

# Séroépidémiologie de la babésiose bovine à *Babesia divergens* en Tunisie

A. Bouattour<sup>1\*</sup> M. Ghammam<sup>1</sup> M. Darghouth<sup>2</sup>  
S. Touil<sup>3</sup> M. Tahri<sup>4</sup> F. Ben Hamouda<sup>1</sup>

## Mots-clés

Bovin – *Babesia divergens* –  
Babésiose – *Ixodes ricinus* –  
Immunofluorescence – Tunisie.

## Résumé

La mise en évidence de *Babesia divergens* chez un bovin autochtone en Tunisie est récente. Une étude sérologique et parasitaire effectuée dans sept différentes localités à biotope favorable à *Ixodes ricinus* a permis de confirmer la présence de cette *Babesia* dans plusieurs troupeaux. Au total, 307 bovins de différents âges, répartis dans ces zones, ont été testés par immunofluorescence indirecte en utilisant comme antigène les globules rouges de la gerbille (*Meriones unguiculatus*) infectés par *B. divergens*. La prévalence globale de l'infection avec des sérums dilués à 1/80 a été de 44,6 p. 100. Cette prévalence a été variable en fonction de la localité, du troupeau et de la catégorie d'âge. L'examen des frottis confectionnés à partir de sang hépariné de ces bovins a révélé la présence de piroplasmes de petite taille chez 28,3 p. 100 des animaux. L'inoculation de 46 prélèvements aux gerbilles a permis d'isoler deux souches de *B. divergens*. Ces résultats montrent que *B. divergens*, considérée jusqu'à présent comme se cantonnant à l'Europe, est présente en Afrique du Nord sous forme de foyers et qu'une endémie stable s'est établie entre cet hémoparasite et les bovins de race locale (*Bos taurus*).

## ■ INTRODUCTION

Les babésioses bovines dues à la multiplication dans les hématies d'un protozoaire du genre *Babesia* constituent un facteur limitant au développement de l'élevage dans plusieurs pays des régions tropicales et subtropicales. Au Maghreb, deux espèces de *Babesia* ont été décrites chez les bovins au début du siècle. Il s'agit de

*B. bigemina* et *B. bovis* qui sont transmises par *Boophilus annulatus* et *Rhipicephalus bursa* (8, 26). Récemment, Bouattour et Darghouth (4) ont décrit la présence de *B. divergens* chez un taureau au nord-ouest de la Tunisie. Cette espèce de *Babesia*, transmise par la tique *Ixodes ricinus*, est largement distribuée en Europe. Elle constitue encore un obstacle à l'expansion et à l'amélioration de l'élevage bovin à cause de son caractère pathogène marqué et de sa grande prévalence notamment en Irlande (14) et en France (6). En Tunisie, aucune étude épidémiologique permettant d'évaluer la prévalence et l'impact de cette maladie chez les bovins n'a été réalisée jusqu'à présent.

Dans ce travail, les investigations épidémiologiques ont concerné l'étude de la prévalence de *B. divergens* chez les bovins dans les régions favorables au développement du vecteur *I. ricinus*. Parmi les nombreux tests sérologiques permettant la détection des anticorps anti-*Babesia* (28), pour cette enquête a été choisi le test le plus fréquemment utilisé : l'immunofluorescence indirecte (1, 10, 27).

