

Etude des tiques et maladies transmises en milieu insulaire méditerranéen ; l'exemple du cheptel bovin corse

GRECH-ANGELINI S. (1) (2), STACHURSKI F. (3), MOUTAILLER S. (4), BOISSIER J. (5), VAYSSIER-TAUSSAT M. (4), LANCELOT R. (3), ALLIENNE J-F (5), DEVILLIERS E. (4), MAESTRINI O. (1), MARCO S. (6), UILENBERG G. (7)

(1) INRA (UR045), Corte (Sebastien.Grech-Angelini@inra.fr)

(2) CHR (Corsican Health Research), Corte

(3) CIRAD, UMR CMAEE, Montpellier

(4) UMR BIPAR, Laboratoire de Santé Animale, ANSES, Maisons-Alfort

(5) Université de Perpignan Via Domitia, IHPE UMR 5244, CNRS, IFREMER

(6) Université de Corse, Corte

(7) «A Surgente», Cargèse

RESUME - Les tiques et les agents pathogènes qu'elles transmettent n'avaient fait l'objet d'aucune étude exhaustive en Corse. Le cheptel bovin insulaire, élevé dans un état de "semi-liberté", est apparu comme un modèle approprié pour faire un premier état des lieux. Durant une année, 1 938 tiques ont été collectées dans les trois abattoirs bovins de l'île. Huit espèces de tiques ont été identifiées : *Rhipicephalus (Rh.) bursa* (56% des tiques prélevées), *Hyalomma (Hy.) marginatum* (21%), *Hy. scupense* (9%), *Ixodes (I.) ricinus* (6%), *Haemaphysalis (Ha.) punctata* (5%), *Rh. sanguineus sensu lato* (2%), *Rh. (Boophilus) annulatus* (0,7%) et *Dermacentor (D.) marginatus* (0,3%). Le taux d'infestation des bovins est resté élevé toute l'année, et plusieurs espèces de tiques ont montré des variations saisonnières de leur activité. Des collectes sur d'autres espèces de ruminants ont permis d'identifier une espèce supplémentaire, *Ha. sulcata*, et quelques préférences d'hôtes.

Une puce à PCR à temps réel à haut débit a permis la recherche de 39 agents pathogènes (27 bactéries et 12 espèces de parasites) dans des pools composés de une à cinq tiques. Plus de 55% des pools étaient porteurs d'au moins un micro-organisme potentiellement pathogène. Les bactéries du genre *Rickettsia* (34%) ont été les plus souvent identifiées, suivies par celles du genre *Anaplasma* (22%) et *Borrelia* (8%) et par les parasites du genre *Babesia* (3%). Le virus de la fièvre hémorragique de Crimée Congo (CCHF) et le parasite *Theileria annulata* ont été recherchés individuellement dans leur tique vectrice respective avec un résultat négatif dans les deux cas.

Ticks and tick-borne pathogens on a Mediterranean island environment: the Corsican cattle

GRECH-ANGELINI S. (1) (2), STACHURSKI F. (3), MOUTAILLER S. (4), BOISSIER J. (5), VAYSSIER-TAUSSAT M. (4), LANCELOT R. (3), ALLIENNE J-F (5), DEVILLIERS E. (4), MAESTRINI O. (1), MARCO S. (6), UILENBERG G. (7)

(1) INRA (UR045), Corte, France (Sebastien.Grech-Angelini@inra.fr); (2) CHR (Corsican Health Research), Corte, France

SUMMARY - Neither the local tick fauna nor the pathogens they transmit have been systematically investigated on the French Mediterranean island of Corsica. Cattle were chosen as a model host to investigate the Corsican tick fauna because its animal husbandry system is still of a very extensive type. For one year, 1,938 ticks were collected from cattle in the three Corsican cattle slaughterhouses. Eight tick species were found infesting cattle: *Rhipicephalus bursa* (56%), *Hyalomma marginatum* (21%), *Hyalomma scupense* (9%), *Ixodes ricinus* (6%), *Haemaphysalis punctata* (5%), *Rhipicephalus sanguineus* group (2%), *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* (0.7%) and *Dermacentor marginatus* (0.3%). The cattle infestation rate remained high all year and several tick species showed seasonal variation of their activity. Comparing ticks found on cattle with those collected occasionally on other animals, several host preferences were shown and another species, *Haemaphysalis sulcata*, was found.

