

# JOURNÉES SCIENCES & INNOVATIONS ÉQUINES

22 ET 23 MAI 2025 - IFCE SAUMUR

Connaissances



www.ifce.fr



Mickaël  
Mège

Ingénieur d'études depuis deux ans à INRAE après avoir travaillé au CEA et à IFREMER, Mickaël Mège étudie la diversité génétique des deux parasites sanguins responsables de la piroplasmose équine sur la base de marqueurs moléculaires.

[mickael.mege@inrae.fr](mailto:mickael.mege@inrae.fr)

## Partenaires



## Financier(s)



## *Theileria equi*, un complexe d'espèces ? Impact diagnostic

Mickaël Mège<sup>1</sup>, Claire Bonsergent<sup>1</sup>, Florian Berquier<sup>1</sup>, Laurence Malandrin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Oniris, INRAE, BIOEPAR

### Type de présentation : Poster - Projet R&D

#### Ce qu'il faut retenir :

La piroplasmose équine, transmise par les tiques, est causée par deux parasites, *Theileria equi* et *Babesia caballi*, qui se multiplient dans les hématies (globules rouges) des équidés engendrant des problèmes d'un point de vue sanitaire et économique. La caractérisation génétique de ces espèces repose essentiellement sur l'analyse du gène codant l'ARNr 18S qui est peu variable mais permet de séparer cinq groupes de variants génétiques (génotypes) chez *T. equi*. Afin d'affiner cette caractérisation, des gènes conservés et variables de chacun des trois génomes présents chez ces parasites (noyau, apicoplaste et mitochondrie) ont été étudiés.

Les comparaisons des séquences de ces gènes ont révélé que la variabilité intra-génotype est extrêmement faible. Par contre, on observe des variations entre génotypes plus ou moins importantes selon le gène étudié.

Notre étude révèle également que certains tests actuellement utilisés pour diagnostiquer la piroplasmose équine peuvent conduire à des faux négatifs, en fonction du génotype présent chez le cheval.



© Montage Mickaël Mège à partir d'Adobe Stock et Biorender

Organisé par :



## 1. Contexte et objectifs

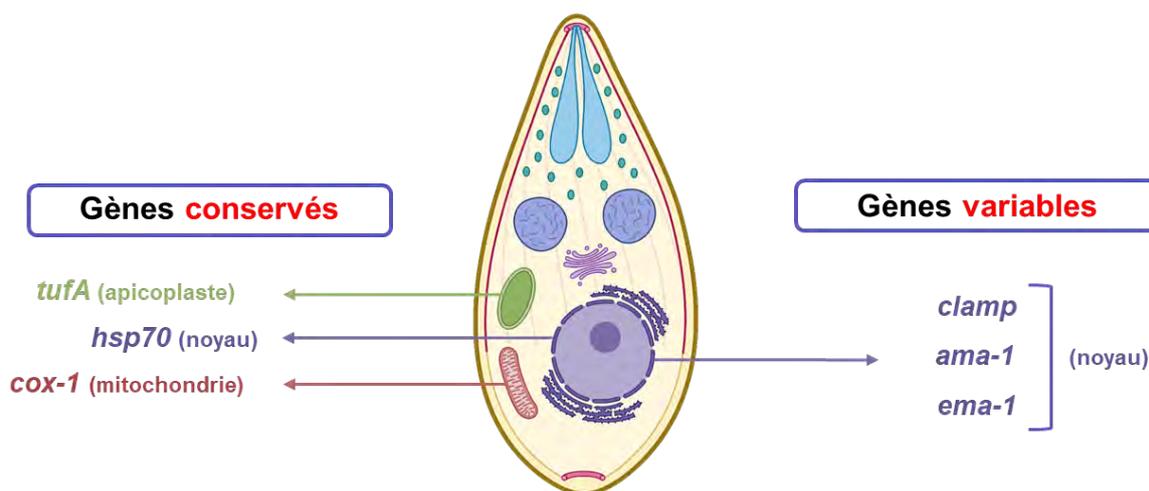
La piroplasmose équine est une maladie des équidés (chevaux, ânes, mulets et zèbres) qui se propage à l'échelle mondiale par l'intermédiaire de diverses espèces de tiques. Bien que largement répandue, cette maladie est absente de certains pays, tels que le Japon, le Canada, l'Australie et les États-Unis, ce qui entraîne des défis diagnostiques et des restrictions sur les déplacements des équidés.