1. Unité d'Entomologie médicale, Institut Pasteur, BP 74, 1002 Tunis, Tunisie

2. Laboratoire de parasitologie, école de médecine vétérinaire de Sidi Thabet, 2020, Tunisie

3. SA circonscription Amdoun, CRDA Béja, Tunisie

4. SA circonscription Nefza, CRDA Béja, Tunisie

\* Auteur pour la correspondance

Fax : 216 71 791 833 ; e-mail : ali.bouattour@pasteur.rns.tn

## ■ MATERIEL ET METHODES

**Sites de l'étude**

L'enquête a concerné les bovins élevés dans les zones favorables au développement d'*Ixodes ricinus* (3, 5, 30). Ainsi, les élevages ont été choisis dans l'étage bioclimatique méditerranéen humide (pluviométrie de 800 à 1 500 mm/an). Dans cet étage, les prélèvements ont été effectués dans six localités. Ain Draham (36° 58' de lat. N, 8° 52' de long. E, altitude 850 m), Fernana (36° 40' de lat. N, 8° 42' de long. E, altitude 650 m) et El Jouza (36° 86' de lat. N, 8° 68' de long. E, altitude 500 m) sont situées dans la forêt de chêne liège (*Quercus suber*) et de chêne zeen (*Quercus faginea*). A Zouaraa (37° 02' de lat. N, 8° 57' de long. E, altitude 200 m) la végétation correspond à un maquis dense où prédominent *Olea europaea*, *Pistacia lentiscus* et *Myrtus communis* avec des pins et des acacias plantés. Dans la station de Sejnane (37° 03' de lat. N, 09° 14' de long. E, altitude 200 m), la forêt de chêne liège est très dégradée. Enfin, la localité de Teskraya (37° 15' de lat. N, 9° 48' de long. E, altitude 150 m) se caractérise par un maquis à végétation xérophile. Deux stations ont également été choisies dans l'étage bioclimatique subhumide : Jbel Zaghoun (36° 22' de lat. N, 10° 07' de long. E, altitude 600 m), caractérisée par un taillis dégradé où poussent quelques chênes verts (*Quercus ilex*), et Oued el Abid (36° 40' de lat. N, 10° 44' de long. E, altitude 150 m) à proximité du littoral, correspondant à une garrigue dense à *Quercus coccifera* et *Pistacia lentiscus*. Enfin, trois élevages ont été étudiés à Jbel Kesra (36° 04' de lat. N, 9° 22' de long. E, altitude 810 m) dans l'étage bioclimatique semi-aride où se développe une pinède (*Pinus halepensis*) avec, en sous-bois, un taillis de *Quercus ilex* (13).

**Choix des élevages**

Dans ces régions en majorité montagneuses, l'élevage est de type traditionnel. Les bovins sont largement répartis entre les paysans. Cependant, ces derniers s'associent par famille pour former un troupeau. Pour cette enquête, 35 élevages ont été choisis dans les différentes localités (tableau I). La majorité de ces exploitations familiales regroupent les bovins pour bénéficier d'un gardiennage commun lors du pâturage dans le maquis ou dans les bois. Les élevages étudiés ont été essentiellement à base de bovins de races locales (88 p. 100) avec quelques têtes de races Frisonnes ou Schwitz (8 p. 100) et de races croisées (4 p. 100). Les animaux ont été regroupés en trois catégories selon leur âge. Entre octobre et

mars, 307 bovins ont fait l'objet de prélèvements sanguins dans deux tubes différents : un tube sec pour le sérum et un autre hépariné pour l'étude parasitologique.

**Test d'immunofluorescence indirecte**

Les sérums ont été récupérés par centrifugation (3 000 t/min pendant 5 min), puis dilués au 1/80 dans du PBS (*phosphate buffered saline* à 7,2 pH), dilution retenue comme seuil de positivité pour la détermination de la prévalence de l'infection (15). Pour chaque réaction, ont été utilisés, d'une part, un sérum positif obtenu à partir d'un veau splénectomisé, puis infecté par une souche de *B. divergens* (4), et, d'autre part, un sérum négatif prélevé chez un veau de trois mois en provenance d'une ferme indemne de babésiose.

*Meriones unguiculatus*, gerbille réceptive à l'infection par *B. divergens* (19), a été inoculé par voie intrapéritonéale par une souche isolée à partir d'un taurillon en Tunisie et conservée dans de l'azote liquide (4). Lorsque la parasitémie a atteint 13 p. 100, la gerbille a été sacrifiée, les globules rouges infectés ont été récupérés, lavés trois fois dans du PBS (PCV 20 p. 100), puis répartis sur des lames à immunofluorescence indirecte (IFI) à raison de 5 µl par puits (15). Les lames ont été séchées, fixées pendant 5 min dans de l'acétone, puis conservées à -20 °C jusqu'à leur utilisation comme antigène pour le test IFI. Pour la révélation du complexe antigène-anticorps, ont été utilisées des antigammaglobulines bovines de lapin marquées à l'isothiocyanate de fluorescéine (Laboratoire Nordic) diluées au 1/80 dans du PBS.

**Dissection des Ixodes pour la détection de Babesia**

Dans la localité d'El Jouza, les auteurs ont procédé au début du mois de décembre à la collecte des *Ixodes* par la technique de la drague qui a consisté à traîner sur le tapis herbacé, formé essentiellement de fougères (*Pteridium aquilinum*) et de graminées, un morceau de tissu blanc (1,5 m x 1,5 m). Ce tissu a été fixé sur une baguette de bois et l'ensemble a été tiré derrière un chercheur par une ficelle. Au laboratoire, seules les femelles d'*Ixodes ricinus* ont fait l'objet de dissection selon la technique décrite par Purnell et Joyner (25). La tique vivante a été fixée sur sa face ventrale dans une boîte de Petri remplie de paraffine. Sous une loupe, cette tique couverte de PBS a été disséquée à l'aide d'un bistouri. Les glandes salivaires ont été dégagées, puis prélevées à l'aide d'une pince et étalées sur une lame porte-objet. Après séchage, ces glandes ont été colorées par le vert de méthyl et la pyronine (VMP) (29). Les glandes salivaires infectées ont présenté, au niveau des cellules type III des acini, des noyaux hypertrophiés entourés par les masses parasitaires. Ces dernières ont été colorées soit en rouge violacé en présence de sporoblastes, soit en vert lorsque les masses parasitaires étaient mûres.

