

# Compte rendu de la réunion du groupe "Tiques et Maladies à Tiques"

Alfort, 27-28 Novembre 2008

## **Animatrice: Karen D. McCOY**

Génétique et Evolution des Maladies Infectieuses (GEMI), UMR 2724 IRD-CNRS, Centre IRD, 911 Av d'Agropolis, BP 64501, 34394 Montpellier cedex 5.

[mccoy@mpl.ird.fr](mailto:mccoy@mpl.ird.fr)

## **Résumé:**

Le groupe de réflexion "Tiques et Maladies à Tiques" (TMT) s'est réuni à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort du 27 au 28 Novembre 2008. Au cours de cette réunion, qui a rassemblé 40 participants, ont été présentés deux ateliers, un sur l'utilisation de différents tests statistiques combinatoires et un autre sur le pouvoir immunomodulateur de la salive des tiques dans la transmission des pathogènes. Nous avons eu également 14 communications scientifiques des membres et une présentation du président de France Lyme, une association formée récemment pour l'échange et la diffusion des informations sur les maladies transmises par les tiques. La discussion finale a permis d'établir les priorités pour notre prochaine rencontre qui aura lieu aux mêmes dates à Lyon (Université Claude Bernard). La réunion s'est terminée par des discussions par groupes de projets et/ou articles en collaboration. Cette année, le REID avait apporté une subvention de 4000€ qui nous a permis de couvrir le déplacement d'un grand nombre de personnes durant ces deux journées très enrichissantes et interactives.

# Compte rendu de la réunion du groupe "Tiques et Maladies à Tiques"

Nantes, 26-27 Novembre 2007

## INTRODUCTION

Le groupe de réflexion "Tiques et Maladies à Tiques" (TMT) s'est réuni à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort du 27 au 28 Novembre 2008. Cette réunion a été organisée localement par l'Unité UMR 956 BIPAR « Biologie moléculaire et immunologie parasitaire et fongique » et plus spécifiquement par Muriel VAYSSIER-TAUSSAT et Sarah BONNET. Au total, 40 participants ont été rassemblés. La plupart des frais des participants ont pu être couverts par la subvention attribuée par la REID cette année (4000€) - Voir Annexe I pour le bilan financier.

Après une introduction brève pour présenter le groupe aux membres, le déroulement de ces deux jours a inclus 2 ateliers, 14 communications scientifiques et une présentation de l'association France Lyme (voir Annexe II). Ces interventions ont traité de nombreux thèmes différents concernant les tiques et les maladies qu'elles transmettent (voir ci-dessous).

### Atelier 1:

**Combiner des tests: Bonferroni, Fisher, Binomial, SGM ou Z? Applications aux tiques et aux maladies transmises**

**Thierry DE MEEUS, UMR177 IRD/CIRAD, Campus International de Baillarguet,**

Plusieurs méthodes existent pour combiner différents tests indépendants. En plus du très conservateur Bonferroni, nous trouvons la très populaire procédure de Fisher, très utilisée en génétique des populations. Cette dernière a cependant dernièrement été remise en cause par d'autres approches telles que le test de symétrie autour de la moyenne géométrique (SGM) ou la méthode de transformation Z, moins sensibles au manque d'uniformité et/ou de symétrie des distributions de P-values partielles. Dans cet atelier, Thierry DE MEEUS nous ont présenté un nouveau logiciel qui implémente une nouvelle méthode, la méthode binomiale généralisée, qui teste spécifiquement la déviation de la proportion observée de P-values dépassant un seuil prédéfini, par rapport à la proportion attendue sous l'hypothèse nulle (MultiTest V.1.2, Figure 1). Les performances respectives de l'ensemble de ces méthodes ont été comparées sur des données de génétique des populations simulées et réelles. Ces comparaisons ont fait ressortir que la procédure binomiale est la plus performante dans la

majorité des cas mais que l'utilisation, par ordre de priorité, de Z, SGM et Fisher peut s'avérer utile.

MultiTest V 1.2

About MultiTest

Significant level (alpha): 0.05

Number of tests (k): 2

Choose testing either for k or alpha:

- Test for k' and look for alpha'
- Test for alpha' and look for k'

Desired number of significant partial tests (k'): 1 a value of n/2 is suggested

Or

Desired partial significant level (alpha'): 0

Desired precision : 0.0001 a value less or equal to 0.0001 is suggested

Output file

Name of output file

Results.mul

Change or new output file

Go!

Exit

**Figure 1.** Logiciel MutliTest V1.2., développé par DeMeeûs, Guégan et Teriokhin (manuscrit non-publié), pour la combinaison des tests multiples.

## **Atelier 2 :**

**Pouvoir immunomodulateur de la salive des arthropodes dans les maladies à transmission vectorielle: l'exemple de la maladie de Lyme.**

**Nathalie BOULANGER, Physiopathologie des Interactions hôte-bactéries, EA 3432, Faculté de Pharmacie de Strasbourg**

Les maladies à transmission vectorielle constituent un problème majeur de santé publique. Elles sont transmises par des arthropodes, insectes ou acariens, qui transmettent le pathogène via une piqûre hématophage. La salive de l'arthropode semble jouer un rôle important sur la pathogénicité des microorganismes transmis. Dans cet atelier, Nathalie BOULANGER nous

ont exposé un exemple de ce rôle particulièrement bien documenté dans la littérature: le cas de la borréliose de Lyme.