L'infection par les parasites responsables, *Theileria equi* et *Babesia caballi*, qui se multiplient dans les hématies, provoque chez les équidés une hyperthermie importante, souvent accompagnée d'une anémie sévère et d'une fatigue généralisée. Le diagnostic clinique est difficile à établir en raison de la diversité et du caractère non spécifique des symptômes (3). La piroplasmose équine représente ainsi un enjeu diagnostique, sanitaire et économique majeur.

À l'heure actuelle, l'identification moléculaire des agents pathogènes responsables de la piroplasmose équine repose essentiellement sur l'analyse du gène codant pour l'ARNr 18S, permettant de mettre en évidence une grande diversité au sein de chaque espèce, avec plusieurs groupes de variants génétiques (génotypes) présents (cinq pour *T. equi* nommés de A à E, et trois pour *B. caballi*). En France métropolitaine, les chevaux sont infectés majoritairement par le génotype E (98 %) de *T. equi*, avec une présence minoritaire du génotype A (2 %) (1). Par ailleurs, la description de l'espèce *Theileria haneyi* par Knowles en 2018 (2) est actuellement source de confusion, car elle semble correspondre au génotype C de *T. equi*.

Afin de mieux comprendre la diversité génétique de ces parasites, des gènes à la fois conservés (impliqués dans les fonctions cellulaires de base) et variables (soumis à des pressions de sélection telles que les traitements antiparasitaires ou le système immunitaire) ont été sélectionnés. Ces gènes sont répartis sur les trois génomes existants chez ces parasites, celui du noyau, de l'apicoplaste et de la mitochondrie, chacun ayant des modes d'évolution distincts (figure 1).

Figure 1 : Gènes ciblés (et leurs génomes d'appartenance) chez *T. equi* (BioRender)



Cette étude avait donc comme objectif pour l'espèce *T. equi* de :

- mieux comprendre la diversité génétique de ce parasite,
- classer les variants génétiques présents en France métropolitaine (et en outre-mer),
- évaluer avec ces données la fiabilité des tests diagnostiques moléculaires et sérologiques disponibles sur le marché.

## 2. Méthode

L'étude a été réalisée à partir d'échantillons de sang de chevaux asymptomatiques (isolats) collectés dans le cadre du projet PiroGoTick (les étapes de l'analyse sont présentées dans la figure 2). L'échantillonnage a été fait de manière à être représentatif de la répartition géographique et de la diversité des génotypes de *T. equi* retrouvés en France métropolitaine (six échantillons génotype A, un échantillon génotype C et 21 échantillons génotype E).

Figure 2 : Schéma du processus d'analyse de la diversité génétique de *T. equi*



Le défi résidait dans le fait que peu de données sont disponibles sur ces gènes nécessitant un travail important de bibliographie et de bio-informatique afin de définir des amorces capables d'amplifier l'ensemble des gènes sélectionnés

## 3. Résultats

Cinq gènes ont pu être amplifiés pour l'ensemble des isolats sélectionnés. L'analyse de la diversité a ensuite été réalisée gène par gène et par assemblage bio-informatique des séquences des cinq gènes pour chaque isolat (longueur totale ~ 3 500 pb).

### 3.1. Résultats clés de cette étude

- Absence de diversité entre les membres d'un même génotype : plus de 99,9 % d'homologie entre isolats quel que soit le gène ;
- Mise à disposition d'une gamme de marqueurs moléculaires bien plus discriminants que l'ARNr 18S pour différencier les génotypes ;
- Confirmation de l'existence de trois des cinq génotypes avec des marqueurs plus variables que l'ARNr 18S ;
- Subdivision du génotype A en deux sous-génotypes (A1 et A2).