**Identification de Babesia**

Pour la détection de *Babesia* sp., les auteurs ont eu recours à l'examen microscopique de frottis sanguins confectionnés à partir du sang prélevé sur les tubes héparinés de 307 bovins, puis colorés au Giemsa (Merck). Parmi ces prélèvements héparinés, 46 en provenance de bovins ayant présenté, selon les propriétaires, des signes de suspicion d'une babésiose (anémie, urine de couleur anormale, perte d'appétit...) ont été injectés par voie intrapéritonéale aux gerbilles afin d'isoler *B. divergens*.

**Analyses statistiques**

Le test du Chi-2 installé sur le logiciel Epi info, version 6 04/Cfr/1999, a été utilisé pour comparer les séroprévalences.

Tableau I

Répartition des bovins par localité et par classe d'âge

Localité	Nb. d'exploitations	Nb. de bovins examinés	<1 an	1-2 ans	>2 ans
Ain Draham	6	37	5	9	23
Fernana	3	38	6	8	24
Jbel el Jouza	7	64	9	20	35
Zouaraa	3	33	3	4	26
Sejnane	2	20	3	1	16
Teskraya	2	14	0	3	11
Jbel Zaghoun	4	44	3	17	24
Oued el Abid	5	34	3	7	24
Jbel Kesra	3	23	2	4	17
Total	35	307	34	73	200

## ■ RESULTATS

### Prévalence de *Babesia divergens* dans les élevages choisis

Parmi les 307 bovins qui ont fait l'objet de prélèvements sanguins dans les 35 élevages des neuf localités du nord de la Tunisie, 137 sérums, testés par l'IFI, se sont révélés positifs. La séroprévalence globale a été de 44,6 p. 100 (tableau II). Une variation significative a été observée selon la catégorie d'âge des animaux ( $\chi^2$  2 dd1,  $p = 0,003$ ). Les jeunes âgés de moins d'un an ont eu une séroprévalence de 23,5 p. 100 ; elle a été de 37 p. 100 chez les animaux de 1 à 2 ans et de 51 p. 100 chez les bovins adultes. Cette séroprévalence a varié selon les localités de 0 p. 100 (Fernana) à 82 p. 100 (Zouaraa) (tableau III). Dans sept des 35 exploitations (98 bovins), des anticorps anti-*B. divergens* n'ont pas été décelés. Trois de ces élevages étaient situés à Fernana et trois autres à Zaghouan.

### Examen direct des frottis sanguins

L'observation microscopique de 307 frottis sanguins a permis de déceler la présence de piroplasmés chez 87 bovins (28,3 p. 100). Parmi ces piroplasmés, 86 p. 100 étaient de forme annulaire ou en forme de poires. Cependant, leur morphologie n'a pas permis de les identifier avec certitude comme étant *B. divergens*.

### Isolement de *Babesia divergens*

Au total 46 prélèvements de sang de bovins ont été inoculés aux gerbilles. Deux seulement ont présenté, au niveau des globules

rouges, des *B. divergens* (tableau III). Ces souches isolées sur ces gerbilles ont été conservées dans de l'azote liquide.

### Recherche de sporoblastes dans les glandes salivaires des Ixodes

Les auteurs ont récolté sur la végétation de la forêt d'El Jouza, par la technique de la drague, 421 *Ixodes ricinus*, 6 *Haemaphysalis sulcata* et 2 *H. punctata*. Parmi les 230 femelles d'*I. ricinus* disséquées et colorées au vert de méthyl et la pyronine, cinq seulement (2,2 p. 100) ont présenté des masses parasitaires au niveau de leurs glandes salivaires.

## ■ DISCUSSION

En Europe, la babésiose bovine à *B. divergens* peut être à l'origine de problèmes pathologiques. De nombreuses études sérologiques menées dans différentes régions de ce continent montrent que cette parasitose est fréquente chez les bovins (1, 14, 22, 27).

