmose équine chez les chevaux trait

Pouvez-vous décrire brièvement le système de rotation mis en place dans votre élevage ?

Vos chevaux partent-ils en estive ?

Oui Non

Si oui, expliquez les modalités de celle-ci (type d'animaux concernés, regroupement d'animaux de différents élevages ou non...)

Possédez-vous un registre d'élevage ou autre document permettant de connaître la localisation des chevaux sur les pâtures, dans les bâtiments ou en estive le cas échéant ?

Oui Non

Réalisez-vous un broyage des refus sur les pâtures ?

Oui Non

Si oui, procédez-vous ensuite à l'enlèvement du refus broyé ?

Oui Non

Fauchez-vous l'herbe haute ?

Oui Non

Réalisez-vous un broyage des plantes ligneuses sur les pâtures ?

Oui Non

Questionnaire sur les pratiques d'élevage et l'environnement des chevaux de trait pour l'étude des facteurs de risque de la piroplasmose équine

Si oui, dans quel contexte ?

Combien de fois par an ?

Et pour combien de temps ?

Les étalons sortent-ils de l'élevage (dans un autre élevage pour la reproduction ou dans un centre d'insémination par exemple) ?

Oui Je n'ai pas d'étalon
 Non

Les étalons sortent-ils en pâture ?

Oui Non

Si oui, à quelle(s) période(s) sortent-ils en pâture ?

Printemps Automne
 Eté Hiver

A quelle(s) saison(s) naissent les poulains ?

Printemps Automne
 Eté Hiver

Les poulains sortent-ils en pâture ?

Oui Non

Questionnaire sur les pratiques d'élevage et l'environnement des chevaux de trait pour l'étude des facteurs de risque de la piroplasmose équine

Réalisez-vous un traitement spécifique sur vos pâtures (herbicide) ?

- Oui Non

Si oui, précisez le traitement utilisé :

Mettez-vous en place un repos hivernal pour les pâtures ?

- Oui Non

A quelle fréquence observez-vous la présence de tiques sur vos chevaux ?

- Jamais Plus de 5 fois par an
 Moins de 5 fois par an Très régulièrement

A quelle(s) période(s) de l'année les observez-vous ?

- Printemps Automne
 Eté Hiver

Traitez-vous vos chevaux contre les tiques ?

- Oui, je réalise un traitement chimique sur les poulains non sevrés Oui, je réalise un traitement chimique sur les adultes
 Oui, je réalise un traitement chimique sur les poulains sevrés Non

Précisez le produit utilisé :

Et la fréquence à laquelle vous l'appliquez :

Questionnaire sur les pratiques d'élevage et l'environnement des chevaux de trait pour l'étude des facteurs de risque de la piroplasmose équine

ENVIRONNEMENT

Possédez-vous un plan de masse de votre exploitation et en particulier de vos pâtures, ou tout autre plan comportant des informations sur la topographie, l'emplacement des bâtiments, les délimitations des pâtures et la végétation existante ?

- Oui Non

De combien de pâtures disposez-vous pour vos chevaux de trait ?

Lorsque vous mettez les chevaux dans une parcelle, à quelle hauteur est l'herbe de la pâture ?

- Rase Elle arrive à mi-canon des chevaux
 Elle arrive aux boulets des chevaux

Avez-vous connaissance du passage de faune sauvage (cerf, chevreuil, sanglier, ...) dans les pâtures ?

- Oui Ne sait pas
 Non

Si oui, quelles espèces avez-vous déjà pu observer ?

A quelle fréquence pensez-vous que la faune sauvage traverse vos pâtures ?

Possédez-vous un ou plusieurs chiens qui vont sur les pâtures ?

- Oui Non

Questionnaire sur les pratiques d'élevage et l'environnement des chevaux de trait pour l'étude des facteurs de risque de la piroplasmose équine

Surveillez-vous la présence de tiques sur les chevaux, et les retirez-vous manuellement ?

- Oui je retire manuellement les tiques sur les poulains non sevrés Oui je surveille mais je ne retire pas les tiques
- Oui je retire manuellement les tiques sur les poulains sevrés Non
- Oui je retire manuellement les tiques sur les adultes

A quelle fréquence regardez-vous si vos chevaux ont des tiques ?

Utilisez-vous un dispositif de type "Tire-tic®" pour les retirer ?

- Oui Non

A quelle fréquence allez-vous voir vos chevaux sur les pâtures ?

En cas de nouvel entrant au sein de l'élevage, procédez-vous à un test sérologie ou PCR de la piroplasmose équine ?

- Oui Non concerné
- Non

En cas de nouvel entrant au sein de l'élevage, procédez-vous systématiquement à un traitement anti-parasitaire de celui-ci ?

- Oui Non concerné
- Non

Questionnaire sur les pratiques d'élevage et l'environnement des chevaux de trait pour l'étude des facteurs de risque de la piroplasmose équine

Avez-vous des informations que vous jugeriez importantes de nous transmettre concernant la connaissance de votre élevage et/ou la gestion de la piroplasmose équine au sein de votre élevage ?

