

# Etude épidémiologique descriptive de la Babésiose canine dans la Région Lémanique

M. J. Porchet, H. Sager, L. Muggli, A. Oppliger, N. Müller, C. Frey, B. Gottstein

Institut de Parasitologie de l'Université de Berne

## Résumé

Nous avons conduit une étude dont le but était de répertorier tous les cas de babésiose canine survenus dans la région lémanique du 1<sup>er</sup> mars 2005 au 31 août 2006 et de déterminer à quelle espèce de *Babesia* l'agent pathogène appartenait, quels étaient les symptômes les plus fréquemment associés à cette maladie et s'il s'agissait de cas autochtones ou non. De plus, nous avons étudié la population des tiques se trouvant au bord du lac Léman et déterminé à quelles espèces elles appartenaient, leur pourcentage respectif et si elles étaient porteuses ou non de la babésiose. 56 cabinets vétérinaires ont accepté de participer à cette étude. La présence de *Babesia canis canis* a été confirmée par l'examen microscopique des frottis sanguins et le typage PCR dans 12 prélèvements parmi les 21 envoyés. Un treizième cas a pu être mis en évidence grâce au seul génotypage. Tous les animaux atteints de babésiose canine autochtone provenaient de l'ouest de la région lémanique. Les chiens atteints de babésiose souffraient principalement d'inappétence, apathie, anémie, fièvre, hémoglobinurie et de thrombopénie. Nous n'avons pas pu mettre en évidence de véritables facteurs de risque liés à l'âge, au sexe ou à la race du chien. Les cas sont survenus principalement au printemps 2005 et 2006 (11 cas) et deux à l'automne 2005, ce qui correspond aux pics d'activité des vecteurs de *Babesia canis canis*, à savoir les *Dermacentor reticulatus*. Parmi les 495 tiques envoyées, on dénombre 473 *Ixodes* sp., 7 *Rhipicephalus sanguineus* et 15 *Dermacentor reticulatus*. On retrouve les *Ixodes* sp. tout le long de l'arc lémanique alors que la présence de *D. reticulatus* et *R. sanguineus* a pu être confirmée jusqu'à Lausanne et ses environs mais pas dans la partie orientale de la région lémanique. En utilisant le typage par PCR suivi d'un séquençage d'ADN, nous avons pu prouver la présence de *B. canis canis* dans trois *D. reticulatus* (provenant de deux différents chiens atteints de babésiose) sur les quinze récoltés. Par contre, aucun *R. sanguineus* ne contenait de babésies. Pour conclure, si l'on tient compte du réchauffement climatique actuel, des modifications écologiques liées à l'habitat, de l'augmentation du nombre d'hôtes et

## A descriptive epidemiological study on canine babesiosis in the Lake Geneva region

A descriptive study was carried out in the district of the Lake Geneva between March 1, 2005 and August 31, 2006 to assess the incidence and prevalence of canine babesiosis, to genotype the *Babesia* species occurring, to assess the most frequently clinical signs found and to address the potential of autochthonous transmission. This included a data assessment on the different tick-populations occurring in the area and on the prevalence of *Babesia*-DNA in these ticks. A total of 56 veterinary practices participated in the study. By blood smear and PCR, *Babesia canis canis* was found in 12 out of 21 cases with suspected babesiosis. In an additional 13th case, the parasite could only be detected by PCR. All autochthonous cases originated from the Western part of the Lake Geneva region. Clinical signs in affected dogs included inappetence, apathy, anemia, fever, hemoglobinuria and thrombocytopenia. There were no risk factors with regard to age, sex and breed. Most cases were diagnosed during the spring periods of 2005 and 2006 (11 cases) and two cases in autumn 2005, coinciding with the main activity period of *Dermacentor reticulatus*, the main vector of *B. canis canis*. A total of 495 ticks were collected on patients by the veterinarians, 473 were identified as *Ixodes* sp., 7 as *Rhipicephalus sanguineus* and 15 as *Dermacentor reticulatus*. While *Ixodes* sp. was found in the whole study area, *D. reticulatus* and *R. sanguineus* occurred only in the Western part till Lausanne. PCR and sequencing yielded *B. canis canis* positivity in 3 *D. reticulatus* specimen, these three ticks were collected from two different dogs both suffering from babesiosis. All *R. sanguineus* were negative by *Babesia*-PCR. Global warming, ecological changes in the potential habitat of ticks, increasing host- and vector-populations and increasing mobility of dog owners may be responsible for an emergence situation of infection risk for *Babesia* spp. by time. E.g., *Dermacentor reticulatus* has become autochthonously prevalent already till Lausanne in the Lake Geneva region, and further surveillance is suggested to tackle this problem.

de vecteurs potentiels ainsi que des nouvelles habitudes des propriétaires d'animaux (voyages, activités sportives, etc.), le risque d'extension des zones de répartition de la babésiose canine plus à l'est dans la région lémanique peut être considéré comme non négligeable puisque l'on retrouve déjà des *Dermacentor reticulatus* jusqu'à Lausanne et environs. Nous proposons une surveillance plus approfondie pour mieux pouvoir aborder ce problème.

Mots clés: *Babesia canis*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, chien, PCR

Keywords: *Babesia canis*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, dog, PCR

## Introduction

La babésiose canine est une maladie parasitaire due à la multiplication et l'action pathogène de protozoaires intra-érythrocytaires du genre *Babesia*, transmis naturellement par piqûre d'acariens Ixodidés, les tiques dures. Elle se caractérise cliniquement par l'association d'un syndrome pyrétique et hémolytique, et est appelée couramment piroplasmose du fait de la forme en poire du parasite responsable. La babésiose évolue classiquement sous une forme aiguë, mais il existe également une forme chronique et des formes atypiques. Il faut considérer la babésiose comme une urgence médicale dans la mesure où les complications peuvent être de pronostic très sombre si un traitement adapté n'intervient pas rapidement.