La borréliose de Lyme est due à des bactéries spirochètes *Borrelia* spp. transmises par des tiques dures du genre *Ixodes*. L'action de la salive sur la réponse immunitaire adaptative (inhibition de la prolifération lymphocytaire) est bien documentée, une protéine de la salive, salp15 a été identifiée. Elle agit sur le récepteur CD4 des lymphocytes T expliquant l'inhibition de la prolifération. Cette protéine se lie également au récepteur DC-SIGN des cellules dendritiques et inhibe leur inflammation. L'effet de la salive de tique sur la réponse immunitaire innée (reconnaissance initiale du pathogène par des récepteurs tels que "Toll like receptors" et rôle des peptides antimicrobiens tels que défensines et cathélicidines) est encore peu connue. Cette réponse immunitaire innée est particulièrement importante puisque c'est elle qui va ensuite initier la réponse immunitaire adaptative (maturation des cellules dendritiques, des lymphocytes T) et jouer un rôle majeur sur l'intensité des manifestations cliniques de la maladie. Pour étudier l'interaction bactérie-cellules hôtes au niveau de la peau, l'équipe de l'EA 3432 ont développé un système in vitro (culture de kératinocytes humains primaires) et un système in vivo (souris C3H/HeN). Ces deux modèles permettent d'analyser le rôle de l'interface cutanée dans la transmission et plus particulièrement le rôle des cellules résidentes de la peau, kératinocytes et fibroblastes. Ils ont montré que l'interaction *Borrelia*-cellules de la peau induit la sécrétion de peptides antimicrobiens (défensines et cathélicidine). Ces peptides sont bien connus dans différentes inflammations cutanées où ils contrôlent la prolifération microbienne. Puis, ils ont analysé le pouvoir immunomodulateur de la salive de tique dans ces deux systèmes. La salive de tique et la protéine salp15 inhibent l'induction de ces peptides antimicrobiens et de chémokines. Cette inhibition neutraliserait la communication cellulaire et la migration de cellules immunocompétentes vers l'inflammation. Dans cet environnement devenu favorable aux pathogènes, la tique injecterait alors les *Borrelia* qui se multiplieraient ainsi plus facilement dans la peau avant de se disséminer vers différents organes cibles.

### **Communications scientifiques:**

**Variation de l'abondance des tiques dures chez le tamia de Sibérie (*Tamias sibiricus*),  
écureuil asiatique introduit en forêt de Sénart (Essonne).**

**Jean-Louis CHAPUIS, B. PISANU, J. MARMET & G. VOURC'H (MNHN, Paris)**

En France, 11 populations de tamias de Sibérie, écureuil asiatique vendu dans les animaleries depuis les années 1970, ont été recensées dans des forêts périurbaines et des parcs d'Ile-de-France et de Picardie. La Forêt de Sénart abrite la plus importante d'entre elles ( $\approx 15\,000$  ind.). Sur ce site, les tamias ont une ou deux portées par an, les jeunes émergeant du terrier en mai-juin, puis en août-septembre. Le suivi de la population par capture-marquage-recapture, sur un site de 14 ha (chênaie-charmaie), a permis d'étudier entre 2004 et 2008 l'évolution mensuelle des charges en tiques de ce rongeur selon les saisons, le sexe et l'âge des individus. L'examen de plus de 3 300 tamias a montré que cet écureuil héberge un nombre important de larves et de nymphes d'*Ixodes ricinus*, formant près de 95% de son cortège en tiques. Chez les adultes, leur abondance augmente de mars (sortie d'hibernation des tamias) à mai-juin, puis diminue jusqu'en octobre-novembre (entrée en hibernation) en étroite relation avec les disponibilités en tiques dans le milieu ; un second pic est observé en août-septembre certaines années. En mai-juin, les mâles sont significativement plus parasités que les femelles ( $178 \pm 47$ ,  $n=12$ , contre  $59 \pm 8$  tiques,  $n=27$ , en 2005 par exemple). Cette différence est liée à l'activité reproductrice des mâles à cette période. Les jeunes quant à eux portent peu de tiques, de 20 à 70 en moyenne selon les années pour ceux de la 1ère cohorte et moins de 10 pour ceux de la 2nde cohorte, là aussi en relation avec les disponibilités des tiques dans le milieu. Compte-tenu de leurs charges en tiques et de leur rôle de réservoir de *Borrelia burgdorferi* s.l., les tamias pourraient intervenir dans la dynamique de cet ectoparasite et dans celle de la borréliose de Lyme.

### **Dynamique temporelle de l'infection par *Borrelia burgdorferi* s.l. des petits rongeurs en forêt de Sénart.**

**Maud MARSOT, J. MARMET, S. MASSEGLIA, P. GASQUI, J-L. CHAPUIS, G. VOURC'H (Unité d'Epidémiologie Animale, INRA, Theix)**

Plusieurs réservoirs vertébrés ont été décrits pour *Borrelia burgdorferi* sensu lato, agents de la maladie de Lyme, transmise par les tiques *Ixodes ricinus* en Europe. Le tamia de Sibérie (*Tamias sibiricus*), Sciuridé originaire d'Asie, a été introduit à partir des années 1970 dans des forêts suburbaines d'Ile-de France, où il s'est établi et est suspecté d'être réservoir pour la maladie de Lyme. Notre objectif était de déterminer une partie de la contribution du tamia de Sibérie, comparativement à deux espèces réservoirs identifiées, le campagnol roussâtre (*Myodes glareolus*) et le mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*), à la circulation de *B. burgdorferi* s.l. Les trois espèces de rongeurs ont été capturées de février à novembre en 2007

dans une forêt suburbaine d'Ile-de-France, la forêt de Sénart. Après détection par PCR sur des biopsies d'oreilles de la présence d'ADN de *B. burgdorferi* sl, une modélisation logistique de la prévalence d'infection des trois espèces montre que l'infection des rongeurs ne dépend que de l'espèce. Le tamia de Sibérie est beaucoup plus infecté (81% --> 60%) que le campagnol roussâtre (21%) et que le mulot sylvestre (12%). Contrairement aux deux autres espèces, les tiques du tamia n'ont été pas été prélevées mais comptées uniquement sur le terrain. Une régression linéaire a permis d'estimer la charge en tiques du tamia que l'on aurait comptabilisée après prélèvement. La charge en larves des trois espèces, modélisée par une binomiale négative, permet de mettre en évidence une différence entre espèce. Le tamia de Sibérie est beaucoup plus infesté par les larves *I. ricinus* que le mulot sylvestre et le campagnol roussâtre. On observe une dynamique temporelle de la charge en larves *I. ricinus* pour le tamia de Sibérie proche de celle des tiques à l'affût sur la végétation, avec un maximum en juin, une baisse en juillet et une légère remontée en août. Les campagnols mâles sont plus infestés par les larves *I. ricinus* que les femelles. Le tamia de Sibérie, présent en forte densité, avec une forte prévalence et une charge en tiques élevée, pourrait contribuer fortement à l'infection en *B. burgdorferi* sl en forêt de Sénart et augmenterait ainsi le risque pour l'Homme.