Annexe 3 : Fiche pâture

Elevage :

Fiche pâtures

Pâtûre 1 :

- Coordonnées GPS :
- T°C : Hygrométrie : Altitude (cf coord. GPS) :
- Surface de la pâture (en hectares) :
- Nombre de chevaux pâturent simultanément dans la pâture :
- Pâturage mixte : Non Oui. Si oui, Alterné Simultané Espèce :
- Zone boisée à l'intérieur de la pâture ? Non Oui
Si oui, proportion de la parcelle recouverte par des arbres :
 < 25% Entre 25 et 50% entre 50 et 75% > 75%
- Présence de buissons ou d'arbustes sur la pâture ? Non Oui
- Pâtûre humide au printemps et à l'automne (zones de ruissellement, flaques) ? Non Oui
- Pâtûre inondable en hiver ? Non Oui
- Présence d'un plan d'eau ou cours d'eau sur la pâture ? Non Oui
- Végétation sur les clôtures autour des pâtures ?
- Proximité directe avec autre pâture (bovins ou ovins) ? Non Oui
- Proximité directe avec champ agricole ? Non Oui. Si oui, préciser type de culture
- Proximité directe avec forêt ? Non Oui
- Présence d'un abri dans la pâture ? Non Oui

Pâtûre 2 :

- Coordonnées GPS :
- T°C : Hygrométrie : Altitude (cf coord. GPS) :
- Surface de la pâture (en hectares) :
- Nombre de chevaux pâturent simultanément dans la pâture :
- Pâturage mixte : Non Oui. Si oui, Alterné Simultané Espèce :
- Zone boisée à l'intérieur de la pâture ? Non Oui
Si oui, proportion de la parcelle recouverte par des arbres :
 < 25% Entre 25 et 50% entre 50 et 75% > 75%
- Présence de buissons ou d'arbustes sur la pâture ? Non Oui
- Pâtûre humide au printemps et à l'automne (zones de ruissellement, flaques) ? Non Oui
- Pâtûre inondable en hiver ? Non Oui
- Présence d'un plan d'eau ou cours d'eau sur la pâture ? Non Oui
- Végétation sur les clôtures autour des pâtures ?
- Proximité directe avec autre pâture (bovins ou ovins) ? Non Oui
- Proximité directe avec champ agricole ? Non Oui. Si oui, préciser type de culture
- Proximité directe avec forêt ? Non Oui
- Présence d'un abri dans la pâture ? Non Oui

Annexe 4 : Script R

Extraits de script sur R

- FORET ALEATOIRE POUR L'ETUDE DE LA SEROPOSITIVITE A *B. CABALLI*

```
#RANDOM FOREST ET SON PLOT

modell <- train(ser_bc ~ elevage + zone + race + charge_tiques_cat + age_10 + robe +
freq_APE + vaccin + taille_pat_cat + nbCV_pat_cat +
chargmt_cat + prox_bv + humidite + foret + buissons + vegetation + prox_foret,
              data = data2, method = "rf")

varImp(modell)
varImpPlot(modell$finalModel)
```

- MODELE DE REGRESSION LOGISTIQUE MIXTE LIANT LA SEROPOSITIVITE A *B. CABALLI* AU PORTAGE EDE TIQUES, A LA RACE, AU NOMBRE DE CEVAUX PAR PATURE, AU COUVERT FORESTIER, A LA PROXIMITE DIRECTE DE FORET, AU CHARGEMENT DE LA PATURE ET L'AGE

```
res.glm.mix1 <- glmer(ser_bc ~ charge_tiques_cat + race + nbCV_pat_cat +
                    foret + prox_foret + chargmt_cat + age_10 + (1 | elevage),
                    | data = data2, family = "binomial")
tab_model(res.glm.mix1, show.aic = T)
```

SÉROPRÉVALENCE ET PRÉVALENCE DE *BABESIA CABALLI* ET *THEILERIA EQUI* CHEZ LES CHEVAUX DE TRAIT EN FRANCE : ÉTUDE D'UNE ZONE PILOTE EN RÉGION AUVERGNE-RHÔNE-ALPES

AUTEUR : Claire DELAUNAY

RÉSUMÉ :

Babesia caballi et *Theileria equi* sont les deux parasites principalement responsables de la piroplasmose équine, affection d'impact sanitaire et économique dans la filière équine. Peu de données récentes sont disponibles sur le statut sérologique et biologique des chevaux français vis-à-vis de cette maladie.