Le diagnostic de la babésiose canine se base sur l'anamnèse (séjour du chien dans une région endémique), la symptomatologie et l'étude des résultats sanguins/urinaires (anémie, azotémie, hémoglobine- & bilirubinurie, thrombopénie, augmentation des enzymes hépatiques, hyperglobuline- & bilirubinémie, souvent test de Coombs positif). On procède ensuite à l'examen microscopique de frottis sanguins colorés au Giemsa (de préférence avec du sang capillaire car il est plus riche en piroplasmes) ou par un test rapide dénommé «Malaria-QBC» provenant de la médecine humaine. La preuve directe de l'agent infectieux réussit généralement dans la phase aiguë de la maladie, c'est-à-dire dans les 14 premiers jours; passé ce délai, la recherche de piroplasmes échoue assez fréquemment. On peut mettre en évidence des anticorps spécifiques en pratiquant par exemple une immunofluorescence indirecte (IFAT, Immunofluorescence antibody test) bien que des réactions croisées se produisent entre *B. canis* et *B. gibsoni*. Ce test peut se révéler négatif dans la phase aiguë de la maladie puisque les premiers anticorps n'apparaissent que 8 à 10 jours après l'infection.

La dernière méthode est la recherche d'ADN du parasite par PCR (Caccio et al., 2002; Sager et al., 2005; Casati et al., 2006). Cette technique semble être plus

sensible et trouve son intérêt dans la détection de chiens porteurs de piroplasmes en très faible quantité. La recherche par PCR peut aussi se pratiquer sur un animal mort ou sur les tiques. De plus, à partir d'un séquençage des fragments d'ADN amplifiés, une différenciation génétique des piroplasmes est possible jusqu'au niveau de la sous-espèce (Casati et al., 2006). Les infections à *Babesia* chez le chien domestique sont causées par de «grands» piroplasmes (macrobabésies) décrits comme *Babesia canis* (trois sous-espèces: *B. canis canis*, *B. canis vogeli*, *B. canis rossi*) et par de plus petits parasites (microbabésies) subdivisés en trois espèces distinctes: *Babesia gibsoni* (génotype asiatique; Yamane et al., 1993; Casapulla et al., 1998; Jefferies et al., 2003; Matsuu et al., 2004; le génotype nord-américain (USA/Californie) récemment nommé *Babesia conradae* (Zahler et al., 2000a; Kjemtrup and Conrad, 2006) et enfin le génotype européen, ressemblant à *B. microti*, classé maintenant sous la dénomination de *Theileria annae* (Zahler et al., 2000b; Camacho et al., 2003).

*B. canis rossi*, décrit en Afrique du Sud, est transmis par la tique *Haemaphysalis leachi* et est considéré comme un piroplasma extrêmement virulent qui peut être résistant aux médicaments disponibles (Zahler et al., 1998). *B. canis vogeli* se retrouve en Amérique du Nord, Afrique du Nord, Europe, Australie et en Asie où il est transmis par les *Rhipicephalus sanguineus*. Il s'agit de la sous-espèce la moins pathogène puisqu'elle ne provoque que des signes cliniques légers à modérés chez le chien (fièvre, apathie, inappétence, anémie, thrombopénie, hémogloburie, etc.). La dernière grande babésiose est *B. canis canis*. Il est décrit en Europe et est transmis par les *Dermacentor reticulatus*. Ce piroplasma provoque une anémie hémolytique de sévérité variable ainsi que des troubles de la coagulation. Les trois autres espèces rencontrées chez le chien sont de «petites» babésioses. *Babesia gibsoni* est endémique dans certaines régions de l'Est et du Sud de l'Asie, au Nord de l'Afrique, en Amérique du Nord, en Austra-

lie et en Europe. Ce piroplasma peut être transmis par les *Haemaphysalis longicornis*, les *Haemaphysalis bispinosa* et par les *Rhipicephalus sanguineus*. *Babesia conradae* n'existe pour l'instant qu'en Californie et a probablement *Rhipicephalus sanguineus* comme vecteur. Il est plus pathogène que *B. gibsoni*. La troisième microbabésiose est *Theileria annae* et a été identifiée récemment au Nord-Ouest de l'Espagne. Il est transmis par les *Ixodes hexagonus*.

En Suisse, nous sommes principalement confrontés aux espèces de tiques suivantes: *Ixodes sp.* (le plus fréquemment : *I. ricinus*, pas de transmission de babésiose canine), *Dermacentor reticulatus* (vecteur de *B. canis canis*) et *Rhipicephalus sanguineus* (transmission de *B. canis vogeli*) [Pfister et al., 1993; Bernasconi et al., 1997; Sager et al., 2005; Casati et al., 2006]. Le premier cas autochtone de babésiose canine en Suisse a été localisé à Genève en 1974 par Jacquier (1974). Une étude menée par Pfister et al. (1993) dans l'Ouest de la Suisse entre 1990 et 1992 a montré une recrudescence des infections à *Babesia canis* en comparaison de la période 1980–1984. Parmi ces cas, nombreux étaient les chiens à n'avoir jamais séjourné à l'étranger. Ils ont prouvé également pour la première fois la présence en Suisse de la tique vectrice *Dermacentor reticulatus* à l'état libre.

Certains cas de babésiose canine indigène ainsi que l'établissement de *Rhipicephalus sanguineus* (vecteur de *B. canis vogeli*) ont de même été constatés dans le canton du Tessin ces dernières années (Deplazes et al., 1995; Bernasconi et al., 1997). La Suisse allemande, qui avait été jusque-là épargnée par la piroplasmose canine autochtone, a recensé cinq cas d'infection à *Babesia canis* dans le canton de Soleure entre novembre 2003 et juin 2004 (Sager et al., 2005). Ces derniers temps, certains vétérinaires praticiens ont également rapporté des cas de babésiose canine à Aarau, dans la région du lac de Constance et la vallée du Rhin sans anamnèse de séjour dans une région endémique.

Nous avons donc décidé de mener une étude dans la région lémanique puisque nous n'avions pas de données récentes et chiffrées de la situation épidémiologique dans cette zone. En parallèle, nous avons étudié la population des tiques trouvées sur les chiens habitant cette même région. Elles ont été récoltées, classifiées puis examinées plus en détails (typage par PCR piroplasmique) en ce qui concerne les deux genres *Dermacentor* et *Rhipicephalus*. Les *Ixodes* n'ont pas été analysées plus profondément car elles ne sont pas porteuses de la babésiose canine en Suisse.