**Un index de végétation en bordure de pâture est lié à la densité de tiques et reflète le risque de séroprévalence élevée dans des troupeaux de vaches laitières."**

**A. AGOULON, L. Malandrin, F. Lepigeon, M. Vénisse, S. Bonnet, C. Becker, T. Hoch, M.L'Hostis, Susanne BASTIAN, O. Plantard, & F. Beaudeau**

*Babesia divergens*, l'agent majeur de la babésiose bovine en France, est transmis par la tique *Ixodes ricinus*. Ce microparasite est souvent présent chez les porteurs asymptomatiques, avec une forte variabilité en séroprévalence entre troupeaux de vaches (0-87% dans notre étude) et un nombre de cas clinique faible. Malgré le fait que de nombreux facteurs (incluant le type de végétation) sont considérés comme pouvant influencer la densité en tique, aucun facteur de risque pour *B. divergens* a été identifié jusqu'à présent. Le but de notre étude était d'identifier un marqueur indirect de séroprévalence au sein des troupeaux basé sur un indice de végétation. Au printemps 2007, nous avons donc mesuré la séroprévalence de *B. divergens* dans 20 troupeaux de vaches laitières dans l'ouest de la France (prise de sang et sérologie IFI). Dans chaque ferme, les nymphes d'*I. ricinus* ont été également quantifiées dans la végétation en bordure de pâture par la méthode du drapeau. La densité en tique a été significativement

corrélée avec un indice de végétation qui prend en compte l'abondance d'arbres/arbustes en bordure de pâture (index VI: variant entre 1 et 5). La plupart des tiques (54%) a été trouvée dans les transects d'indice 5 qui recouvraient plus de 20% de la surface des fermes. Par extension, les fermes avec moins de 20% de leurs bordures de pâture avec un indice VI = 5 montraient une faible séroprévalence de *B. divergens*. En revanche, quand cette surface dépasse 20%, le risque d'exposition au microparasite est devenu important (forte séroprévalence).

### **TMT en médecine générale**

#### **Jean-Claude GEORGE (Médecin Généraliste, Souilly)**

Médecin généraliste, j'exerce en solitaire depuis 31 ans dans une zone forestière de Meuse. Dès le milieu des années 90, j'ai observé une sensible augmentation de l'incidence des syndromes grippaux estivaux inexplicables chez mes patients. Les hospitaliers ne souhaitant pas s'impliquer, j'ai dû réaliser une enquête personnelle qui a conduit à suspecter des maladies vectorielles à tiques (MVT). L'incidence de la borréliose de Lyme a été réévaluée à 112 cas pour 100 000 (CNR des *Borrelia*, de 2002 à 2006); elle était précédemment estimée à 16 cas (EUCALB, 1995). La surveillance de 1500 patients durant ces 11 dernières années m'a également permis d'observer l'émergence de nouvelles pathologies parmi lesquelles: 2 cas d'anaplasmose granulocytaire humaine, 1 de rickettsiose à *R. slovaca*, 8 de Tibola (Tick-Borne Lymph Adenopathy) dont un à *R. raoultii* (résistante à la rifampicine), 1 cas possible de LAR (Lymphangitis-Associated Rickettsiosis) ainsi que 3 cas de fièvre Q, 6 bartonelloses et 4 allergies à la morsure de tiques (CNR des Rickettsioses). Le nombre de cas restant inexplicables dans le groupe à risque fait suspecter de possibles babésioses et arboviroses qui ne peuvent, à ce jour, être confirmées en France. Compte tenu du nombre de porteurs asymptomatiques, le risque transfusionnel lié à l'ensemble des MVT devrait désormais être évalué très attentivement dans les populations à risque.

### **Les Babesia des Cervidés en Europe transmises par *Ixodes ricinus***

**C.BECKER, M. JOUGLIN, Y. SUN, N. BRISSEAU, A. BOUJU-ALBERT, A. CHAUVIN, Laurence MALADRIN (UMR BioEpAR, INRA/ENVN, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes)**

Chez les Cervidés européens, la présence de trois espèces de *Babesia* (Apicomplexa parasite intra-érythrocytaire) est supposée. Pour l'une d'elle, *Babesia* sp. EU1, la compétence

vectorielle de la tique dure *Ixodes ricinus* a été démontrée par isolement, microscopie et typage moléculaire des sporozoïtes présents dans les glandes salivaires. L'appartenance à l'espèce *Babesia* a été démontrée par passage direct de ces sporozoïtes dans des érythrocytes in vitro (Becker et al., 2009, EID). La proximité phylogénétique des deux autres espèces, *B. divergens* (parasite des bovins) et *B. capreoli* (décrit originellement comme parasite du chevreuil), et l'utilisation d'outils moléculaires de typage seuls, ont abouti à la confusion de ces deux espèces dont l'une est zoonotique (*B. divergens*). L'isolement de *B. capreoli* in vitro à partir de chevreuils, et la caractérisation des souches obtenues sur la base d'outils moléculaires (séquençage de l'ARNr 18S) en complément d'une analyse de leur gamme d'hôte in vitro et in vivo permettent de différencier ces deux espèces proches (Malandrin et al., soumis).

