Université de Perpignan Via Domitia
Master 2 Biodiversité, Ecologie et Evolution
Parcours « Biodiversité et Développement Durable »

Figure 1: Photographie d'une nymphe *Ixodes ricinus* en vue dorsale au grossissement x50

© Océane CLAUDE

Evaluation des risques épidémiologiques associés aux tiques en zone urbaine : Cas des parcs urbains de Seine–Saint–Denis

Océane CLAUDE

2019 – 2020
Sous la direction de Matthieu BASTIEN
Directeur adjoint Chargé des missions scientifiques et techniques

Entente de Lutte et d'Intervention contre les Zoonoses (ELIZ)
Bâtiment G, Domaine de Pixérécourt, 54220 Malzéville

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Franck DAVID, président de l'Entente de Lutte et d'Intervention contre les Zoonoses d'avoir permis mon accueil au sein de sa structure.

Je tiens également à remercier Benoît COMBES, directeur, qui a eu la gentillesse de m'accueillir au sein de son service.

Je tiens ensuite à remercier Matthieu BASTIEN, directeur adjoint chargé des missions scientifiques et techniques, qui m'a encadrée tout au long de ce stage et qui m'a fait confiance pour mener à bien l'ensemble de cette étude. De plus, je le remercie pour son implication dans cet écrit.

Je remercie également Margot LE GUILLOUX, chargée de mission, ainsi qu'Albane DURAND, apprentie, pour m'avoir accompagnée lors de certaines collectes.

Je remercie Karim DAOUD, directeur du Laboratoire Régionale de Suivi de la Faune Sauvage, de m'avoir permis de réaliser les extractions dans son laboratoire et de m'avoir conseillée pour les différentes manipulations à réaliser.

Je tiens également à remercier Sara MOUTAILLER, cheffe de projet Recherche à l'ANSES Maisons-Alfort, pour son implication dans cette étude et notamment pour son aide lors des identifications.

Je remercie Clémence GALON, chargée de projet scientifique et technique à l'ANSES Maisons-Alfort, pour sa collaboration dans la réalisation des analyses moléculaires ainsi que pour ces explications très claires.

Enfin, je tiens à remercier tous les gestionnaires, les techniciens ainsi que tous les éco-gardes des parcs départementaux et de la forêt pour leur implication dans cette étude ; Marilyne BARRE, Bruno BOSHI, Michaël DUCLOS, Gauthier MALHERBE, Pierre MARTIN, Benoît PINSSEAU et leurs équipes. Je remercie également Laure HUGUENARD, chargée d'études scientifiques à l'Observatoire Départemental de la Biodiversité Urbaine (ODBU), qui nous a permis de mener à bien cette étude.

Contexte du stage

J'ai eu la chance de réaliser mon stage au sein du service technique de l'Entente de Lutte et d'Intervention contre les Zoonoses (ELIZ), une collectivité territoriale travaillant avec plusieurs départements adhérents. Initialement créée pour contrôler et surveiller la rage, l'ELIZ a aujourd'hui un rôle clé dans la surveillance épidémiologique des zoonoses sur les territoires. Plusieurs programmes sont menés par cette structure, portant sur l'échinococcose alvéolaire, la leptospirose, la maladie de Lyme et plus récemment la surveillance sur le moustique tigre. Chaque département peut faire le choix de participer ou non au programme proposé en le subventionnant. Le projet Lyme, qui vise à utiliser le chevreuil comme sentinelle du risque associé aux maladies à tiques, regroupe actuellement une vingtaine de départements et c'est dans le cadre de ce programme que s'insère mon stage.

L'équipe du service technique est constituée de trois personnels permanents : un directeur, un directeur adjoint et une assistante de direction/technicienne. Lorsque cela est nécessaire, l'équipe est renforcée avec un chargé de mission, des techniciens et des services civiques. Dans le cadre de cette étude, j'ai travaillé sous la direction de Matthieu BASTIEN, directeur adjoint chargé des missions scientifiques et techniques.