## Matériel et méthode

### Site d'étude et collaboration avec les vétérinaires praticiens

La zone d'étude s'étendait de Genève (canton) à Aigle. Etaient ainsi concernés tous les cabinets vétérinaires ayant comme principale clientèle les animaux de compagnie et se trouvant à moins de dix kilomètres à vol d'oiseau du bord du lac Léman. Nous avons contacté par téléphone dans le courant du mois de février 2005 les 64 cabinets vétérinaires potentiellement concernés par cette étude. Après une présentation des tenants et des aboutissants de ce doctorat, 56 cabinets ont accepté d'y participer. Afin de garder intacte la motivation des vétérinaires, nous les avons informés de l'évolution de la récolte des échantillons par un courriel ou un fax tous les trois mois. En février 2006, nous leur avons une nouvelle fois téléphoné afin de confirmer leur participation; deux d'entre eux ont alors décidé de cesser cette collaboration.

### Récolte des échantillons sanguins

Il a été demandé à chaque vétérinaire participant à cette étude d'envoyer à l'Institut de Parasitologie de Berne 1 ml de sang veineux dans un tube EDTA et si possible un (ou plusieurs) frottis sanguin(s) fait(s) à partir de sang capillaire (ongle, oreille) dès qu'ils suspectaient un cas de babésiose canine. Ils devaient remplir de même un questionnaire afin de préciser les symptômes observés (inappétence, apathie, fièvre, perte de poids, anémie, lymphadéno-/hépto-/splénomégalie, ictère, diarrhée, hémoglobinurie, urémie, vomissements, thrombopénie, problèmes oculaires ou autre) et décrire le plus minutieusement possible le patient (nom, race, âge, sexe, date du prélèvement, lieu d'habitation, vaccination contre la piroplasmose, prophylaxie contre les tiques et séjour à l'étranger).

A partir du mois de janvier 2006, nous avons dû adapter notre questionnaire puisqu'un nouveau vaccin (Nobivac® Piro) a fait son entrée sur le marché suisse. Dès lors, les vétérinaires devaient préciser quel vaccin ils avaient utilisé le cas échéant. Les vétérinaires devaient également joindre à leur envoi les éventuelles tiques retrouvées sur le chien malade.

### Récolte des tiques

Dès qu'un vétérinaire de la région lémanique trouvait une ou plusieurs tiques sur n'importe quel chien (même ceux ne présentant aucun symptôme de piroplasmose), il devait la/les mettre dans un tube rempli de 4 ml d'une solution d'éthanol à 70% (un seul tube par chien), remplir le questionnaire évoqué au paragraphe précédent et envoyer le tout dans les enveloppes affranchies à l'Institut de Parasitologie de Berne.

## Analyses en laboratoire

### Cyto-hématologie

Nous avons fait deux frottis à partir de chaque échantillon sanguin reçu puis nous les avons tous (y compris les étalements réalisés par les vétérinaires eux-mêmes) soumis à une recherche directe de parasites au microscope (Leica, Suisse). Les lames ont été colorées avec la solution de Giemsa (Merck, Suisse) après leur fixation dans du méthanol 100% pendant cinq minutes. De l'huile à immersion et un grossissement de 1000× ont été nécessaires à la réalisation de l'examen microscopique des frottis sanguins.

### Identification des tiques

Les tiques envoyées par les vétérinaires ont toutes été regardées à la loupe binoculaire afin d'être caractérisées morphologiquement et classifiées grâce à diverses clés d'identification (Anonyme, 1961 ; Estrada-Peña, 2004)

<http://webpages.lincoln.ac.uk/fruedisueli/FR-webpages/parasitology/ticks/TIK/tick-key/index.htm>.

### Typage PCR

Une recherche d'ADN de *Babesia* par PCR a été réalisée sur tous les échantillons sanguins reçus et sur les tiques appartenant aux deux espèces *Dermacentor reticulatus* et *Rhipicephalus sanguineus*. La technologie utilisée pour l'identification et le génotypage des babésies était à la base des «primers» développés par Casati et al. (2006) et correspondait à la technique employée

par Sager et al. (2005). Pour le séquençage, une technologie combinée de «PCR-sequencing approach» a été employée, les séquences d'ADN ont été déterminées par la compagnie Microsynth.

## Résultats

### Echantillons sanguins

Parmi les 21 prélèvements de sang (suspicion de piroplasmose par le vétérinaire traitant) envoyés à l'Institut de Parasitologie (18 en 2005 et 3 en 2006), nous avons pu confirmer la présence de *Babesia canis* dans 12 échantillons (9 en 2005 et 3 en 2006) par l'examen microscopique des frottis sanguins avec une valeur médiane pour la parasitémie de 0.11%.

Le typage PCR de tous les échantillons sanguins (sang EDTA et/ou frottis) a certifié l'existence de *B. canis* dans les 12 prélèvements sanguins cités ci-dessus. Cependant, grâce à cette méthode, il nous a été possible de mettre en évidence un treizième cas (échant. n°176) alors que le parasite n'avait pas été vu lors de la microscopie (Tab. 1). Un dernier cas de babésiose canine a été confirmé par un vétérinaire genevois fin mars 2005 mais nous n'avons pas reçu d'échantillon sanguin pour ce chien, seulement une tique et un questionnaire dûment rempli. Sept parmi les 21 prélèvements de sang étaient négatifs par l'examen microscopique des frottis sanguins, par PCR et par sérologie.

Tableau 1 : Analyses en laboratoire des échantillons sanguins (chiens avec suspicion de babésiose) reçus entre mars 2005 et août 2006.