### **Méthodes de gorgement artificiel des tiques molles et dures et tests de compétence vectorielle.**

#### **Laurence VIAL (CIRAD BIOS UMR15 CMAEE, Montferrier-le-Lez)**

Les expériences de compétence vectorielle chez les tiques visent à tester leur habileté à s'infecter après ingestion d'un repas sanguin infecté sur un vertébré, à assurer le développement du pathogène et enfin à le transmettre à un autre vertébré par piqûre. Chez les tiques, la notion de réservoir est souvent associée comme système dans lequel le pathogène peut se maintenir indéfiniment, soit directement soit au sein de la population via des modes de transmission de tique à tique. Les infections par gorgement artificiel sont généralement préférées à celles pratiquées sur animaux vivants car plus commodes pour contrôler certains effets confondants et plus facilement réalisables lorsqu'il s'agit de travailler sur des pathogènes particulièrement contagieux. Toutefois, ce système in-vitro ne permet de tester des hypothèses de vection que s'il reste suffisamment comparable aux conditions naturelles de terrain. Compte-tenu de la diversité des interactions tique-pathogène, chaque système doit en outre être adapté à l'écologie de la tique et du pathogène considérés (durée de gorgement, mode de recherche de l'hôte vertébré, nombre et diversité des hôtes vertébrés au cours du cycle de développement, morphologie des pièces buccales, récepteurs sensoriels pour l'attachement et le gorgement, substrat du pathogène, possibilités de culture du pathogène...). Outre des techniques plus anecdotiques telles que le gorgement par tubes capillaires ou l'infection expérimentale par micro-injection directe des tiques, le gorgement artificiel sur membrane semble le plus facilement utilisable et le plus proche des conditions dites naturelles. Deux techniques sont classiquement mises en œuvre : le gorgement par le bas (matériel et

mode opératoire simples, plutôt adapté aux tiques molles) et le gorgement par le haut (dérivé des systèmes de gorgement pour insectes, système plus sophistiqué et coûteux mais empêchant la sédimentation des globules rouges du sang, plutôt adapté aux tiques dures plus mobiles). Pour ces deux modèles, la nature de la membrane est déterminante. Alors que des membranes artificielles en parafilm peuvent suffirent au gorgement des tiques molles, il est nécessaire d'utiliser soit des membranes en peau traitée d'animaux soit des membranes artificielles de silicone supplémentées d'attracteurs olfactifs pour les tiques dures. Ces dernières se caractérisent en effet par une durée de gorgement très longue, de quelques jours à quelques semaines, une taille de pièces buccales parfois très importante et une attraction vers l'hôte très fortement liée à la reconnaissance de signaux chimiques émis par l'hôte ou les tiques infestant l'hôte.

**Compétence vectorielle des tiques dans le cycle marin de la borréliose de Lyme: utilisation de PCR en temps réel pour la détection des pathogènes dans des systèmes naturels.**

**Elena GOMEZ-DIAZ et K.D. McCOY (GEMI, UMR 2724 CNRS/IRD, Montpellier)**

Les zoonoses à vecteur impliquent des cycles complexes de transmission qui font intervenir de nombreuses espèces de vecteurs et d'hôtes vertébrés. Du fait de ces réseaux d'interactions vecteur-hôte-pathogène, le rôle relatif des différentes espèces composantes (i.e. vecteurs et hôtes) dans l'épidémiologie des maladies est souvent difficile à étudier. De plus, la détection des pathogènes chez les vecteurs/hôtes potentiels n'est pas toujours facile à cause des limites des techniques disponibles. En effet, des techniques typiquement employées pour la détection des pathogènes (i.e., microscopie 'dark field', culture, tests immunologiques) ne se révèlent pas fiables à 100%. De plus en plus aujourd'hui, la technique hautement sensible de PCR quantitative (qPCR) est employée en parasitologie car elle permet une meilleure probabilité de détection ainsi qu'une estimation de l'intensité d'infection. Dans cette étude, nous employons cette méthode pour tester des hypothèses écologiques et épidémiologiques spécifiques, notamment sur la capacité d'infection de différents types de vecteurs, dans le cycle marin de la borréliose de Lyme. En utilisant trois races de la tique *Ixodes uriae*, recoltées dans des colonies d'hôtes oiseaux marins de 4 sites géographiques, nous avons effectué des analyses de qPCR sur le gène de la flagelline afin d'estimer la prévalence et l'intensité d'infection par la borrelie chez 95 tiques. Pour éviter des biais possibles dus au statut d'engorgement, nous avons contrôlé ce facteur dans les analyses statistiques. L'intensité

d'infection par la borrélie varie significativement entre les trois races de tiques étudiées, mais pas entre les différentes colonies d'une même race. Les tiques récoltées chez les macareux montrent une prévalence et une intensité d'infection plus importante que les autres races (tiques de guillemots et de mouettes tridactyles). Ces résultats pourraient être associés aux différentes capacités de réservoir des hôtes oiseaux, ainsi qu'aux différentes capacités vectorielles des races de tiques. Cette étude suggère que les différences intra-spécifiques entre les populations du vecteur peuvent jouer un rôle clé dans la dynamique de transmission et l'épidémiologie des bactéries dans ce système.

**Réponse immunitaire et maladie de Lyme: variabilité spatiale et temporelle au sein de populations sauvages d'oiseaux non-migrateurs (*Tetrus lyre*) entre 2001 et 2007.**

**Vincent STASZEWSKI (Université de Jyväskylä, Finlande)**

L'impact croissant de l'homme sur son environnement et les changements globaux associés peuvent jouer un rôle important dans l'émergence et re-émergence des maladies. Comment évaluer l'impact de ces changements globaux? Préférer une étude prospective ou plutôt une étude rétrospective sur une échelle de temps relativement importante. Dans ce dernier cas, différents types de données épidémiologiques peuvent être considérés telle que l'analyse de données sérologiques sur des espèces sentinelles. Une espèce sentinelle est une espèce servant d'indicateur biologique, signalant aux épidémiologistes la période d'activité d'un pathogène avant le pic de cas cliniques. Un système modèle est le Tétrus en Finlande centrale = limite nord de l'aire de repartition d'*Ixodes ricinus* en Europe. Des oiseaux ont été échantillonnés dans 11 sites entre 2001 et 2007. Les anticorps anti-Borrelia ont été dosés par ELISA (Enzygnost Dade Behring), et le seuil de positivité a été déterminé par immunoblotting (Virotech). La présence d'individus séropositifs a été détectée durant toute la durée d'étude et sur l'ensemble des sites concernés. Une variabilité selon la classe d'âge et le sexe a été mise en évidence mais dans la zone d'étude considérée, il n'y a pas d'évidence d'un changement sur cinq ans du nombre de cas d'infection d'une maladie à vecteur.