A real-time PCR chip (Biomark™ Fluidigm) was used for high-throughput microfluidic real-time PCR amplification. This advanced methodology permitted the simultaneous detection of 27 bacterial and 12 parasitic species in pools consisting of one to five ticks. More than 55% of the pools were contaminated by at least one potentially pathogenic microorganism. Bacteria from the genus *Rickettsia* were the most frequently identified (34%), followed by the genus *Anaplasma* (22%) and *Borrelia* (8%) and by the parasitic agent from the genus *Babesia* (3%). The Crimean-Congo haemorrhagic fever (CCHF) virus and the parasitic agent *Theileria annulata* were sought individually in their respective vector species, and both results were negative.

INTRODUCTION

L'importance médicale des tiques résulte le plus souvent bien plus de leur rôle comme vecteur d'agents pathogènes que de leurs effets directs sur la santé (spoliation de sang, blessures). Elles sont le premier vecteur d'agents pathogènes

animaux dans le monde (Nicholson et al., 2009) et le second, après les moustiques, en santé humaine (Parola et al., 2001). La Corse est la quatrième île méditerranéenne par sa taille mais c'est aussi la plus montagneuse et la plus boisée. C'est une région de tourisme (trois millions de visiteurs par an pour une population de 320 000 habitants), de randonnée, de

chasse et d'élevage. Avec 65 000 bovins, 95 000 ovins, 35 000 caprins et 50 000 porcins, l'élevage y est une activité économique importante. Il est de type extensif, notamment pour les bovins qui sont maintenus en extérieur toute l'année. Ces caractéristiques favorisent les interactions entre l'homme, les animaux domestiques et la faune sauvage, créant ainsi un contexte propice à la circulation des agents zoonotiques parmi lesquels ceux transmis par les tiques. Cette étude menée sur un an révèle les différentes espèces de tiques infestant le cheptel bovin et les agents pathogènes qu'elles transportent. Quelques comparaisons sont faites avec les tiques collectées sur d'autres espèces de ruminants.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1 COLLECTE DES TIQUES

Les tiques ont été collectées, durant une année (de mai 2014 à mai 2015) dans les trois abattoirs bovins de l'île sur une base mensuelle (Fig. 1). A chaque visite, la peau d'une quinzaine de bovins était entièrement inspectée, juste après l'arrachage du cuir. Les tiques présentes étaient prélevées manuellement (toutes si leur nombre était inférieur à 10, sinon une dizaine était échantillonnée). Le système d'identification national par boucle auriculaire a permis de retrouver la commune d'origine des animaux ainsi que leurs propriétaires. La localisation précise des zones de pâturages a été déterminée par de courts entretiens avec les éleveurs.

Les tiques des ovins et des caprins ont été collectées mensuellement (de mai à août 2014) dans trois élevages de l'île pour chaque espèce (deux en Haute-Corse, un en Corse-du-Sud). Les tiques de mouflons et de cerfs ont été prélevées de façon ponctuelle respectivement par les agents de l'ONCFS (office national de la chasse et de la faune sauvage) et du PNRC (parc naturel régional de la Corse) dans le cadre d'un protocole de suivi par GPS.

1.2 IDENTIFICATION DES TIQUES

Les tiques ont été conservées dans de l'éthanol à 70% à -20°C jusqu'à leur identification réalisée à l'aide d'un stéréomicroscope et en utilisant les clefs d'identification morphologiques adaptées (Estrada-Peña et al., 2004 ; Pérez-Eid, 2007). Pour certaines espèces de tiques, jamais décrites en Corse ou impossible à distinguer sur les seuls critères morphologiques, une identification par biologie moléculaire a été nécessaire. Les marqueurs génétiques COI (Cytochrome c oxydase sous-unité I) et ITS2 (*Internal transcribed spacer 2*) ont été utilisés pour l'espèce *H. scupense* (Grech-Angelini et al. (a), 2016), alors que l'ADN mitochondrial ribosomique 16S a servi pour classifier les tiques du groupe *R. sanguineus* sensu lato (Grech-Angelini et al. (b), 2016).