N° échantillon	Date prélèvement	Frottis sanguin (parasitémie [%])	Typage PCR, séquençage
3	30.03.2005	Négatif	Négatif
4	02.04.2005	<i>Babesia canis</i> (0.11)	<i>B. canis canis</i>
16	05.04.2005	Négatif	Négatif
18	07.04.2005	Négatif	Négatif
21	11.04.2005	<i>Babesia canis</i> (4.5)	<i>B. canis canis</i>
24	18.04.2005	<i>Babesia canis</i> (0.16)	<i>B. canis canis</i>
25	18.04.2005	<i>Babesia canis</i> (0.08)	<i>B. canis canis</i>
26	19.04.2005	<i>Babesia canis</i> (0.16)	<i>B. canis canis</i>
33	22.04.2005	<i>Babesia canis</i> (0.24)	<i>B. canis canis</i>
49	29.04.2005	<i>Babesia canis</i> (0.12)	<i>B. canis canis</i> *
56	12.05.2005	Négatif	Négatif *
69	15.05.2005	Négatif	Négatif
71	17.05.2005	Négatif	Négatif
72	18.05.2005	Négatif	Négatif *
74	20.05.2005	Négatif	Négatif *
75	24.05.2005	<i>Babesia canis</i> (0.03)	<i>B. canis canis</i> *
176	10.10.2005	Négatif	<i>B. canis canis</i>
187	21.11.2005	<i>Babesia canis</i> (0.07)	<i>B. canis canis</i>
205	01.05.2006	<i>Babesia canis</i> (0.03)	<i>B. canis canis</i>
214	17.05.2006	<i>Babesia canis</i> (0.05)	<i>B. canis canis</i>
217	01.05.2006	<i>Babesia canis</i> (0.15)	<i>B. canis canis</i>

\* ces échantillons n'ont pu être testés qu'à partir de frottis sanguins ; alors que les autres l'ont été à partir de sang et de frottis en parallèle

## Etude descriptive des 14 cas de babésiose canine

### Période de survenue des cas

On recense 9 cas au printemps 2005, 1 au mois d'octobre 2005, 1 en novembre 2005 et 3 au printemps 2006.

### Distribution géographique

11 des 14 chiens proviennent du canton de Genève, un habite en France voisine (à 3 km de Genève), un autre vient de Tannay (village vaudois situé entre Genève et Nyon) et le dernier de Cheseaux (région lausannoise) [Fig. 1].

### Symptômes

Les signes cliniques les plus fréquemment observés parmi les 14 cas de piroplasmose recensés sont l'inappétence (92.9%), l'apathie (78.6%), l'anémie (71.4%), l'hémoglobinurie (57.1%) et la fièvre (57.1%). Vient ensuite la thrombopénie (50%), puis la perte de poids (14.3%), l'hépto- et la splénomégalie (14.3%), la diarrhée (14.3%), les vomissements (14.3%) et finalement l'urémie (7.1%) et les problèmes oculaires (7.1%).

### Age et sexe des animaux atteints

Nous avons comparé la moyenne d'âge des animaux atteints de babésiose canine (6.8 ans) avec celle (5.8 ans) des autres chiens (chiens avec symptômes mais pas atteints de piroplasmose et les chiens sains sur lesquels des tiques ont été prélevées). Comme nous pouvons le constater, la différence d'âge entre la moyenne des deux groupes n'est que d'un an. Parmi les chiens atteints de babésiose, le plus jeune est âgé de 4 mois et le plus vieux de 12 ans; autrement dit, tous les âges sont concernés par la maladie. Nous avons ensuite comparé le nombre de mâles et de femelles parmi les chiens atteints de babésiose canine (♂: 6; ♀: 6; inconnu: 2) avec celui chez des autres chiens (♂: 113; ♀: 99; inconnu: 8). On peut constater ainsi que le sexe ne semble pas jouer de rôle puisqu'il y a autant de mâles que de femelles malades (moyenne de 43%).

### Réalisation de la prophylaxie

Vaccination. 42 chiens sur 234 ont été vaccinés contre la piroplasmose, ce qui représente un taux de 17.9%. La vaccination a été faite majoritairement en 2005 ou en 2006, mais dans 11 cas, elle date de 2004 ou antérieurement. Parmi tous les chiens souffrant de la babésiose, aucun n'a été vacciné. Le nouveau vaccin mis sur le marché en 2006 (Nobivac® Piro) a été utilisé par un seul vétérinaire sur 4 chiens.

### Prévention par des acaricides

50% des propriétaires protègent leur chien avec des acaricides (117 sur 234) en répétant l'application un peu moins d'une fois par mois (moyenne de

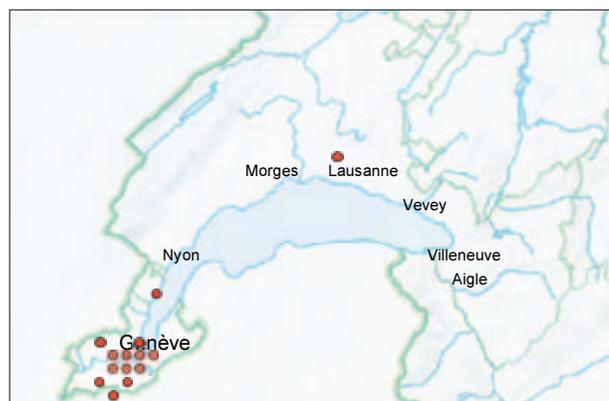


Figure 1: Répartition géographique des cas de babésiose canine observés de mars 2005 à août 2006 dans la région lémanique.

0.94x/mois). 60.2% des propriétaires utilisent le Frontline® (fipronil) comme prophylaxie, vient ensuite l'Advantix® (perméthrine + imidacloprid; 20.4%) puis l'Exspot® (perméthrine; 12.4%) et finalement l'utilisation de divers colliers (7.1%). Une prophylaxie régulière (1x/mois env.) a été utilisée chez 5 chiens parmi les 14 atteints de babésiose; ce qui représente ici que 35.7% des propriétaires. Dans 4 cas, du Frontline® a été utilisé et dans le dernier, de l'Exspot®.

### Tiques et hôtes

Toutes les tiques reçues ont été collectionnées dans 32 cabinets distribués et repartis dans toute la zone d'étude tout le long du lac Léman. Ainsi, toutes les villes et régions sont représentées. Toutes les tiques reçues étaient adultes. Nous avons obtenu 473 *Ixodes sp.* (291 en 2005 et 182 en 2006), parmi eux 15 mâles. De plus, nous avons reçu 7 *Rhipicephalus sanguineus* (4 en 2005 et 3 en 2006; 1 mâle) et finalement 15 *Dermacentor reticulatus* (9 en 2005 et 6 en 2006; 3 mâles). Les *Ixodes* représentent donc 95.6% des tiques envoyées, *Rhipicephalus* 1.4% et *Dermacentor* 3%.