**Approche protéomique de l'interaction arthropode/pathogène, de l'anophèle à la tique.**

**Valérie CHOUMET (Unité de Génétique Moléculaire des Bunyavirus, Institut Pasteur, Paris)**

Les maladies à transmission vectorielles sont la cause d'un grand nombre de maladies infectieuses émergentes ou re-émergentes. Les moyens traditionnels de contrôle des vecteurs ou de l'agent pathogène (vaccin, médicament) se révèlent dans beaucoup de cas peu efficaces ou inaccessibles. Il apparaît donc nécessaire de développer de nouvelles approches permettant de bloquer le pathogène au niveau de son développement chez l'insecte ou lors de la transmission. Nous avons choisi de nous intéresser aux glandes salivaires et à la salive des arthropodes vecteurs. En effet, les glandes salivaires sont soit le lieu de répllication, ou le lieu de maturation ou d'interaction du pathogène avec les composants salivaires, augmentant ainsi le pouvoir infectieux de ce dernier. Par ailleurs, il est maintenant admis que la salive joue un rôle actif dans la transmission des agents pathogènes en modulant la réponse immune de l'hôte. L'approche protéomique descriptive que nous avons menée au moyen de techniques complémentaires (électrophorèse mono et bi-dimensionnelle et identification par spectrométrie de masse) dans le cadre de l'interaction *Anopheles gambiae*/*Plasmodium berghei* a permis l'identification de 122 protéines salivaires, 89 étant décrites pour la première fois. Nous nous sommes également intéressés à l'analyse de la composition différentielle des glandes salivaires en présence du parasite, tant au niveau des protéines que des peptides et nous avons pu identifier plusieurs marqueurs de l'infection parasitaire. Enfin, nous avons décrit de nouvelles activités pharmacologiques dans les glandes salivaires qui varient en fonction de l'état physiologique de la femelle, notamment en fonction de l'infection parasitaire. Ces approches seront utilisées dans l'étude de l'interaction *Ixodes ricinus*/*Borrelia burgdorferi* s.l. au niveau des glandes salivaires de la tique.

### **Les bactéries symbiotiques des tiques : interactions avec les pathogènes vectorisés**

**Zeinab ANNAN, L. ZENNER & F. FLEURY (Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Université Claude Bernard-Lyon I, Villeurbanne)**

Le but du projet mené par l'équipe de Lyon est la caractérisation de la communauté microbienne intra-tique pour plusieurs espèces de tiques en France, avec un intérêt particulier accordé à la tique *I. ricinus*. En utilisant les techniques de PCR spécifiques suivies de séquençage, les différents pathogènes infectant les tiques en France et les bactéries symbiotiques mises en évidence jusqu'à présent chez les acariens et les insectes seront caractérisées au sein des tiques provenant de deux collections réalisées l'une sur animaux domestiques en cliniques vétérinaires (*Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus*, *Rhipicephalus sanguineus*), et l'autre au drapeau longitudinalement pendant un an sur 15 sites en France (*I.*

*ricinus*). Les prévalences et les patrons d'associations (co-occurrence) des différents taxons microbiens seront estimés par des méthodes d'analyse mise au point pour l'étude de l'écologie des communautés d'espèces. D'éventuels patrons de compétition ou d'exclusion entre espèces pourront ainsi être mis en évidence. Les recherches antérieures ont en effet montré que les tiques pouvaient héberger, en parallèle des nombreuses espèces de pathogènes majoritairement acquises horizontalement au cours du repas de sang (parasites, virus ou bactéries), d'autres types de bactéries sans effet pathogène reconnu, transmises verticalement et colonisant de façon spécifique différents tissus de la tique. Ces bactéries dites symbiotiques commencent à être caractérisés chez différentes espèces de tiques dans le monde, et quelques études initiales de prévalence ont montré que certaines d'entre elles étaient présentes dans 100% des tiques femelles examinées. C'est le cas pour les symbiotes récemment découverts *Coxiella* chez la tique *Amblyomma americanum*, et *Midichloria mitochondrii* colonisant les mitochondries chez la tique *I. ricinus*. Les effets de ces symbiotes sur leur hôte arthropode et les interactions mises en place au sein des tiques entre ces espèces bactériennes et les pathogènes vectorisés sont encore très peu connues malgré l'importance cruciale de leurs conséquences éventuelles sur l'épidémiologie des maladies à tiques.

### **Tiques et maladies transmises (TMT) au CIRDES.**

#### **Hassane. ADAKAL (CIRDES, Burkino Faso)**

La première réunion du groupe TMT à laquelle j'ai pris part en novembre 2008 à l'ENVA, m'a donné l'occasion de présenter quelques résultats de dix années de recherches sur les tiques au Burkina Faso avant de présenter mon sujet de thèse. C'est du reste grâce à la collaboration avec le CIRAD et l'IRD, dans le cadre de cette thèse, que j'ai rejoint le groupe. Les résultats présentés sont issus de la thèse de Frédéric Stachurski (CIRDES-CIRAD, 2000). L'étude de la biologie d'*Amblyomma variegatum*, et précisément la connaissance du mode d'invasion des bovins par les adultes de cette tique, a permis le développement d'une méthode de lutte ciblée, le pédiluve acaricide. Le concept repose sur l'élimination des tiques dès leur fixation sur les espaces interdigités des animaux par un bain des pattes dans un bassin contenant une solution acaricide. Le second résultat présenté est basé sur la connaissance de la dynamique de chute des nymphes infestant les animaux. Il a été constaté que 80% des nymphes tombent entre 14h30 et 18h, d'où la possibilité de réduire l'infestation des pâturages par les tiques adultes en gérant les déplacements des animaux en saison sèche. La dernière étude présentée porte sur le diagnostic de la résistance des tiques *Boophilus geigyi* aux acaricides couramment utilisés au Burkina Faso. Il en est ressorti que les spécimens testés sont tous sensibles aux pyréthrinoïdes

de synthèse, principale famille disponible sur les marchés. Enfin, la présentation de mon sujet de thèse portant sur la caractérisation des souches *Ehrlichia ruminantium*, agent de la cowdriose chez les ruminants, m'a permis d'exposer les approches MLST et de phylogénie choisies pour l'étude. Les résultats de cette étude seront éventuellement présenter lors de la prochaine réunion du groupe « tiques ».