### 3.2. Cas particulier du gène *ema-1*

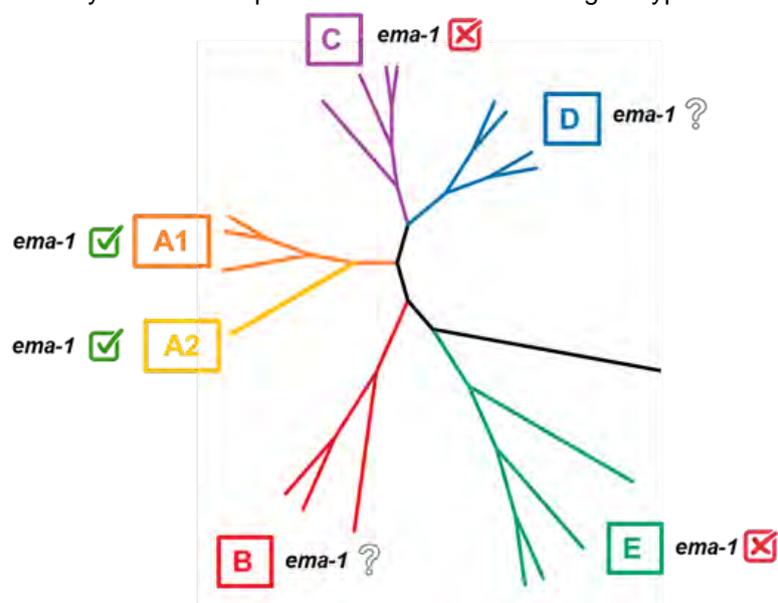
- Amplification obtenue uniquement pour les sous génotypes A1 et A2
- Absence confirmée chez le génotype C qui semble donc bien correspondre à l'espèce *T. haneyi* dont le génome a été séquencé (2)
- Absence démontrée dans cette étude chez le génotype E

#### 4. Conclusions et applications pratiques

L'analyse de la diversité génétique de *T. equi* a montré que notre sélection de marqueurs de diversité est pertinente et qu'elle permet d'enrichir nos connaissances. Nous avons ainsi mis en évidence une homogénéité génétique au sein des génotypes, ce qui appuie l'hypothèse de l'existence d'espèces différentes. Deux sous-génotypes (A1 et A2) ont été mis en évidence au sein du génotype A (figure 3). La prochaine étape consiste à étudier les génotypes B et D, pour lesquels nous disposons d'encore moins de données.

Du point de vue diagnostique, le fait marquant concerne le gène *ema-1*, qui n'a été mis en évidence que chez le génotype A (A1 et A2). Son absence, démontrée chez *T. haneyi* (2), semble s'étendre non seulement à l'ensemble du génotype C, mais aussi à l'ensemble du génotype E (figure 3).

Figure 3 : Synthèse de la présence d'*ema-1* dans les génotypes de *T. equi*



Dans le cas de la France métropolitaine, cela signifie que la majorité des chevaux infectés ne seront pas détectés si le gène *ema-1* est utilisé dans les tests de biologie moléculaire.

De plus, si le test sérologique ELISA de référence, basé sur la détection d'anticorps anti-EMA-1 est utilisé, les chevaux infectés risquent également de ne pas être détectés. En outre, ce test peut engendrer un résultat positif mais uniquement dû à des réactions croisées, car il existe neuf gènes *ema* différents.

#### 5. Pour en savoir plus

- (1) Jouglin, M., Bonsergent, C., de la Cotte, N., Mège, M., Bizon, C., Couroucé, A., Lallemand, É.-A., Leblond, A., Lemonnier, L.C., Leroux, A., Marano, I., Muzard, A., Quéré, É., Toussaint, M., Agoulon, A., Malandrin, L., 2025. Equine piroplasmiasis in different geographical areas in France: Prevalence heterogeneity of asymptomatic carriers and low genetic diversity of *Theileria equi* and *Babesia caballi*. *Ticks and Tick-borne Diseases* 16, 102434.
- (2) Knowles, D.P., Kappmeyer, L.S., Haney, D., Herndon, D.R., Fry, L.M., Munro, J.B., Sears, K., Ueti, M.W., Wise, L.N., Silva, M., Schneider, D.A., Grause, J., White, S.N., Tretina, K., Bishop, R.P., Odongo, D.O., Pelzel-McCluskey, A.M., Scoles, G.A., Mealey, R.H., Silva, J.C., 2018. Discovery of a novel species, *Theileria haneyi* n. sp., infective to equids, highlights exceptional genomic diversity within the genus *Theileria*: implications for apicomplexan parasite surveillance. *International Journal for Parasitology* 48, 679–690.
- (3) Tirosh-Levy, S., Gottlieb, Y., Fry, L.M., Knowles, D.P., Steinman, A., 2020. Twenty years of equine piroplasmiasis research: global distribution, molecular diagnosis, and phylogeny. *Pathogens* 9, 926.