Les différentes espèces animales ayant servi d'hôtes aux tiques récoltées par les vétérinaires dans la région lémanique sont les suivantes:

- 224 chiens (406 tiques au total) : 387 *Ixodes sp.*, 7 *Rhipicephalus sanguineus*, 12 *Dermacentor reticulatus*
- 21 chats (58 tiques): 57 *Ixodes sp.*, 1 *Dermacentor reticulatus*
- 2 hérissons (19 tiques) : 19 *Ixodes sp.*
- 1 chevreuil (7 tiques) : 7 *Ixodes sp.*
- 1 cheval (1 tique) : 1 *Dermacentor reticulatus*
- 3 hôtes inconnus (4 tiques) : 3 *Ixodes sp.*, 1 *Dermacentor reticulatus*

### Répartition géographique et mensuelle des tiques

Des *Ixodes sp.* ont été récoltés dans toute la région lémanique sans exception. On remarque cependant une

concentration plus élevée à Lausanne ; ceci s'explique par une collaboration très régulière et minutieuse d'un des cabinets vétérinaires lausannois (Fig. 2). On trouve les *Rhipicephalus sanguineus* à l'Ouest ou au Nord de Lausanne mais pas de tiques plus à l'Est. Quant à la distribution des *Dermacentor reticulatus*, elle se concentre principalement à Genève (10 individus) mais on trouve également une tique à Founex (entre Genève et Nyon), une à Morges, deux autres à Lausanne et finalement une dernière à Lucens (26 km à vol d'oiseau au nord-est de Lausanne). Pour cette espèce aussi, nous n'avons pas récolté de tiques dans la partie orientale du lac Léman.

Chez les trois espèces de tiques, nous avons observé un premier pic d'activité au printemps (récolte d'un *D. reticulatus* déjà au mois de février 2006), une baisse pendant l'été et un second pic, de moindre intensité, à l'automne (jusqu'au mois de novembre 2005 pour *Dermacentor reticulatus*).

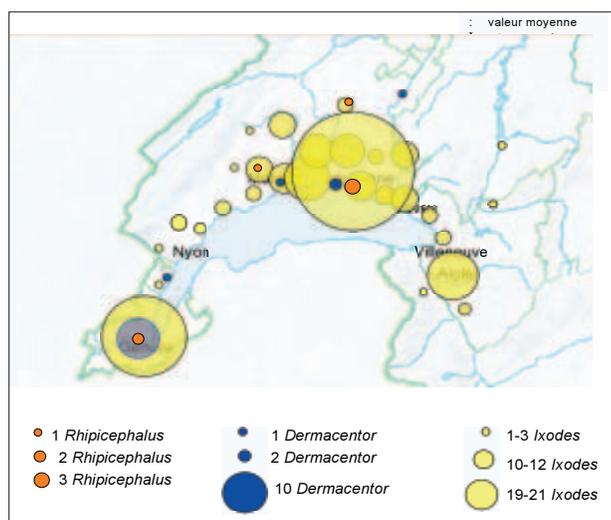


Figure 2 : Distribution géographique des différentes espèces de tiques récoltées dans la région lémanique du 1er mars 2005 au 31 août 2006.

### Typage piroplasmique par PCR et séquençage

Le typage par PCR piroplasmique de toutes les tiques des deux espèces *Dermacentor reticulatus* et *Rhipicephalus sanguineus* a certifié, après séquençage, la présence de *B. canis canis* dans 3 *D. reticulatus*, qui ont été trouvés sur deux chiens atteints de babésiose, prouvée par frottis sanguin. Par contre, aucun *R. sanguineus* n'était porteur de babésies.

### Discussion

Sur les 64 cabinets vétérinaires correspondant aux critères de sélection de cette étude, 56 ont accepté d'y participer (deux retraits en 2006), ce qui correspond à un taux de participation de 87,5%. Finalement, nous avons

reçu des échantillons de la part de 32 cabinets (le taux de participation équivaut alors à 50%). En outre, il faut noter que les résultats du questionnaire concernant les symptômes observés lors d'une piroplasmose se fient à l'appréciation du vétérinaire traitant, or ce paramètre est sujet à certaines variations (par exemple 39,1° peut être considéré comme de la fièvre par un vétérinaire et non par un autre ; ou en ce qui concerne l'anémie et la thrombopénie, tous les praticiens n'ont pas systématiquement fait une analyse sanguine, etc.).

Les informations obtenues nous ont cependant permis de dresser une vue générale de la situation épidémiologique de la babésiose canine dans la région lémanique puisque nous avons reçu l'aide de vétérinaires tout le long de cette zone (de Genève à Aigle) même si certains lieux étaient moins bien représentés que d'autres (par exemple nous n'avons pas reçu d'échantillon de Nyon alors que des vétérinaires praticiens nous ont confirmé la présence de cas de piroplasmose canine autochtone dans cette région).

En ce qui concerne le diagnostic de la babésiose canine, le typage PCR a prouvé ici toute son importance car grâce à lui nous avons pu confirmer la présence de *B. canis canis* dans les 12 échantillons classés comme positifs lors de l'examen microscopique et, surtout, dans un treizième cas (échant. n°176) qui avait été faussement jugé négatif lors de la microscopie. Le génotypage est donc une technique plus sensible et trouve tout son intérêt dans la détection de chiens porteurs de piroplasmose en très faible quantité. En utilisant la même technique d'analyse avec les tiques, nous avons prouvé que 3 *D. reticulatus* sur les 15 récoltés étaient porteurs de l'agent infectieux *B. canis canis*. En d'autres termes, cela signifie que 20% de ces *D. reticulatus* auraient pu transmettre la piroplasmose à un chien.