### **Portage d'*Anaplasma phagocytophilum* par *Dermacentor marginatus* chez les bovins**

**Guy JONCOUR (SNGTV, Callac)**

L'Ehrlichiose granulocytaire bovine à *Anaplasma phagocytophilum* (EGB), pathologie vectorielle à tiques, essentiellement *Ixodes ricinus* est toujours une maladie sous-diagnostiquée. Très largement ignorée jusqu'en 1998, la présence de l'agent pathogène (et ses effets) est maintenant connu dans 79 départements, soit la cartographie de présence d' *I. ricinus* : 60 à foyers bovins et plus de 900 exploitations, 12 à équins, 4 à chevreuil, 1 à isard et 2 à cas humains, au 1er décembre 2006. Le choix d'une étude en Isère repose, suite à une réunion d'information aux vétérinaires et chasseurs, sur l'existence de (quelques) cas cliniques, de nombreuses sérologies et de 8 espèces artiodactyles sauvages, sentinelles potentielles de la présence de cet agent. 208 tiques de l'espèce *Dermacentor marginatus*, soit 69 mâles et 139 femelles, gorgées ou en cours de gorgement, ont été récoltés -10 à la monte, 198 à la re-descente d'estive- sur les bovins de trois zones de pacage d'altitude, par notre consœur Thésarde Emeline Alboussière, à l'automne 2007, dans les alpages du Sénépi et du Connexe(38). Les échantillons ont été testés en février 2008 par le laboratoire Adia-gène / AES de Saint-Brieuc. 66 purifications d'ADN et PCRs ont été réalisées. Un pourcentage d'infection de ces ectoparasites par *A. phagocytophilum* significatif apparaît, uniquement sur des tiques fixées (sans différences significatives entre mâles et femelles) sur les animaux ayant séjourné dans l'alpage du Sénépy, lieu de collecte principal. Aucune des tiques de « montée » n'est positive. Le % d'infection (positivité) des femelles est de 7,91 à 30,94. Celui des mâles, 7,25 à 24,64. Résultats conséquence d'un « poolage » de ces tiques. Pour *I. ricinus*, le % d'infection va de 2 à 4%. Suite à une enquête SNGTV, seuls 57 adultes à jeun ont pu être récoltés en Meuse (55), à l'automne 2008. Ils sont en cours d'analyse (24 mâles-33 femelles). Un complément d'étude est nécessaire pour connaître la place épidémiologique de cette tique exophile, xérophile, triphasique et ditrope dans son aire de répartition, concernant l'EGB. L'étude est prévue en 2009.

**Distribution et structuration locales des bactéries du complexe *Borrelia burgdorferi* s.l. chez la tique d'oiseaux de mer *Ixodes uriae***

**Muriel DIETRICH, E. GOMEZ-DIAZ et K.D. McCOY (GEMI, UMR 2724 CNRS/IRD, Montpellier)**

Malgré l'importance de la structure locale des populations de micropathogènes pour l'épidémiologie des maladies transmises par un vecteur, l'hétérogénéité spatiale et temporelle de ces populations est souvent négligée. Cette variabilité peut influencer la transmission des micropathogènes et donc jouer un rôle important dans l'épidémiologie de ces maladies. Dans cette étude, nous avons analysé l'effet du temps (années) et de l'espace (falaises) sur la distribution et la structuration génétique locales des bactéries du complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato dans le cycle marin de la maladie de Lyme, qui implique des oiseaux de mers et la tique *Ixodes uriae*. Nous avons testé la présence de la bactérie chez 351 tiques collectées dans une grande colonie de mouettes tridactyles (*Rissa tridactyla*) par amplification du gène de la flagelline. La prévalence d'infection était de 11% ( $\pm 2\%$ ) et variait entre falaises, mais non entre années. Le séquençage des borrelies a révélé la présence de trois espèces : *Borrelia garinii*, *B. burgdorferi* sensu stricto et *B. afzelii*, cette dernière n'a encore jamais été trouvée chez les tiques d'oiseaux de mer. Les souches de *B. garinii*, espèce la plus abondante dans ce système, étaient génétiquement structurées entre falaises mais non entre années. Les résultats de cette étude montrent que la diversité des souches de borrelies qui circulent au sein du cycle marin est importante, même à une échelle locale et que les oiseaux de mer peuvent représenter un réservoir important d'agents pathogènes de la maladie de Lyme. La structure spatiale révélée par nos données est un élément important à prendre en compte dans ce système et plus généralement dans les études épidémiologiques, en particulier dans les protocoles d'échantillonnage visant à estimer des paramètres tels que la prévalence locale, l'abondance ou la diversité.

**Mise en évidence de races d'hôtes chez *Ixodes ricinus***

**Florent KEMPF, T. DEMEEUS, V. TARAGEL'OVA, O. PLANTARD, D. HEYLEN, C. EYRAUD, K.D. McCOY (GEMI, UMR 2724 CNRS/IRD, Montpellier)**

Les tiques sont des vecteurs à large distribution qui transmettent de nombreux agents pathogènes, d'une importance majeure du point de vue médical et économique, et notamment la bactérie responsable de la maladie humaine de Lyme (*Borrelia burgdorferi* sensu lato). Pour ces micropathogènes, la capacité des vecteurs à s'adapter à de nouveaux hôtes, et leur

réponse aux changements dans la structure de la communauté des hôtes peut avoir des conséquences importantes pour leur maintien en populations naturelles. C'est pourquoi nous avons étudié chez *Ixodes ricinus*, le principal vecteur en Europe de *B. burgdorferi* s.l., la structure génétique associée à ses différents hôtes. Cette tique est généralement tenue pour une généraliste extrême dans le choix de ses hôtes. Nous avons mesuré la variation génétique à sept marqueurs microsatellites dans un large échantillon de tiques, collectés directement sur des hôtes piégés (oiseaux, rongeurs, lézards, sangliers et chevreuils), dans cinq sites en Europe de l'Ouest et centrale. À l'aide de ses données, nous avons mis en évidence des niveaux de structure génétique significatifs entre les individus hôtes et les types d'hôtes. Ceci suggère que le choix d'hôtes est loin d'être aléatoire chez *I. ricinus*, et qu'il doit affecter profondément la dynamique de population de ces tiques et la transmission des micropathogènes associés. Ainsi, la susceptibilité des individus hôtes locaux doit moduler la structure génétique à l'intérieur des populations de tiques. De plus, la formation de races d'hôtes de tiques spécialisées doit avoir pour conséquence l'isolement des différents pathogènes locaux, et peut expliquer certaines observations concernant l'épidémiologie de l'agent de la maladie de Lyme. Plus généralement, ces résultats suggèrent que la spécialisation d'hôtes est plus commune chez les tiques qu'on le suggère actuellement, et soulignent l'intérêt de prendre en compte les divergences locales liées aux différents hôtes dans les modèles épidémiologiques des maladies à vecteurs.