Pendant mon stage, j'ai eu l'occasion de réaliser à la fois du travail de bureau, de terrain et de laboratoire. J'ai tout d'abord été amenée à mettre en place le protocole de mon étude et à contacter les différents gestionnaires des parcs afin de leur présenter le projet et obtenir les autorisations nécessaires. Le travail de terrain devait se dérouler du mois de mars au mois de juillet. Or, à la suite des circonstances sanitaires exceptionnelles, celui-ci a été interrompu durant la période de confinement. Bien que les parcs départementaux étaient encore fermés au public, les collectes ont pu reprendre le 18 mai grâce à une autorisation spéciale d'intervention. Le travail en laboratoire a été réalisé en deux parties. L'identification des tiques ainsi que l'extraction de leur ADN ont été réalisées au sein du Laboratoire Régionale de Suivi de la Faune Sauvage hébergé par l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) de Bondy. Quant aux analyses moléculaires, elles ont été réalisées au Laboratoire de Santé Animale à l'ANSES Maisons-Alfort au sein de l'UMR BIPAR en collaboration avec Clémence GALON, chargée de projet scientifique et technique et Sara MOUTAILLER, cheffe de projet Recherche. Je n'ai pas pu réaliser les manipulations mais j'ai pu assister à l'ensemble du processus réalisé par Clémence Galon, chargée de projet scientifique et technique. Ce stage m'as permis de gagner en autonomie et en savoir-faire, aussi bien pour la gestion de projet que d'un point de vue technique (identification des tiques, analyses moléculaires). Il m'a permis de débuter une spécialisation sur un sujet porteur qu'est l'étude des tiques et de leurs pathogènes, que je souhaite poursuivre pour la suite de ma carrière.

Table des matières

Introduction 1
Matériels et méthodes 6
Echantillonnage et identification des tiques 6
Analyses moléculaires 8
Extraction d'ADN 8
Pré-amplification de l'ADN 9
PCR sur puce microfluidique 9
Analyses statistiques 11
Résultats 11
Nombre de tiques collectées et identification 11
Nombre de tiques infectées et prévalence d'infection 13
Discussion 15
Collecte et identification des tiques 15
Taux d'infection et agents pathogènes détectés 18
Conclusion 21
Bibliographie 22
Résumé 25
Abstract 25

Introduction

Les tiques sont des arthropodes hématophages stricts, ectoparasites des vertébrés, présents sur tous les continents y compris les zones désertiques et polaires (McCoy et Boulanger, 2015). Elles sont responsables de la transmission de la plus grande variété d'agents pathogènes à l'origine d'importantes maladies touchant le bétail, les humains et les animaux de compagnie (Jongejan et Uilenberg, 2004 ; Nicholson *et al,* 2019). Actuellement, 896 espèces, réparties en trois familles, sont connues mais seulement 10%, soit environ 90, se seraient adaptées à la fois à des hôtes humains ou à des animaux domestiques et seraient impliquées dans la transmission de différents types d'agents pathogènes (Guglielmone *et al,* 2010 ; Jongejan et Uilenberg, 2004). La famille *Nuttalliellidae* comporte une seule espèce qui présente une morphologie intermédiaire aux deux autres. La famille *Argasidae*, quant à elle, regroupe l'ensemble des tiques dites molles, caractérisées par un tégument souple. Enfin, la famille *Ixodidae* regroupe environ 80% de l'ensemble des espèces. Elles sont caractérisées par un tégument lisse et rigide, ce qui explique leur qualification de tiques dures. Ces deux dernières diffèrent beaucoup par leur cycle et leur mode de vie (McCoy et Boulanger, 2015, Tableau 1).

Tableau 1 : Comparaison des modes de vie des familles Argasidae et Ixodidae

	Famille *Argasidae*	Famille *Ixodidae*
Nombre de stades nymphaux / adultes	Plusieurs stades	Un seul stade
Nombres de repas sanguins par stade	Plusieurs repas sanguins de courte durée	Un seul repas de longue durée
Ponte	Une petite quantité à plusieurs reprises	Une grande quantité en une seule fois
Mode de vie	Endophile : espaces fermés (terriers, nids)	Exophile : habitats ouverts ou semi-ouverts (prairies, forêts)
Dimorphisme	Peu marqué	Très marqué

Les tiques de la famille *Ixodidae* sont les plus susceptibles de rencontrer l'homme du fait de leur mode de vie exophile. Elles sont retrouvées dans des habitats ouverts ou semi-ouverts, tels que des forêts et des prairies. Chez cette famille, trois types de cycles sont décrits, impliquant d'un à trois hôtes. Ils sont alors qualifiés de monophasique, diphasique et triphasique (Figure 2 ; McCoy et Boulanger, 2015). Quel que soit le nombre d'hôtes, trois stades actifs sont retrouvés : le stade larvaire, nymphal et adulte avec un unique repas sanguin par stade. Les stades dits actifs sont ceux qui vont rechercher activement un hôte, à l'inverse du stade inactif l'œuf. La reproduction a généralement lieu sur l'hôte pendant le repas sanguin de la femelle (Jongejan et Uilenberg, 2004). Cependant, pour les tiques du genre *Ixodes*, elle peut avoir lieu dans l'environnement pendant le stade libre, avant le repas sanguin (Graf, 1975). Après l'accouplement, le mâle meurt et la femelle va pondre l'ensemble de ces œufs en une fois puis meurt à son tour.