En Afrique du Nord, les travaux concernant l'épidémiologie des babésioses remontent à 1945 (26) mais ils ne font pas allusion à la babésiose à *B. divergens*. Cette dernière a été isolée, pour la première fois dans cette région, en 1996 (4). L'enquête parasitaire menée dans ce travail vient confirmer la présence de *B. divergens* au nord de la Tunisie.

Le test utilisé ici pour la recherche des anticorps anti-*B. divergens* a été l'IFI. Ce test permet de détecter des anticorps qui apparaissent précocement (2). Ces anticorps témoignent d'une infection récente ou ancienne (17) par *B. divergens*. Ainsi la séroprévalence globale chez les 307 bovins prélevés a été de 44,6 p. 100.

Selon L'Hostis (21) et L'Hostis et coll. (23), le nombre de bovins séropositifs en Sarthe (France) est variable selon la saison. Il est de 50 p. 100 en automne, il décroît en hiver, puis augmente de nouveau au printemps. En Suisse, Gern et coll. (12) rapportent la même observation et constatent que le taux d'animaux séropositifs augmente de 33,9 à 90,6 p. 100 durant la saison de pâturage. En Suède, 41,7 p. 100 des bovins deviennent séropositifs en fin de saison de pâturage (7). En France, la séroprévalence est observée au printemps et en automne, périodes correspondant aux saisons d'activité du vecteur *I. ricinus* (20). Dans la présente enquête, les prélèvements sérologiques ont été effectués au cours de la saison d'activité des adultes d'*I. ricinus* qui parasitent en Tunisie essentiellement les bovins (3, 5).

Tableau II

Prévalence globale de l'infection par *Babesia divergens* en fonction de l'âge

Catégorie d'âge	Nb. testé	Positif (%)
> 2 ans	200	102 (51)
1-2 ans	73	27 (37)
< 1 an	34	8 (23,5)
Total	307	137 (44,6)

Tableau III

Séroprévalence de l'infection, examen des frottis et inoculation aux gerbilles selon le site

Localité	Nb. de bovins examinés	Séroprévalence (%)	Bovins avec piroplasmés	Nb. de prélèvements inoculés aux gerbilles	Gerbilles positives
Ain Draham	37	70,2	8	10	1
Fernana	38	0	4	2	0
Jbel el Jouza	64	54,7	21	8	1
Zouaraa	33	82	19	4	0
Sejnane	20	55	8	8	0
Teskraya	14	35,7	4	5	0
Jbel Zaghouan	44	6,8	2	0	0
Oued el Abid	34	79,4	17	3	0
Jbel Kesra	23	13	4	6	0
Total	307	44,6	87	46	2

Dans toutes les localités étudiées, à l'exception de celle de Fernana, des anticorps anti-*B. divergens* ont été décelés avec une séroprévalence variant de 6,8 à 82 p. 100 selon la localité (tableau III). Or il a été montré que la séroprévalence chez les bovins était fonction de la pression d'infestation par *I. ricinus*, vecteur de cette *Babesia* (20). Par conséquent, la différence observée entre les prévalences de chaque localité peut être essentiellement attribuée aux taux d'infestation des bovins par *I. ricinus*, vecteur de *B. divergens* en Tunisie (3). En effet, les troupeaux de ces localités pâturent en général dans les maquis ou les sous-bois de chêne liège. Les bovins sont par conséquent exposés à l'infestation par les *Ixodes*, mais à un taux de parasitisme variable en raison des différences de densité d'*I. ricinus* observées dans ces localités (Bouattour, résultats non publiés). Ces différences sont dues aux conditions biogéographiques, essentiellement le couvert végétal, l'humidité et la présence d'hôtes appropriés pour les *Ixodes*. C'est ainsi qu'à Fernana, située à 20 km au sud d'Aïn Draham, les bovins testés ont été choisis parmi ceux qui pâturaient dans le sous-bois de chêne liège.

Malgré cela, les auteurs n'ont pas trouvé de porteurs d'anticorps dirigés contre *B. divergens*. Dans cette localité, le surpâturage a provoqué la disparition de toute la strate herbacée et a dénudé le sol provoquant ainsi la disparition des conditions de survie des stades libres d'*I. ricinus*. D'ailleurs, les auteurs n'ont jamais enregistré la présence de cette tique sur les animaux de cette localité (3). Par ailleurs, des différences dans la prévalence de l'infection à *B. divergens* ont été également observées entre les élevages de la même localité. Le nombre de fermes où des bovins étaient séropositifs a été de 25, soit 80,6 p. 100 des exploitations concernées par l'enquête. Ce résultat, qui rejoint les observations de L'Hostis en France (20), est en faveur du caractère endémique à foyer très localisé des babésioses d'une façon générale (6). C'est ainsi qu'à Aïn Draham, la séroprévalence a varié de 16,5 à 80 p. 100 selon les troupeaux. Cette différence pourrait être attribuée à la conduite de l'élevage. En effet, les troupeaux à faible séroprévalence étaient formés en majorité de bovins de races importées (Frisonne ou Schwitz). En raison de leur exploitation dans la production de lait, les vaches de ces troupeaux ne sortaient pas dans la forêt ou le maquis. Les exploitants se contentaient de les faire pâturer dans les alentours du *douar* pour les ramener facilement au moment de la traite. Par ailleurs, les jeunes bovins de moins d'un an ne partaient qu'exceptionnellement avec le troupeau au pâturage ; par conséquent, les risques de leur contact avec *I. ricinus* et donc leur infection par *Babesia* étaient faibles.