1.3 RECHERCHE DES AGENTS PATHOGENES

Des pools comprenant une à cinq tiques ont été constitués selon l'espèce, le lieu d'origine et l'hôte. Après extraction du matériel génétique, comme décrit par Michelet et al. (2014), une puce à PCR à temps réel à haut débit (BiomarkTM, Fluidigm) a été utilisée pour la recherche de 26 bactéries des genres *Borrelia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Rickettsia*, *Bartonella*, *Francisella*, *Coxiella* et de *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, et de 12 espèces de parasites des genres *Babesia* et *Theileria*. Le virus de la fièvre hémorragique de Crimée Congo (CCHF) ainsi que *Theileria annulata*

(responsable de la theilériose tropicale bovine) ont été recherchés individuellement par RT-qPCR respectivement dans les pools constitués de *Hy. marginatum* et de *Hy. scupense*, les tiques vectrices de ces deux agents pathogènes.

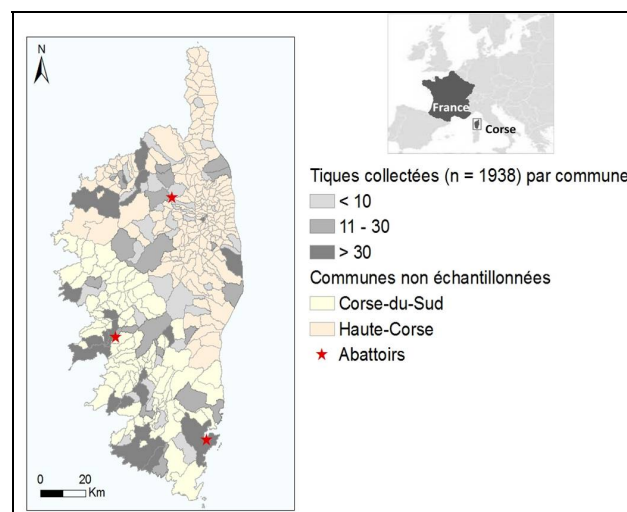


Figure 1. Localisation des tiques collectées sur le cheptel bovin

2. RESULTATS

2.1. TAUX D'INFESTATION ET ESPECES DE TIQUES COLLECTEES

De mai 2014 à mai 2015, 418 bovins provenant de 161 exploitations situées sur 74 communes ont été inspectés. Le taux d'infestation est resté élevé toute l'année, variant de 49% en janvier-février à 71% en mai-juin. Un total de 1 938 tiques a été collecté (1 081 mâles, 637 femelles et 220 nymphes) et huit espèces de tiques ont été identifiées (Tab. 1). *Rhipicephalus bursa* et *Hy. marginatum* ont été les deux espèces majoritaires. *Hyalomma scupense*, *I. ricinus* et *Ha. punctata* ont aussi régulièrement été identifiées alors que trois autres espèces (*Rh. sanguineus* sensu lato, *Rh. (B.) annulatus* et *D. marginatus*) ont plus rarement été prélevées (Grech-Angelini et al. (b), 2016).

2.2. IDENTIFICATION MOLECULAIRE

La présence de *Hy. scupense*, dont c'était la première description sur l'île, a été confirmée par analyse moléculaire (Grech-Angelini et al. (a), 2016). Onze spécimens, morphologiquement identifiés, ont montré une distance génétique de 0,7% avec les *Hy. scupense* référencées dans GenBank aussi bien par ITS2 que COI. Concernant les tiques du groupe *Rh. Sanguineus* sensu lato, dont certaines espèces sont quasiment impossibles à distinguer morphologiquement (Nava et al., 2015), cinq individus ont été séquencés pour l'ADN mitochondrial ribosomique 16s. Un seul haplotype a été identifié (Grech-Angelini et al. (b), 2016), assimilé à une unité taxonomique opérationnelle (OTU9) sur les neufs que comprend la nouvelle classification phylogénétique proposée pour ce groupe par Hekimoğlu et al. (2016).