En moyenne, les tiques de cette famille mettent entre 3 et 6 ans pour réaliser l'ensemble de leur cycle, mais seule une petite fraction y parviendra. En effet, ces tiques ont une stratégie R, elles ont un fort taux de reproduction mais avec une faible probabilité de survie des descendants (Foldvari, 2016). Sur l'ensemble des œufs pondus seulement 5 à 10 % parviendraient à l'état de larves et seulement 1 à 10% de ces larves produiraient des nymphes qui elles-mêmes parviendraient à l'état adulte dans seulement 10% des cas (Sprong *et al,* 2018, Randolph, 1998). Cette faible survie peut s'expliquer par leur mode de vie exophile puisqu'elles passent 90 à 99% de leur vie hors de l'hôte, dans l'environnement, où elles seront soit en diapause lorsque les conditions ne sont pas favorables à leur survie, soit en recherche d'un repas sanguin (Herrmann et Gern, 2015).

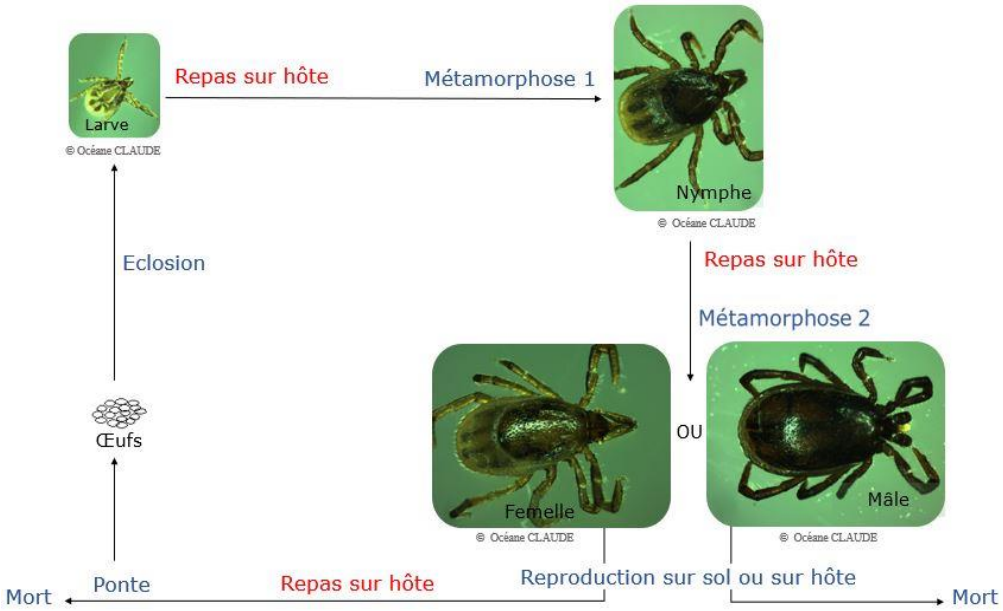

Figure 2 : Cycle de vie des tiques

La recherche d'hôtes représente donc une période essentielle dans la vie de la tique. Pour cela, elles utilisent une technique d'« embuscade » ; elles grimpent sur la végétation et attendent avec les pattes avant en l'air afin de s'accrocher lors du passage d'un animal ou d'un homme (Foldvari, 2016). Pour détecter et localiser l'hôte, la tique utilise la chimiosensation en captant les molécules émises par l'animal via les chémorécepteurs sur l'organe de Haller, une structure spécifique trouvée seulement sur la première patte des tiques (Carr *et al*, 2017). Cependant la durée de l'attente de l'hôte est limitée et dépend des conditions environnementales. En effet, les tiques sont sensibles à la dessication, notamment les larves qui sont les moins résistantes dû à leur petite taille (environ 1mm) en comparaison des adultes, qui sont généralement au moins sept fois plus grands, elles doivent donc maintenir un bon équilibre hydrique. Les tiques subissent une perte d'eau par transpiration, à travers leur tégument, notamment lors des déplacements, et par respiration lors des échanges gazeux au niveau de leur système trachéal (Knulle et Rudolph, 1982). Malgré l'absorption active de la vapeur d'eau présente dans l'environnement, elles doivent régulièrement retourner dans un environnement

humide afin de se réhydrater, le plus souvent la litière recouvrant le sol des forêts (Foldvari, 2016). C'est pourquoi, généralement, la hauteur à laquelle se place l'acarien en quête d'un hôte, dépend du stade ; les larves seraient retrouvées au plus bas niveau, de 0 à 20 centimètres au-dessus du sol, les nymphes de 10 à 50 centimètres et les adultes seraient au plus haut de 10 à environ 80 centimètres (Mejlon et Jaenson, 1997). Par ce fait, les adultes sont principalement retrouvés sur des hôtes de grande taille tels que des cerfs, des chevreuils ou des sangliers, alors que les stades immatures, les larves et les nymphes, sont retrouvées sur des hôtes plus petits comme des rongeurs, des lézards, des hérissons ou des oiseaux se nourrissant au sol (Aeschlimann, 1972 ; Rizzoli *et al*, 2014).