Ceci explique la différence significative dans la prévalence de l'infection par *Babesia* retrouvée chez les trois catégories d'âge des bovins étudiés ( $p = 0,003$  ; tableau II). En effet, chez les bovins de plus de 2 ans, la séroprévalence (51 p. 100) a été plus importante que celle des animaux de 1 à 2 ans (37 p. 100) et encore plus élevée que celle des jeunes de moins d'un an (23,5 p. 100). La mise au pâturage expose l'animal à l'infestation par les *Ixodes* et à l'infection par *Babesia*. Ceci engendre chez ces animaux l'apparition d'anticorps anti-*Babesia* qui vont persister pendant une longue période (17). La présence de ces anticorps peut être maintenue par les infections répétées chaque saison lors des infestations par les *Ixodes*. Mais la persistance des anticorps pourrait être attribuée aussi à la présence du parasite dans l'organisme du bovin (20). Ceci confère à l'animal un état de prémunition. Cependant, malgré sa spécificité le test IFI, considéré comme très convenable pour déceler la présence d'une infection à *Babesia* dans un troupeau (2, 18), peut être à l'origine de réactions croisées avec les autres espèces de *Babesia* (11), notamment *B. bovis* et *B. bigemina* dont les vecteurs, *Rhipicephalus bursa* et *Boophilus annulatus*, en Tunisie, sont présents dans les mêmes biotopes qu'*I. ricinus* (3, 5).

Le recours à l'examen des frottis sanguins des bovins étudiés ne peut en aucun cas résoudre ce problème, et ce, en raison des

similitudes morphologiques essentiellement entre *B. divergens* et *B. bovis*. *Theileria annulata*, endémique dans ces régions, mais avec une faible séroprévalence (3, 9), peut également présenter des formes de petite taille similaires à celles de ces deux dernières babésioses. En revanche, *B. bigemina*, plus long, en forme de poires à angle obtus plus typiques, est distinguable des deux autres babésioses rencontrées dans ces régions.

Afin d'isoler *B. divergens*, 46 prélèvements choisis d'une manière aléatoire ont été inoculés à *M. unguiculatus*, animal de laboratoire réceptif à ce parasite. Deux gerbilles seulement ont présenté *B. divergens* dans leurs hématies. Ce résultat confirme donc la circulation de ce parasite dans les régions où *I. ricinus* a été récolté (3, 5), mais il ne concorde ni avec la séroprévalence ni avec le pourcentage des porteurs de gamétocytes retrouvés lors de cette enquête, ni avec les résultats rapportés par L'Hostis et coll. (22). Ceci pourrait être attribué à plusieurs raisons. D'une part, le choix des bovins dont le sang a été inoculé aux gerbilles était aléatoire, basé uniquement sur les déclarations des propriétaires. Or ces derniers n'observaient leurs bovins que très rarement car ils partaient le matin au pâturage et ne revenaient que le soir. D'autre part, certaines babésioses pouvaient être altérées avant l'injection de sang aux gerbilles, après les quelques jours d'acheminement du tube au laboratoire. Enfin, il est connu que le test d'IFI indique que le bovin a été en contact avec le parasite mais il ne permet pas de savoir quand cette infection a été contractée (15).

Ces résultats peuvent suggérer que les bovins de ces troupeaux étaient en état de prémunition. D'ailleurs, selon les vétérinaires praticiens dans ces régions, il est exceptionnel qu'ils observent un cas clinique de babésiose. En Europe, il est connu que les cas de babésiose clinique surviennent dans des exploitations où la pression parasitaire par *I. ricinus* est importante ; une pression d'infestation faible semble suffisante pour maintenir une prévalence sérologique importante (21, 23). D'autre part, dans les zones à *Ixodes*, les babésioses cliniques sont rares et leur incidence reste très faible, variant de 0,4 à 4,9 p. 100 selon les études (7, 14, 22). Or dans la majorité des localités étudiées en Tunisie, le parasitisme des bovins par les *Ixodes* ne semble pas être très important. De même, le taux d'infection de ces tiques par *B. divergens*, déterminé après dissection, a été de 2,2 p. 100. Cette prévalence reste dans la fourchette des valeurs trouvées en Europe qui varient de 1 à 5 p. 100 (20).