Tableau 1. Espèces des tiques ayant infesté les bovins corses

Espèce	Individus collectés	%
<i>Rh. bursa</i>	1 087	56,1
<i>Hy. marginatum</i>	417	21,5
<i>Hy. scupense</i>	168	8,7
<i>I. ricinus</i>	110	5,7
<i>Ha. punctata</i>	94	4,8
<i>Rh. sanguineus</i> s.l.	45	2,3
<i>Rh. (B.) annulatus</i>	13	0,7
<i>D. marginatus</i>	4	0,2

2.3. FACTEURS DE VARIATION DE LA PRESENCE DES TIQUES

Rhipicephalus bursa et *Hy. marginatum* ont été collectées toute l'année avec un pic d'activité de mai à août pour la première et de mars à juin pour la seconde (Grech-Angelini et al. (b), 2016 ; Fig. 2). *Hyalomma scupense* a été collectée de novembre à mai avec un pic d'activité de janvier à avril. Plus de 90% des *I. ricinus* ont été prélevées en septembre-octobre et *Ha. punctata* a infesté les bovins de septembre à avril. Plus de 60% des tiques ont été trouvées sur des bovins élevés à une altitude comprise entre 200 et 600 m, à l'exception d'*I. ricinus* dont plus de 80% des individus ont infesté des bovins vivant à plus de 600 m d'altitude.

Les collectes sur les autres espèces de ruminants présentes sur l'île ont mis en évidence un tropisme de *Rh. bursa* pour les petits ruminants (98% des 393 tiques collectées) mais avec des taux d'infestation beaucoup plus faibles que chez les bovins (4% et 28% respectivement pour les ovins et les caprins). Les mouflons ont été infestés principalement par *Rh. bursa* (90% des 140 tiques) et quatre *Ha. sulcata* ont été identifiées, espèce uniquement retrouvée sur cet hôte en Corse (confirmation par biologie moléculaire sur un individu, en utilisant l'ADN mitochondrial ribosomique 16s ; Grech-Angelini et al. (b), 2016). Les 14 individus prélevés à l'automne 2014 sur un cerf étaient des *I. ricinus*.

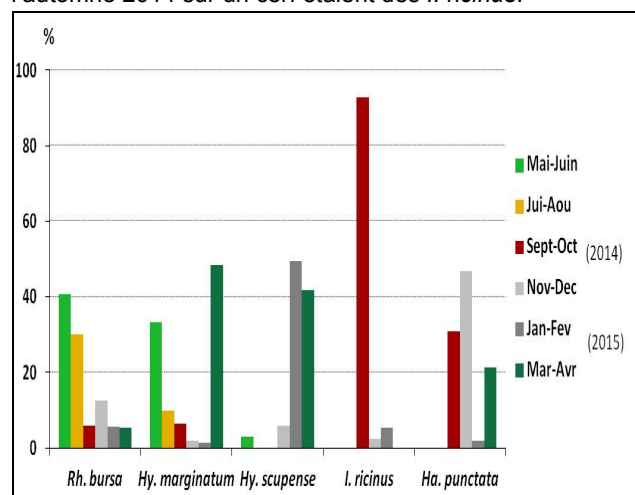


Figure 2. Saisonnalité (par période de 2 mois) des principales espèces de tiques collectées sur bovins

2.4. AGENTS PATHOGENES IDENTIFIES

Un total de 404 pools (886 tiques de bovins) a été analysé. Pour l'ensemble des tiques, 55% des pools étaient porteurs d'au moins un micro-organisme potentiellement pathogène (Tab. 2). Les bactéries du genre *Rickettsia* (*R.*) étaient les plus présentes (34% des pools), trois espèces ont été formellement identifiées : *R. aeschlimanii* (28%), *R. slovaca* (7%) et *R. helvetica* (3%) et 11% des *Rickettsia* spp. n'ont pu être rattachées à une espèce connue. Les bactéries du genre *Anaplasma* ont été retrouvées dans plus de 20% des pools et deux espèces étaient présentes : *A. phagocytophilum* (18%) et *A. marginale* (5%). Le genre *Borrelia* a aussi fréquemment été identifié (8%) et trois espèces sont reportées dans les tiques corses : *B. garinii* (0,7%), *B. afzelii* (1%) et *B. myamotoi* (0,5%). Dans 80% des cas, l'espèce du genre *Borrelia* n'a pu être associée à une espèce référencée dans Genbank. Les parasites du genre *Babesia* (uniquement *B. bigemina*) sont signalés dans près de 3% des pools. Les bactéries du genre *Bartonella* étaient présentes dans plus de 2% des échantillons avec l'espèce *B. henselae*. *Theileria equi* a été signalé dans un pool. Les recherches individuelles du virus CCHF et des espèces du genre *Theileria*, dont *T. annulata*, se sont révélées négatives (Grech-Angelini et al. (c), 2016). Les pools de tiques prélevées sur les caprins et les ovins étaient porteurs d'au moins un micro-organisme respectivement pour 47% (dont 90% de *Rickettsia* spp.) et 75% (uniquement *Rickettsia* spp.) d'entre eux.