## **DISCUSSION GENERALE**

De nombreux points ont été soulevés lors de cette discussion:

### **1) Problème d'incohérence dans le traitement des malades**

Suite à la présentation d'Ambroise CHARRON (Président Lyme France), une discussion s'est ouverte sur comment mieux participer à la diffusion des informations sur les méthodes utilisées en diagnostique. Il a été suggéré de mettre à disposition plus de liens vers des sites informatifs sur notre site internet qui doit être renouvelé en 2009.

### **2) Données sur la distribution des tiques et changements climatiques**

Lors de la planification de cette réunion, F. LAMIOT nous a demandé d'aborder la question de travaux réalisés en France sur les changements climatiques et la distribution des tiques. Des chercheurs étrangers (e.g., Espagne, Angleterre, Canada) ont déjà travaillé sur

cette question, mais les données temporelles de qualité ne sont pas souvent disponibles. Pour faciliter ce genre d'étude, il faut établir une base de données solide. On est plusieurs équipes qui travaillent en population naturelle sur la récolte des tiques, et notamment sur *Ixodes ricinus*. Nous avons donc abordé la question de mettre en place un protocole d'échantillonnage qui pourrait servir de point de départ pour des études longitudinales. On a décidé d'aborder cette idée de manière plus concrète lors de notre prochaine réunion en 2009.

### **3) Mise à jour du site web**

Le groupe TMT dispose depuis ses débuts en 2004 d'un site web dont le lien est le suivant: <http://gemi.mpl.ird.fr/SiteSGASS/GroupeTiqueREID/GroupeTiqueREID.html>.

Ce site présente les différents membres du groupe, leurs coordonnées, les thématiques de recherches et les publications ainsi que les comptes rendus des réunions précédentes. Une mise à jour sera effectuée prochainement avec la mise en place des liens vers des sites informatifs pour le grand public.

### **4) Productions scientifiques**

Il a été souligné que toutes publications associées aux échanges au sein de notre groupe de travail devraient remercier le REID.

### **5) Réunion TMT 2009**

Frédéric FLEURY et Lionel ZENNER ont accepté le principe d'une organisation de la réunion à l'Université Claude Bernard à Lyon en novembre/décembre 2009. La prochaine réunion prendra le même format que les précédentes, un format relativement informel qui favorise les discussions. Néanmoins, l'idée de faire des revues sur différentes thèmes d'actualité sur l'écologie et l'évolution des tiques et les pathogènes qu'elles transmettent a été proposée par Nathalie BOULANGER. Nous avons adopté cette idée pour les deux ateliers de notre prochaine réunion (les sujets sont à définir).

### **6) Petits groupes de travail**

La réunion s'est achevée avec la répartition des membres en petits groupes de travail pour faire avancer les collaborations en cours. Par exemple, Muriel CORNET, Elisabeth FERQUEL, Elena GOMEZ-DIAZ, Nathalie SERTOUR, Martine GARNIER et Karen McCOY ont profité de l'occasion pour faire une mise à jour de leur collaboration sur la diversité des borrelies présentes dans le cycle marin de la borreliose de Lyme. Christine

CHEVILLON et Hassane ADAKAL ont également pris l'occasion de discuter de leur travail sur la diversité d'*Ehrlichia ruminantium*, agent de la cowdriose, chez les ruminants en Burkino Faso.

## Annexe I: BILAN FINANCIER du TMT 2008

<b>CREDITS*</b>	<b>4000</b>	(REID)
<b>DEPENSES</b>	<b>4337</b>	
<b>SOLDE</b>	<b>-337</b>	

Participant	Voyage	hotel	dej1	Dej2	Diner	Musee	Total
Annan Zeinab	104	0	16	16	10.3	4.5	150.80
Bastian Suzanne	82	108	16	16	10.3	4.5	236.80
Bonnet Sarah	0	0	0	0	0	0	0
Boulangier Nathalie	98	0	16	16	10.3	4.5	144.80
Boulinier Thierry	132	0	16	16	10.3	4.5	178.80
Boulouis Henri-Jean	0	0	0	0	0	0	0
Chapuis Jean-Louis	0	0	16	0	0	0	16.00
Chevillon Christine	0	0	16	16	10.3	4.5	46.80
Choumet Valérie	0	0	16	16	0	0	32
Cornet Muriel	0	0	16	0	0	0	16
Degeilh Brigitte	78	108	16	16	10.3	4.5	232.80
deMeeus Thierry	97	0	16	16	0	0	129.00
Dietrich Muriel	100	174	16	16	10.3	4.5	320.80
Ferquel Elizabeth	0	0	16	16	10.3	4.5	46.80
Fleury Fred	120	87	16	16	10.3	4.5	253.80
Garnier Martine	0	0	16	16	10.3	4.5	46.80
George Jean-Claude	100	87	16	16	10.3	4.5	233.80
Gomez-Diaz Elena	72	0	16	16	10.3	4.5	118.80
Halos Leinag	0	0	16	16	10.3	4.5	46.80
Huber Karine	0	0	16	16	10.3	4.5	46.80
Jouglin Maggy	82	0	16	16	10.3	4.5	128.80
Kempf Florent	150	0	16	16	0	4.5	186.50
Malandrin Laurence	82	0	16	16	10.3	4.5	128.80
Marsot Maud	60	0	16	16	10.3	4.5	106.80
Masségli Sébastien	60	0	16	16	10.3	4.5	106.80
McCoy Karen	96	0	16	16	10.3	4.5	142.80
Nourredine Rim	0	0	16	16	10.3	4.5	46.80
Plantard Olivier	82	108	16	16	10.3	4.5	236.80
Reil Caroline	0	0	16	16	10.3	4.5	46.80
Roy Lise	112	0	16	16	10.3	4.5	158.80
Sertour Natacha	0	0	16	16	0	0	32.00
Staszewski Vincent	0	0	16	16	10.3	4.5	46.80
Vayssier-Taussat Muriel	0	0	16	16	10.3	4.5	46.80
Vial Laurence	111	0	16	16	10.3	4.5	157.80
Vourc'h Gwenaël	60	0	16	16	0	0	92.00
Zenner Lionel	120	0	16	16	10.3	4.5	166.80
Maillard Renaud	0	0	0	0	10.3	0	10.30
Adakal Hassane	0	0	16	16	10.3	4.5	46.80
Joncour Guy	87	0	16	16	10.3	4.5	133.80
Charron Ambroise	0	0	16	0	0	0	16.00
	<b>2085</b>	<b>672</b>	<b>592</b>	<b>544</b>	<b>309</b>	<b>135</b>	<b>4337</b>