La coloration au VMP utilisée pour déterminer la prévalence de *B. divergens* chez *I. ricinus* a présenté l'avantage de pouvoir étudier un grand nombre de tiques à des coûts relativement faibles. Cependant, si elle a mis en évidence la présence de masses parasitaires au niveau des glandes salivaires, elle n'a pas permis de différencier entre les espèces. Mais grâce à l'analyse de l'ADN de ces sporoblastes par la technique du *reverse line blotting* développée par Gubbels et coll. (16), les auteurs ont pu confirmer qu'il s'agissait de *B. divergens* (3).

Le faible parasitisme des bovins par les *Ixodes* dont la prévalence de l'infection par *B. divergens* est faible fait que les bovins dans le nord de la Tunisie sont soumis à une faible pression d'infection mais répétée chaque année. Ceci permet aux animaux autochtones de race locale, qui peuvent montrer une résistance, d'acquérir une immunité sans développer de babésiose clinique. Par conséquent, on peut supposer que la situation endémique pour *B. divergens* dans les troupeaux de ces régions est stable bien que du point de vue sérologique cette situation ne réponde pas aux critères établis par Mahony (24). Néanmoins, la nouvelle orientation de l'Etat tunisien qui vise à encourager l'élevage dans ces régions, avec l'introduction de nouvelles races améliorées, pourrait engendrer l'apparition d'une nouvelle situation épidémiologique avec des cas cliniques sévères.



## ■ CONCLUSION

L'isolement de *B. divergens* chez un taurillon autochtone en Tunisie a amené les auteurs à étudier la présence de l'infection des bovins par ce protozoaire. L'enquête sérologique et parasitaire a montré que *B. divergens* circulait dans les troupeaux bovins qui pâturaient dans les sous-bois des forêts de chêne liège et des maquis favorables à la survie d'*I. ricinus*. La prévalence de l'infection a été variable selon les troupeaux, ce qui a confirmé la distribution en mosaïque des foyers de babésioses. Si les cas cliniques semblaient rares parmi ces bovins de races locales, il serait judicieux de bien suivre l'évolution épidémiologique de cette maladie après l'introduction de nouvelles races importées dans ces zones. Des études épidémiologiques approfondies sont nécessaires pour définir les facteurs de risque.

La mise en évidence de *B. divergens* chez un bovin autochtone en Tunisie est récente. Une étude sérologique et parasitaire effectuée dans sept différentes localités à biotope favorable à *Ixodes ricinus* a permis de confirmer la présence de ce parasite dans plusieurs troupeaux. Au total, 307 bovins de différents âges, répartis dans ces zones, ont été testés par immunofluorescence indirecte à la dilution 1/80 à la recherche d'anticorps *B. divergens*. La prévalence globale de l'infection a été de 44,6 p. 100. Cette prévalence a été variable en fonction de la localité, du troupeau et de la catégorie d'âge. L'examen des frottis confectionnés à partir de sang hépariné de ces bovins a révélé la présence de piroplasmes de petite taille chez 28,3 p. 100 des animaux. L'inoculation de 46 prélèvements aux mériers a permis d'isoler deux souches de *B. divergens*. Ces résultats montrent que *B. divergens*, considérée jusqu'à présent comme se cantonnant à l'Europe, est présente en Afrique du Nord sous forme de foyers.

## Remerciements

Ce travail a reçu le support de l'Union européenne (RTD projet contrat n° : ICAS-CT2000-30009) et du secrétariat d'Etat à la Recherche scientifique et à la Technologie de Tunisie. Nous tenons à remercier également Dr G. Uilenberg pour avoir accepté de relire notre manuscrit et Sassi Limam (Enmv) pour son assistance technique.