Si l'on compare la variation mensuelle du nombre de *Dermacentor reticulatus* avec la répartition des cas de babésiose, on constate qu'elles sont parallèles. En effet, l'activité de *D. reticulatus* connaît un premier pic au printemps (mars-juin), une baisse pendant l'été et un second pic de moindre intensité à l'automne (septembre-novembre) ; ce qui correspond à l'évolution des cas de babésiose canine puisqu'ils sont survenus essentiellement au printemps (9 cas entre mars et mai 2005 et 3 en mai 2006) et en automne (1 au mois d'octobre 2005 et un autre en novembre 2005). Cette distribution recoupe celle que l'on peut retrouver dans la littérature (rappelons que *D. reticulatus* est le vecteur exclusif de *B. canis canis*) ou celle rapportée par les vétérinaires praticiens joints au téléphone.

Concernant la distribution géographique des cas de babésiose canine, nous pouvons conclure avec certitude à une maladie autochtone dans 12 cas (pas d'anamnèse de séjour à l'étranger ; le n°217 est un cas autochtone français). Le treizième chien (échantillon n° 214) va régulièrement pendant une ou deux semaines en France à Voiron. On ne peut donc vraisemblablement

blement pas exclure une infection non indigène. Le dernier cas (n°176), qui a été confirmé par PCR et non par microscopie, habite Cheseaux. Là aussi, nous ne pouvons pas négliger la forte probabilité que le chien se soit infecté en dehors de la Suisse, puisqu'il est allé à la chasse dans la région de Lyon chaque dimanche durant les trois semaines qui ont précédé la détection de la maladie.

Si l'on compare à présent la répartition géographique des tiques vectrices de *B. canis canis*, à savoir *Dermacentor reticulatus* à ce qui précède, nous observons que sa présence est également plus marquée dans la région genevoise (10 tiques) mais nous les retrouvons aussi plus à l'est (à Founex, Morges, Lausanne et Lucens). Parmi ces 15 tiques, 11 proviennent avec certitude de Suisse, par contre les quatre dernières ont été trouvées sur des chiens (cas n°76 et 214) ayant séjourné en France peu de temps avant la récolte (respectivement en Haute Savoie et à Voiron). Ainsi nous pouvons constater que le vecteur potentiel de la babésiose canine à *B. canis canis* se retrouve bien au-delà de sa zone endémique. Les 3 tiques porteuses de *B. canis canis* ont toutes été trouvées sur des chiens résidant à Genève, même si dans un cas (n°214) une anamnèse de séjours fréquents à Voiron laisse planer un doute sur l'origine autochtone de ces tiques.

Les symptômes les plus fréquents dans notre étude ont été l'inappétence, l'apathie et l'anémie puis viennent la fièvre, l'hémoglobinurie et la thrombopénie. Les autres manifestations cliniques (diarrhée, vomissements, perte de poids, hépato-/splénomégalie, urémie et problèmes oculaires) n'ont été observées que de manière sporadique. Ce sont également ces six premiers symptômes que l'on retrouve généralement cités dans la littérature. Il faut noter à nouveau que les résultats obtenus se fient uniquement à l'appréciation du vétérinaire traitant et aux éventuelles analyses sanguines (qui n'ont pas été faites systématiquement). Il ne s'agit donc en aucun cas de valeurs rigoureusement exactes et précises mais elles nous offrent tout de même une très bonne vue générale de la symptomatologie de la babésiose canine.

En comparant l'âge, le sexe et la race des animaux atteints de piroplasmose avec ceux des autres chiens (chiens avec symptômes mais pas infectés par *B. canis canis* et les individus sains sur lesquels des tiques ont seulement été prélevées), nous constatons qu'il y a assez peu de différences. Il semblerait donc que ces trois facteurs (âge, sexe et race) influencent peu le risque qu'a un chien d'être infecté par la babésiose. Rappelons toutefois que cette observation ne se base que sur un petit échantillonnage de cas (14 en tout) et qu'il serait hasardeux d'en tirer une conclusion définitive.

Moins de 20% des propriétaires ont eu recours une fois ou l'autre à la vaccination contre la piroplasmose, et seulement 13.2% l'ont fait au cours de l'année 2005 ou 2006. Parmi tous les chiens atteints de babésiose, aucun

n'avait été vacciné. Par contre, un plus grand nombre de chiens a été traité aux acaricides (50% des sondés) en répétant l'application un peu moins d'une fois par mois. De manière générale, les propriétaires ont utilisé des spot-on ou des sprays (Frontline®, Advantix® et Exspot®) et dans 7.1% des cas, divers colliers. Le pourcentage d'animaux ayant reçu comme prophylaxie des acaricides est toutefois moins grand (35.7%) parmi les chiens diagnostiqués positifs à *B. canis canis*. Cela signifie donc que deux chiens sur trois atteints de babésiose canine n'ont eu aucune prophylaxie. Une analyse statistique n'a pas pu être envisagée vu le faible nombre d'animaux par groupes mentionnés ci-dessus.

En Suisse, nous supposons la présence de deux sortes de babésiose canine: la première serait due à *Babesia canis vogeli*. On devrait la rencontrer dans le Tessin, vu à la forte présence de *Rhipicephalus sanguineus* dans ce canton (Bernasconi et al., 1997), qui agit comme vecteur principale pour cette sous-espèce de *Babesia*. Elle est peu pathogène et sa transmission se fait par la tique. La seconde est celle qu'on rencontre dans la région de Genève: le parasite incriminé est *Babesia canis canis*, ayant comme vecteur *Dermacentor reticulatus* et provoquant une maladie de pronostic sévère mais dont le traitement précoce est efficace. Depuis quelques années, on rencontre également sporadiquement des cas en Suisse alémanique (dans le canton de Soleure par exemple). Les données obtenues au cours de cette étude confirment la présence de la babésiose canine autochtone dans la région genevoise. D'après les divers contacts téléphoniques que nous avons eu avec les vétérinaires praticiens, cette maladie s'étendrait maintenant toutefois jusqu'à Morges.