Cette thèse comprend d'abord une présentation bibliographique des parasites avec leurs modes de transmission, l'épidémiologie des piroplasmoses équines avec les « facteurs de risques » et « facteurs protecteurs » dégagés à ce jour, leurs présentations cliniques, les moyens diagnostiques et les traitements envisageables. Ensuite est présentée une étude réalisée en avril 2021 en Auvergne-Rhône-Alpes sur 20 élevages, incluant 77 chevaux de trait élevés en pâture ayant pour premier objectif d'estimer la séroprévalence et la prévalence de *B. caballi* et *T. equi* dans cette région à forte circulation de ces pathogènes. Le second objectif était de dégager des facteurs de risques ou facteurs protecteurs potentiels pour ces deux pathogènes. Nous obtenons une séroprévalence de *B. caballi* de 54,5% (IC95% = [43,4 ; 65,6]), de *T. equi* de 26 % (IC95% = [16,1 ; 35,8]) et 20,8 % (IC95% = [11,7 ; 29,9]) de doubles séropositivités. La prévalence de *B. caballi* est de 10,4% (IC95% = [3,5 ; 17,2]), celle de *T. equi* est de 31,2% (IC95% = [20,8 ; 41,6]) et celle des co-infections est de 5,2 % (IC95% = [0,2 ; 10,2]).

L'utilisation du logiciel R pour réaliser des modèles de régression logistique mixtes en prenant comme la variable élevage comme effet fixe nous a permis d'isoler plusieurs variables statistiquement associées aux statuts sérologiques ou PCR des chevaux. La séropositivité à *B. caballi* est positivement associée au portage de tiques, à un âge supérieur à 10 ans, à la race comtoise et au fait d'être hébergé en pâture incluant 2 à 4 chevaux. Elle est négativement associée à la présence d'un fort couvert végétal dans la pâture. La séropositivité à *T. equi* est positivement associée à la présence d'un fort couvert végétal dans la pâture. La positivité à *T. equi* est négativement associée au la vermifugation une à deux fois par an et positivement associée au fait d'être en pâture à proximité directe d'une forêt.

La poursuite de ce travail sur une cohorte de plus grande taille à l'échelle nationale serait intéressante pour dégager des recommandations de gestion environnementale des exploitations pour lutter contre la transmission des piroplasmoses équines.

MOTS CLÉS :

PIROPLASMOSE / EQUIDÉ / CHEVAL DE TRAIT / THEILERIA EQUI / BABESIA CABALLI / TIQUE / AUVERGNE-RHÔNE-ALPES / SÉROPRÉVALENCE / PRÉVALENCE / FACTEUR DE RISQUE

JURY :

Président : Pr Jacques GUILLOT

Directrice de thèse : Dr Lélia BERTONI

Examineur : Dr Ludovic TANQUEREL

Invitée : Maud MARSOT

SEROPREVALENCE AND PREVALENCE OF BABESIA CABALLI AND THEILERIA EQUI IN FRENCH DRAFT HORSES: STUDY IN AUVERGNE-RHONE-ALPES, FRANCE

AUTHOR : Claire DELAUNAY

SUMMARY :

Babesia caballi and *Theileria equi* are the two parasites mainly responsible for the equine piroplasmiasis, which has both a sanitary and economic impact in equine industry. We only have scarce recent data on the serological and biological status of French horses for this disease.

This thesis firstly includes a bibliographic presentation of the parasites with their transmission modes, the epidemiology of equine piroplasmiasis with the “risk factors” and “protection factors” identified so far their clinical presentations, diagnostic means and possible treatments. Then, a study carried out in April 2021 in Auvergne-Rhone-Alpes (France), including 20 farms with 77 draft horses living in pastures is presented. Our first objective was estimating the seroprevalence and the prevalence of *B. caballi* and *T. equi* in this region, known for its high circulation of these pathogens. The second objective was to identify potential risk or protection factors for the two parasites. A seroprevalence for *B. caballi* of 54.5% (IC95% = [43,4 ; 65,6]), for *T. equi* of 26 % (IC95% = [16,1 ; 35,8]) and for infection by both parasites of 20,8 % (IC95% = [11,7 ; 29,9]) was found. The prevalence for *B. caballi* was 10,4 % (IC95% = [3,5 ; 17,2]), for *T. equi* was 31,2% (IC95% = [20,8 ; 41,6]) and 5,2 % (IC95% = [0,2 ; 10,2]) for co-infections.

The use of R software to produce mixed logistic regression models using the farm as fixed effect allowed us to isolate several variables statistically associated with serological or PCR status of horses. Seropositivity to *B. caballi* is positively associated with carrying ticks, being older than 10 years, being of the comtois breed and living in pasture hosting 2 to 4 horses. It is negatively associated with the presence of an abundant vegetal cover in the pasture. *T. equi* seropositivity is positively associated with the presence of an abundant vegetal cover in the pasture. Positivity to *T. equi* is negatively associated with deworming once or twice a year and positively associated with the fact of living in a pasture in direct proximity to a forest.

It would be interesting to continue the research on this topic with a larger cohort at a national level, to find recommendations for environmental management of draft horse's farms for the prevention of equine piroplasmiasis transmission.

KEYWORDS:

PIROPLASMOSIS / DRAFT HORSE / THEILERIA EQUI / BABESIA CABALLI / TICK / AUVERGNE-RHONE-ALPES / SEROPREVALENCE / PREVALENCE / RISK FACTOR

JURY:

Chairperson: Pr Jacques GUILLOT
Thesis Director: Dr Lélia BERTONI
Reviewer: Dr Ludovic TANQUEREL
Guest: Maud MARSOT