Annexe II: Programme de la Réunion Annuelle du Groupe TMT  
**27- 28 novembre 2008, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort**

*Le 27 novembre :*

9h30h-10h00	Accueil des participants	
10h00-10h15	Introduction	Déroulement et présentation des nouveaux membres
10h15-11h15	Atelier	Combiner des tests: Bonferroni, Fisher, Binomial, SGM ou Z? Applications aux tiques et aux maladies transmises ( <u>T. De Meeûs</u> )
11h15-11h35	Communication	Variation des charges en tiques chez le tamia de Sibérie ( <i>Tamias sibiricus</i> ) en fonction des saisons, du sexe et de l'âge en forêt de Sénart ( <u>Chapuis, J.-L., Pisanu, B., Marmet, J., &amp; G. Vourc'h</u> )
11h35-11h55	Communication	Dynamique temporelle de l'infection par <i>Borrelia burgdorferi</i> sl des petits rongeurs en forêt de Sénart ( <u>M. Marsot, J. Marmet, S. Masségli, P. Gasqui, J.-L. Chapuis, G. Vourc'h</u> )
11h55-12h15	Communication	Un index de végétation en bordure de pâture est lié à la densité de tiques et reflète le risque de séroprévalence élevée dans des troupeaux de vaches laitières." (A. Agoulon, L. Malandrin, F. Lepigeon, M. Vénisse, S. Bonnet, C. Becker, T. Hoch, M.L'Hostis, <u>S. Bastian, O. Plantard, &amp; F. Beaudou</u> )
12h15-14h00	Déjeuner	
14h00-14h30	Communication	TMT en médecine générale ( <u>J.C. Georges</u> )
14h30-14h50	Communication	Lyme France ( <u>A. Charron</u> )
14h50-15h10	Communication	Les Babesia des Cervidés en Europe transmises par <i>Ixodes ricinus</i> (C.Becker, M. Jouglin, Y. Sun, N.Brisseau, A. Bouju-Albert, A. Chauvin, <u>L. Malandrin</u> )
15h10-15h30	Communication	Méthodes de gorgement artificiel des tiques molles et dures et tests de compétence vectorielle ( <u>L. Vial</u> )
15h30-15h50	Communication	Compétence vectorielle des tiques dans le cycle marin de la borréliose de Lyme: utilisation de PCR en temps réel pour la détection des pathogènes dans des systèmes naturels ( <u>E. Gomez-Diaz &amp; K. McCoy</u> )
15h50-16h30	Pause	
16h30-18h00	Comptes-rendus des réunions Nationales/Internationales	TTP-6 (C. Chevillon, S. Bonnet); EMOP (N. Boulanger, T. de Meeûs); EURAAC (K. McCoy; L. Vial); ZooRisq (G. Vourc'h); MEEGID (T. deMeeûs; E. Gomez-Diaz) ; CIRAD-Interaction vecteur/agents pathogènes (M. Vayssier-Taussat)
18h00-19h00	Visit	Musée Fragonard
19h00-	Diner	

Le 28 novembre:

9h00-10h00	Atelier	"Pouvoir immunomodulateur de la salive des arthropodes dans les maladies à transmission vectorielle: l'exemple de la maladie de Lyme" ( <u>N. Boulanger</u> )
10h00-10h30	Pause	
10h30-10h50	Communication	Réponse immunitaire et maladie de Lyme: variabilité spatiale et temporelle au sein de populations sauvages d'oiseaux non-migrateurs ( <i>Tetrax lyre</i> ) entre 2001 et 2007. ( <u>V. Staszewski</u> )
10h50-11h20	Communication	Approche protéomique de l'interaction arthropode/pathogène, de l'anophèle à la tique. ( <u>V. Choumet</u> )
11h20-11h40	Communication	Les bactéries symbiotiques des tiques : interactions avec les pathogènes vectorisés ( <u>Z. Annan, L. Zenner &amp; F. Fleury</u> )
11h40-12h00	Communication	Etude de la structuration des populations d' <i>Ehrlichia ruminantium</i> : application à la formulation et à l'évaluation d'un vaccin efficace contre la cowdriose ( <u>H. Adakal</u> )
12h00-14h00	Déjeuner	
14h00-14h20	Communication	Portage de <i>Anaplasma phagocytophilum</i> par <i>Dermacentor marginatus</i> chez les bovins ( <u>G. Joncour</u> )
14h20-14h40	Communication	Distribution et structuration locales des bactéries du complexe <i>Borrelia burgdorferi</i> s.l. chez la tique d'oiseaux de mer <i>Ixodes uriae</i> ( <u>M. Dietrich, E. Gomez-Diaz &amp; K. McCoy</u> )
14h40-15h00	Communication	Mise en évidence de races d'hotes chez <i>Ixodes ricinus</i> ( <u>F. Kempf, T. deMeeûs, V. Taragel'ova, O. Plantard, D. Heylen, C. Eyraud, K.D. McCoy</u> )
15h00-15h30	Discussion générale	Sujets spécifiques et planification de la prochaine réunion
15h30-16h00	Pause	
16h00-18h00	Groupes de discussion	Rédaction d'articles, Montage des projets