*Dermacentor reticulatus* conditionne la répartition saisonnière et géographique de la maladie. On la retrouve donc au printemps et à l'automne dans l'Ouest lémanique. On constate cependant déjà la présence de quelques spécimens de l'espèce *D. reticulatus* au-delà de Lausanne. Chez les *Dermacentor reticulatus*, on peut avoir une génération par an lorsque le climat est favorable et que les hôtes sont nombreux. En revanche, lorsque les conditions ne sont pas réunies, un cycle complet peut nécessiter trois ans. Si l'on associe ce fait à la transmission verticale des agents pathogènes, démontrée sur trois à quatre générations de tiques pour *Babesia canis*, une «zone à tiques» peut devenir une «aire à babésiose» durant au moins douze ans, sans qu'un chien infecté n'ait besoin d'y venir. Les tiques entretiennent la piroplasmose toutes seules et la présence des carnivores n'est pas nécessaire pour survivre puisqu'elles peuvent prendre leurs repas sanguins sur les petits mammifères présents.

Les modifications climatiques (réchauffement) risquent d'être à l'origine d'une augmentation du nombre de vecteurs, de l'allongement des périodes à risque, de la modification de l'aire de répartition des espèces autochtones, voire même de la dispersion d'autres espè-

ces présentes dans des zones voisines (L'Hostis and Seegers, 2002). Par conséquent, si l'on tient compte du réchauffement climatique actuel qui affecte certaines régions de l'Europe, des modifications écologiques liées à l'habitat, de l'augmentation du nombre d'hôtes et de vecteurs potentiels ainsi que des nouvelles habitudes des propriétaires d'animaux (voyages, activités sportives, etc.), le risque d'extension des zones de répartition de la babésiose canine plus à l'est dans la région lémanique peut être considéré comme non négligeable.

### Deskriptive epidemiologische Studie zum Vorkommen der Babesiose des Hundes in der Genferseeregion

Ziel der vorliegenden Studie war die Erfassung der Babesiosefälle beim Hund, die in der Zeit zwischen dem 1. März 2005 und dem 31. August 2006 im Genferseegebiet auftraten. Erfasst wurden die betreffende *Babesia*-Spezies, die beim Hund auftretenden häufigsten Symptome sowie die potenzielle Autochthonie der Übertragung. Zusätzlich erhoben wir Daten über die gegenwärtigen Zeckenpopulationen und -arten rund um den Genfersee sowie über die Befallsextenstivität der Zecken mit Babesien. Insgesamt 56 tierärztliche Praxen nahmen an der Studie teil. *Babesia canis canis* konnte mittels Blutausstrich und PCR in 12 von 21 eingesandten Fällen mit Verdacht auf Babesiose nachgewiesen werden. Bei einem dreizehnten Fall gelang der Parasitennachweis nur mittels PCR. Alle autochthonen Fälle stammten aus dem Westen der Genferseeregion. Die klinischen Zeichen waren Inappetenz, Apathie, Anämie, Fieber, Hämoglobinurie und Thrombozytopenie. Es ergaben sich keine Risikofaktoren betr. Alter, Geschlecht oder Rasse. Die meisten Fälle ereigneten sich in den Frühjahren 2005 und 2006 (11 Fälle) sowie im Herbst 2005 (2 Fälle), was mit den Hauptaktivitätsperioden von *Dermacentor reticulatus*, dem Vektor für *B. canis canis*, übereinstimmt. Von insgesamt 495 eingesandten Zecken erwiesen sich deren 473 als *Ixodes* sp., 7 als *Rhipicephalus sanguineus* und 15 als *Dermacentor reticulatus*. *Ixodes* sp. konnte dem gesamten Genferseeufer entlang gefunden werden, *D. reticulatus* und *R. sanguineus* hingegen nur vom Westen her bis Lausanne. Mittels PCR und Sequenzierung konnte *B. canis canis* in 3 von 15 untersuchten *D. reticulatus*-Exemplaren identifiziert werden. Die 3 positiven Zecken stammten von zwei verschiedenen Hunden mit bewiesener Babesiose ab. Alle *R. sanguineus* waren frei von Babesien. Aufgrund der globalen Erwärmung, ökologischer Habitatveränderungen, zunehmender Wirts- und Vektorpopulationen sowie zunehmende Mobilität von Hundebesitzern muss heute davon ausgegangen werden, dass das Ba-

### Remerciements

Nous adressons nos remerciements à Mme U. Bröniemann ainsi qu'à M. Philippe Stünzi pour l'aide apportée aux travaux de laboratoire. Nous remercions également chaleureusement tous les vétérinaires de la région lémanique qui ont si gentiment accepté de participer à la récolte des échantillons malgré l'investissement en temps que cela impliquait. Sans eux, rien n'aurait été possible.

### Studio epidemiologico descrittivo della comparsa, nella regione del lago di Ginevra, della babesiosi nei cani

Scopo di questo studio è la rilevazione di casi di babesiosi del cane insorti nella regione del lago di Ginevra nel periodo tra il 1° marzo 2005 al 31 agosto 2006. Repertoriati sono le relative specie di *Babesia*, i sintomi comparsi nel cane e l'autoctonia potenziale della trasmissione. Altri dati raccolti sono quelli sulla popolazione e sui tipi di zecche presenti nei dintorni del lago di Ginevra e sull'estensione dell'infestazione di zecche portatrici di babesiosi. In totale 56 ambulatori veterinari hanno partecipato allo studio. Si è potuta provare la presenza di *Babesia canis canis* tramite striscio di sangue e PCR in 12 casi inviati su 21 con sospetto di babesiosi. In un tredicesimo caso si è dimostrata la presenza del parassita solo tramite PCR. Tutti i casi autoctoni provenivano dalla regione occidentale del lago di Ginevra. I sintomi clinici erano inappetenza, apatia, anemia, febbre, emoglobinuria e trombocitopenia. Non sono risultati fattori di rischio l'età, il sesso o la razza. La maggioranza dei casi si sono prodotti nella primavera del 2005 e del 2006 (11 casi) e nell'autunno 2005 (2 casi) che coincidono col il periodo di massima attività del vettore della *B. canis canis* il *Dermacentor reticulatus*. Su un totale di 495 zecche inviate, sono state identificate 473 come *Ixodes* sp., 7 come *Rhipicephalus sanguineus* e 15 come *Dermacentor reticulatus*. Su tutta la costa del lago di Ginevra si sono ritrovate *Ixodes* sp., mentre *D. reticulatus* e *R. sanguineus* solo da occidente fino a Losanna. In 3 dei 15 esemplari di *D. reticulatus*, esaminati tramite PCR e sequenziazione, è stato identificato *B. canis canis*. Le 3 zecche, risultate positive, provenivano da due cani diversi con babesiosi diagnosticata. Tutte le *R. sanguineus* non erano portatrici di babesiosi. A causa del riscaldamento climatico globale, delle modifiche ecologiche di habitat, dell'incremento delle popolazioni ospitanti e di quelle dei vettori e dell'aumentata mobilità dei proprietari di cani, oggi bisogna prendere in conto che in futuro vi sarà un aumento del rischio di infezione da babesiosi e un allargamento della