3. DISCUSSION

L'utilisation du cheptel bovin comme modèle d'étude s'est révélée relativement efficace : le taux d'infestation des animaux a été élevé toute l'année (bien supérieur à celui des petits ruminants) et sur les neuf espèces de tiques identifiées en Corse, huit ont infesté les bovins. Le mode d'élevage de ces animaux, vivant en extérieur toute l'année, sans étable et peu soumis aux traitements acaricides, en fait donc de bonnes proies pour les tiques actives dans l'environnement. En France continentale, les espèces les plus présentes sont selon les régions, *I. ricinus*, *D. marginatus*, *D. reticulatus*, *Ha. punctata* et *Rh. bursa* (Pérez-Eid, 2007 ; Agoulon et al., 2012). Ce profil apparaît bien différent de ce qu'a révélé cette étude sur la situation corse. Ce sont deux espèces typiquement méditerranéennes, *Rh. bursa* et *Hy. marginatum*, qui ont été le plus souvent collectées en Corse. La découverte de *Hy. scupense* était moins attendue car, mis à part quelques très rares descriptions en Europe occidentale, c'est une espèce habituée aux zones plus sèches (Grech-Angelini et al. (a), 2016). Bien que sa présence soit cantonnée aux aires montagneuses de l'île, *I. ricinus*, une espèce typique des zones humides, a aussi souvent été prélevée. Par ces différentes caractéristiques, le profil des espèces de tiques corses se distingue des régions méditerranéennes voisines comme la Sardaigne, la Sicile ou l'Italie continentale (Grech-Angelini et al. (b), 2016).

Les recherches spécifiques concernant les tiques du genre *Hyalomma* s'étant révélées négatives, le risque d'émergence de la theilériose bovine tropicale due à *T. annulata* (principale maladie affectant le cheptel bovin nord-africain) et du virus CCHF (agent zoonotique dont le taux de létalité est compris entre 5% et 80%, Dreshaj et al., 2016) est pour le moment écarté. Concernant les principaux agents pathogènes identifiés, l'anaplasmose granulocytaire bovine (ou « fièvre

des pâtures») due à *A. phagocytophilum* ainsi que l'anaplasmose bovine (*A. marginale*) avaient déjà été signalées sur l'île (ICTTD, 2000). Pour les espèces du genre *Rickettsia* (responsables des fièvres boutonneuses humaines), du genre *Borrelia* (maladie de Lyme et fièvres récurrentes), mais aussi pour *A. phagocytophilum* chez l'homme (anaplasmose granulocytaire humaine), *Babesia bigemina* (babésiose bovine) et *Bartonella henselae* (maladie des griffes du chat chez l'homme), très peu de connaissances avaient été acquises jusqu'à aujourd'hui en Corse. La présence, en grand nombre, de ces micro-organismes dans les tiques n'était pas soupçonnée et leur probable circulation chez l'homme et l'animal doit aujourd'hui interroger les acteurs de la santé animale et de la santé publique. D'autre part, les nombreux agents pathogènes zoonotiques présents dans les tiques collectées en Corse étant souvent asymptomatiques chez l'animal (*Rickettsia* spp., *Borrelia* spp.), l'existence de multiples réservoirs animaux pour ces agents pathogènes humains est sérieusement à envisager.

CONCLUSION

Cette étude a permis d'identifier neuf espèces de tiques, appartenant à cinq genres, dont huit ont infesté le cheptel bovin corse. Le profil des tiques collectées en Corse se caractérise à la fois par la domination de *Rh. bursa* et de *Hy. marginatum*, deux espèces typiquement méditerranéennes, et par l'existence de populations établies de *Hy. scupense*, une tique habituellement rencontrée dans les zones sèches, et d'*I. ricinus*, une espèce des zones humides. La présence de nombreux agents pathogènes animaux et/ou humains dans les tiques met en avant un risque direct pour la santé animale et un risque indirect, en termes de santé publique, par l'existence suspectée de nombreux réservoirs animaux d'agents pathogènes zoonotiques.