## BIBLIOGRAPHIE

- ADAM K.M.G., BLEWETT D.A., 1978. A serological survey for *Babesia* in cattle in Scotland. II. The occurrence of antibody in the population and the distribution of infected herds. *Ann. trop. Med. Parasitol.*, **5**: 417-428.
- BIDWELL D.E., TURP P., JOYNER L.P., PAYNE R.C., PURNELL R.E., 1978. Comparisons of serological tests for *Babesia* in British cattle. *Vet. Rec.*, **103**: 446-449.
- BOUATTOUR A., 2001. Les tiques de Tunisie. Rôle de *Hyalomma detritum* dans la transmission de *Theileria annulata*. Thèse Doct. Sci., faculté des Sciences de Tunis, Tunisie, 253 p.
- BOUATTOUR A., DARGHOUTH M.A., 1996. First report of *Babesia divergens* in Tunisia. *Vet. Parasit.*, **63**: 161-165.
- BOUATTOUR A., DARGHOUTH M.A., DAOUD A., 1999. Distribution and ecology of ticks (Acari: Ixodidae) infesting livestock in Tunisia: an overview of eight years field collections. *Parassitologia*, **41** (Suppl.): 5-10.
- BOURDOISEAU G., L'HOSTIS M., 1995. Les babésioses bovines. *Point vét.*, **27**: 125-131.
- CHRISTENSSON D.A., ENFORS E., 1987. An outbreak of babesiosis (*B. divergens*) in a dairy herd comprising different age groups of cattle. *Acta vet. Scand.*, **28**: 125-126.
- COTTIER M.H., 1936. Les affections à hématozoaires endoglobulaires en Afrique du Nord. *Off. int. Epizoot.*, n° 78 : 1-16.
- DARGHOUTH M., BOUATTOUR A., KILANI M., 1999. Tropical theileriosis in Tunisia: epidemiology and control. *Parassitologia* **41** (Suppl.): 33-36.
- DONNELLY J., JOYNER L.P., CROSSMAN P.J., 1972. The incidence of *Babesia divergens* infection in a herd of cattle as measured by the indirect immunofluorescent antibody test. *Res. vet. Sci.*, **13**: 511-514.
- FUSINAGA T., MINAMI T., ISHIHARA T., 1980. Serological relationship between a large *Babesia* found in Japanese cattle and *Babesia major*, *B. bigemina* and *B. bovis*. *Res. vet. Sci.*, **29**: 230-234.
- GERN L., KINDLER A., BROSSARD M., 1988. Annual evolution of cattle immunity against *Babesia divergens* in Northern Switzerland. *Prev. vet. Med.*, **6**: 9-16.
- GOUNOT M., SCHOENENBERGER A., 1967. Notice détaillée de la carte phytocéologique de la Tunisie septentrionale, échelle 1/200 000 ; feuille II : Bizerte – Tunis ; feuille III : Tabarka – Souk el Arba. *Ann. IRAT*, **40** : 1-340.
- GRAY J.S., HARTE L.N., 1985. An estimation of the prevalence and economic importance of clinical bovine babesiosis in the republic of Ireland. *Irish vet. J.*, **39**: 75-78.
- GRAY J.S., KAYE B., 1991. Studies on the use of gerbil-derived *Babesia divergens* antigen for diagnosis of bovine babesiosis. *Vet. Parasitol.*, **39**: 215-224.
- GUBBELS J.M., DE VOS A.P., VAN DER WEIDE M., VISERAS J., SCHOULS L.M., DE VRIES E., JONGEJAN F., 1999. Simultaneous detection of bovine *Theileria* and *Babesia* species by reverse line blot hybridization. *J. clin. Micro.*, **37**: 1782-1789.
- JOYNER L.P., DONNELLY J., PAYNE R., 1972. The indirect fluorescent antibody test for the differentiation of infections with *Babesia divergens* or *Babesia major*. *Res. vet. Sci.*, **13**: 515-518.
- LEEFLANG P., PERIE N.M., 1972. Comparative immunofluorescent studies on four *Babesia* species of cattle. *Res. vet. Sci.*, **13**: 342-346.
- LEWIS D., WILLIAMS H., 1979. Infection of the Mongolian gerbil with the cattle piroplasm *Babesia divergens*. *Nature*, **278**: 170-171.
- L'HOSTIS M., 1994. *Babesia divergens* en France : épidémiologie descriptive et analytique. Thèse Doct., université de Montpellier, France, 76 p.
- L'HOSTIS M., 1998. Aspects vétérinaires des maladies transmises par les tiques : exemple de la babésiose bovine à *Babesia divergens*. *Méd. Mal. infect.*, **28** (n° spécial) : 359-362.
- L'HOSTIS M., CHAUVIN A., VALENTIN A., MARCHAND A., GORENFLOT A., 1995. Large-scale survey of *Babesia divergens* bovine babesiosis in France. *Vet. Rec.*, **136**: 36-38.
- L'HOSTIS M., CHAUVIN A., VALENTIN A., PERIGOUT E., GORENFLOT A., 1997. A survey of *Babesia divergens* antibody kinetics in cattle in Western France. *Vet. Res.*, **28**: 481-488.
- MAHONEY D.F., 1977. *Babesia* in domestic animals. In: Kreier J.P. Ed., Parasitic protozoa, Vol. IV. New York, USA, Academic Press, p. 1-52.
- PURNELL R.E., JOYNER L.P., 1968. The development of *Theileria parva* in the salivary glands of the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. *Parasitology*, **58**: 725-732.
- SERGEANT E., DONATIEN A., PARROT L., LESTOQUARD F., 1945. Etudes sur les piroplasmoses bovines. Alger, Algérie, Institut Pasteur, 816 p.
- TAYLOR S.M., KENNY J., STRAIN A., 1982. The distribution of *Babesia divergens* infection within the cattle population of Northern Ireland. *Br. vet. J.*, **138**: 384-392.
- TODOROVIC R.A., CARSON C.A., 1981. Methods for measuring the immunological response to *Babesia*. In: Ristic M., Hreier J.P. Eds, Babesiosis. New York, USA, Academic Press, p. 381-410.
- WALKER A.R., MCKELLER S.B., BELL L.J., BROWN C.G.D., 1979. Rapid quantitative assessment of *Theileria* infection in ticks. *Trop. Anim. Health Prod.*, **11**: 21-26.
- YOUNSI H., POSTIC D., BARANTON G., BOUATTOUR A., 2001. High prevalence of *Borrelia lusitaniae* in *Ixodes ricinus* ticks in Tunisia. *Eur. J. Epidemiol.*, **17**: 53-56.