*besia*-Infektionsrisiko sowie das Verbreitungsgebiet mit der Zeit zunehmen wird. Schon heute kann z.B. *Dermacentor reticulatus* bereits in Lausanne und dessen Umgebung nachgewiesen werden. Eine eingehendere Überwachung der epidemiologischen Situation in der betroffenen Gegend bietet sich an.

zona di propagazione. Già oggi si può dimostrare la presenza, ad esempio, di *Dermacentor reticulatus* già a Losanna e dintorni.

## Références

- Anonyme*: Pictorial keys to arthropods, reptiles, birds and mammals of public health significance. U.S. Department of Health, Education, and Welfare. Public Health Service. Atlanta, Georgia. 1961.
- Bernasconi M. V., Valsangiacomo C., Balmelli T., Peter O., Piffaretti J. C.*: Tick zoonoses in the southern part of Switzerland (Canton Ticino): occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Rickettsia* sp. *Eur. J. Epidemiol.* 1997, 13: 209–215.
- Caccio S. M., Antunovic B., Moretti A., Mangili V., Marinculic A., Baric R. R., Slemenda S. B., Pieniazek N. J.*: Molecular characterisation of *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* from naturally infected European dogs. *Vet. Parasitol.* 2002, 106: 285–292.
- Camacho A. T., Pallas E., Gestal J. J., Guitian F. J., Olmeda A. S., Telford S. R., Spielman A.*: *Ixodes hexagonus* is the main candidate as vector of *Theileria annae* in northwest Spain. *Vet. Parasitol.* 2003, 112: 157–163.
- Casapulla R., Baldi L., Avallone V., Sannino R., Pazzanese L., Mizzoni V.*: Canine piroplasmosis due to *Babesia gibsoni*: clinical and morphological aspects. *Vet. Rec.* 1998, 142: 168–169.
- Casati S., Sager H., Gern L., Piffaretti J.-C.*: Presence of potentially pathogenic *Babesia* sp. for human in *Ixodes ricinus* in Switzerland. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2006, 13: 65–70.
- Deplazes P., Guscetti F., Wunderlin E., Bucklar H., Skaggs J., Wolff K.*: Endoparasitenbefall bei Findel- und Verzicht-Hunden in der Südschweiz. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 1995, 137: 172–179.
- Estrada-Peña A., Bouattour A., Camicas J.-L., Walker A. R.*: Ticks of domestic animals in the Mediterranean region – a guide to identification of species. Université de Zaragoza, Espagne. 2004, 131 p.
- Jacquier C.*: Piroplasmose canine, premier cas à Genève. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 1974, 116: 307–308.
- Jefferies R., Ryan U. M., Muhlnickel C. J., Irwin P. J.*: Two species of canine *Babesia* in Australia: detection and characterization by PCR. *J. Parasitol.* 2003, 89: 409–412.
- Kjemtrup A. M., Conrad P. A.*: A review of the small canine piroplasms from California: *Babesia conradae* in the literature. *Vet. Parasitol.* 2006, 138: 112–117.
- L'Hostis M., Seegers H.*: Tick-borne parasitic diseases in cattle: current knowledge and prospective risk analysis related to the ongoing evolution in French cattle farming system. *Vet. Res.* 2002, 33: 599–611.
- Matsuu A., Kawabe A., Koshida Y., Ikadai H., Okano S., Higuchi S.*: Incidence of canine *Babesia gibsoni* infection and subclinical infection among Tosa dogs in Aomori Prefecture, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 2004, 66: 893–897.
- Pfister K., Schwallbach B., Chuit P. A., Liz J., Aeschlimann A.*: Präliminäre Untersuchung zur endemischen Ausbreitung von *Babesia canis* und der Zecke *Dermacentor reticulatus* in der Schweiz. *Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol.* 1993, 15: 1–6.
- Sager H., Casati S., Hartmeier G., Sommer B.*: Autochthone Fälle von caniner Babesiose im Kanton Solothurn. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 2005, 147: 259–265.
- Tick Identification Key*: University of Lincoln, [en ligne]. Adresse URL: <http://webpages.lincoln.ac.uk/fruedisueli/FR-webpages/parasitology/ticks/TIK/tick-key/index.htm>
- Yamane I., Conrad P. A., Gardner I.*: *Babesia gibsoni* infections in dogs. *J. Protozool. Res.* 1993, 3: 111–125.
- Zahler M., Schein E., Rinder H., Gothe R.*: Characteristic genotypes discriminate between *Babesia canis* isolates of differing vector specificity and pathogenicity to dogs. *Parasitol. Res.* 1998, 84: 544–548.
- Zahler M., Rinder H., Zweygarth E., Fukata T., Maede Y., Schein E., Gothe R.*: “*Babesia gibsoni*” of dogs from North America and Asia belong to different species. *Parasitology*. 2000a, 120: 365–369.
- Zahler M., Rinder H., Schein E., Gothe R.*: Detection of a new pathogenic *Babesia* microti-like species in dogs. *Vet. Parasitol.* 2000b, 89: 241–248.

## Adresse de correspondance

Prof. Dr. Bruno Gottstein, Institut für Parasitologie, Universität Bern, Länggassstrasse 122, CH-3001 Bern, E-mail: [bruno.gottstein@ipa.unibe.ch](mailto:bruno.gottstein@ipa.unibe.ch)

Enregistrement: 8 mars 2007

Accepté: 25 avril 2007