Tableau 2. Micro-organismes identifiés dans les pools de tiques de bovins (Grech-Angelini et al. (c) 2016)

Les auteurs remercient l'ensemble des acteurs locaux (personnel d'abattoirs, vétérinaires, ONCFS, PNRC, LDA2A, LDA2B) pour leur aide précieuse dans la collecte des tiques.

Espèce	Tiques par pool	Pools analysés	% contaminés	Principaux micro-organismes
<i>Rh. bursa</i>	4 - 5	54	57%	<i>Rickettsia</i> sp. (37%), <i>B. bigemina</i> (17%), <i>A. marginale</i> (15%), <i>A. phagocytophilum</i> (11%)
<i>Hy. marginatum</i>	2 - 5	67	67%	<i>Rickettsia</i> sp. (100%), <i>A. marginale</i> (7%) <i>Borrelia</i> sp. (4%)
<i>Hy. scupense</i>	1	135	19%	<i>Rickettsia</i> sp. (15%), <i>Borrelia</i> sp. (3%) <i>A. phagocytophilum</i> (2%),
<i>I. ricinus</i>	1	98	80%	<i>A. phagocytophilum</i> (59%), <i>Rickettsia</i> sp. (22%), <i>Borrelia</i> sp. (15%), <i>B. henselae</i> (3%)
<i>Ha. punctata</i>	1 - 5	26	38%	<i>Borrelia</i> sp. (19%), <i>A. phagocytophilum</i> (8%), <i>A. marginale</i> (8%)
<i>Rh. sanguineus</i> s.l.	2 - 5	9	67%	<i>Rickettsia</i> sp. (67%), <i>A. marginale</i> (33%), <i>A. phagocytophilum</i> (11%),
<i>Rh. (B.) annulatus</i>	1	11	45%	<i>A. marginale</i> (18%), <i>Rickettsia</i> sp. (18%), <i>B. henselae</i> (9%), <i>T. equi</i> (9%)
<i>D. marginatus</i>	1	4	25%	<i>Rickettsia</i> sp. (25%)

Agoulon A, Plantard O. 2012. Point Vet (numéro spécial) 2110-5154, 118-123.

Dreshaj S, Ahmeti S, Ramadani N, Dreshaj G, Humolli I, Dedushaj I. 2016. Travel Med Infect Dis. 2016; 14: 81-9.

Estrada-Peña A, Bouattour A, Camicas JL, Walker AR. 2004. Ticks of Domestic Animals in the Mediterranean Region: A Guide to Identification of Species. University of Zaragoza. Spain. 131 pp.

Grech-Angelini S, Stachurski F, Lancelot R, Boissier J, Allienne JF, Gharbi M, Uilenberg G. 2016 (a). Vet Parasitol. 216: 33-37.

Grech-Angelini S, Stachurski F, Lancelot R, Boissier J, Allienne J-F, Marco S, Maestrini O, Uilenberg G. 2016 (b). Accepted Parasit Vectors.

Grech-Angelini S., Moutailler S. et al. 2016 (c). Tick-borne pathogens in ticks collected from different hosts on a Mediterranean island environment (Corsica, France). Résultats non publiés.

Hekimoğlu O, Sağlam İk, Özer N, Estrada-Peña A. 2016. Ticks and Tick-borne Dis. Vol 7, Issue 5 : 798–807

ICTTD Newsletter. 2000. ICTTD 14 : 13 (ISSN: 1385-3422)

Michelet L, Delannoy S, Devillers E, Umhang G, Aspan A, Juremalm M, Chirico J, J vander Wal F, Sprong H, P Boye Pihl T, Klitgaard K, Bødker R, Fach P, Moutailler S. 2014. Cellular and infection microbiology; 103.

Nicholson WL, Sonenshine DE, Lane RS, Uilenberg G. 2009. Medical and veterinary entomology. Second edition. Academic Press. 493-542.

Nava S, Estrada-Peña A, Petney T, Beati L, Labruna MB et al. 2015. Vet Parasitol ; 208: 2-8.

Parola P, Raoult D. 2001. Clin Infect Dis 2001;32:897-928.

Pérez-Eid C. 2007. Les tiques. Identification, biologie, importance médicale et vétérinaire. Lavoisier, Ed; TEC&DOC, 314 pp.