Reçu le 20.01.2004, accepté le 20.08.2004

## Summary

**Bouattour A., Ghammam M., Darghouth M., Touil S., Tahri M., Ben Hamouda F.** Seroepidemiology of Bovine Babesiosis due to *Babesia divergens* in Tunisia

*Babesia divergens* was recently isolated in Tunisia from a bovine of local breed. A serological and parasitic survey was conducted in seven sites, where biotopes were favorable to *Ixodes ricinus*. Results confirmed the presence of *Babesia* in several herds. Serum samples were collected from 307 cattle of various ages, spread out throughout the sites. All sera were tested by the indirect immunofluorescence test using *B. divergens*-infected red cells of gerbils (*Meriones unguiculatus*) as an antigen. At 1/80 dilution, the prevalence of infection by *B. divergens* was 44.6%. The prevalence varied according to the site, the herd and the age class of cattle. Direct examination of thin blood smears of these bovines showed intraerythrocytic piroplasms in 28.3% samples. After inoculation of 46 collected samples to gerbils, two *B. divergens* strains were isolated. The present study shows that *B. divergens*, which was thought to be confined in Europe up until now, is also present as foci in North Africa, and that a stable endemic situation appears to be established between the local breed (*Bos taurus*) and this hemoparasite in North Tunisia.

**Key words:** Cattle – *Babesia divergens* – Babesiosis – *Ixodes ricinus* – Immunofluorescence – Tunisia.

## Resumen

**Bouattour A., Ghammam M., Darghouth M., Touil S., Tahri M., Ben Hamouda F.** Epidemiología serológica de la babesiosis bovina por *Babesia divergens* en Túnez

El descubrimiento de *Babesia divergens* en el bovino autóctono en Túnez es reciente. Un estudio serológico y parasitario, efectuado en siete localidades diferentes con biotopo favorable a *Ixodes ricinus*, permitió la confirmación de la presencia de esta *Babesia* en varios hatos. En total, 307 bovinos de edades diferentes, distribuidos en estas zonas, fueron examinados mediante inmunofluorescencia indirecta, utilizando como antígeno los glóbulos rojos de un jerbo (*Meriones unguiculatus*) infectados con *B. divergens*. La prevalencia global de la infección con sueros diluidos a 1/80 fue de 44,6%. Esta prevalencia fue variable en función de la localidad, del hato y de la categoría de edad. El examen de los frotis realizados a partir de sangre heparinizada de estos bovinos reveló la presencia de piroplasmas de tamaño pequeño en 28,3% de los animales. La inoculación de 46 muestras de los jerbos permitió el aislamiento de dos cepas de *B. divergens*. Estos resultados muestran que *B. divergens*, considerada hasta ahora como reclusa a Europa, está presente en África del Norte bajo la forma de focos y que una endemia estable se ha establecido entre este hemoparásito y los bovinos de raza local (*Bos taurus*).

**Palabras clave:** Ganado bovino – *Babesia divergens* – Babesiosis – *Ixodes ricinus* – Inmunofluorescencia – Túnez.