Du fait de leur sensibilité à la dessication, les tiques vont donc être retrouvées dans des endroits relativement humides et frais tels que des forêts ou des prairies (Hauser *et al*, 2018). En effet, pendant leur période d'activité, c'est-à-dire leur période de recherche d'hôtes, l'humidité relative doit être assez élevée avec un optimum à 80% (Medlock *et al*, 2013 ; Herrmann et Gern, 2015). En Europe, cette période d'activité débute généralement entre février et mars et se termine en septembre, octobre ou novembre selon les régions avec une intensité maximale entre avril et juin (Aeschlimann, 1972 ; Hauser *et al*, 2018).

Au sein des *Ixodidae*, on dénombre 14 genres dont les plus impliqués dans la transmission de pathogènes sont *Dermacentor* et *Ixodes* (Guglielmone *et al*, 2010). En Europe, *I. ricinus*, également appelée tique du mouton, est l'espèce la plus abondante ce qui en fait l'une des plus importantes en médecine humaine et vétérinaire (Figure 3 ; Sprong *et al*, 2018). En effet, dans le cas d'une transmission par un vecteur ou transmission vectorielle, l'agent pathogène est inoculé lors d'une piqûre d'un arthropode hématophage (ici la tique) assurant ainsi une circulation active d'un vertébré à un autre. La capacité de ces vecteurs à acquérir un agent infectieux, ou plusieurs dans le cas de co-infection, de les maintenir à travers les stades biologiques et de les transmettre est définie comme la compétence vectorielle. Elle dépend de l'abondance du vecteur, de sa capacité de dispersion, de ses préférences trophiques, c'est-à-dire pour un ou plusieurs types d'hôtes et de ses stades (McCoy et Boulanger, 2015). Ceux-ci peuvent acquérir leurs agents pathogènes, et donc devenir vecteur, de trois manières différentes. Tout d'abord, dans certains cas, l'agent infectieux peut être transmis par la mère à ses descendants, on parle alors de transmission trans-ovarienne (McCoy et Boulanger, 2015).

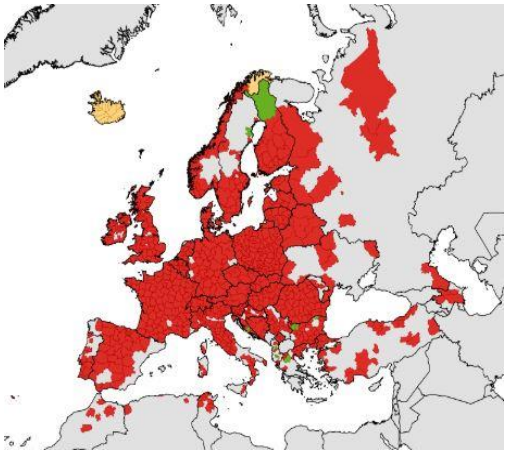

Figure 3 : Distribution de la tique *I. ricinus* - Août 2019 (rouge = présent, jaune = introduit et vert = absent)
©EuroGeographics, UNFAO, TurkStat, ECDC

Des études ont montré que c'était le cas pour la bactérie *Borrelia miyamotoi* à l'origine de la fièvre récurrente (Richter *et al,* 2012), ainsi que pour *Rickettsia helvetica* responsable d'une rickettsiose (Sprong *et al*, 2009). Cependant ce type de transmission serait un événement extrêmement rare pour les spirochètes responsables de la maladie de Lyme (Richter *et al,* 2012 ; Rollend *et al*, 2013 ; Zhioua *et al*, 1994). Un second moyen est l'acquisition de l'agent infectieux lors d'un repas sanguin, pouvant avoir lieu quel que soit le stade de vie du vecteur (Lui et Bonnet, 2014 ; McCoy et Boulanger, 2015, Randolph, 1998). Dans le cas le plus courant, l'agent pathogène est absorbé en même temps que le sang de l'hôte infecté. Cependant, il a été démontré que si plusieurs vecteurs d'une même espèce se nourrissent à proximité les uns des autres sur l'hôte, alors l'agent pathogène peut être transmis entre ces vecteurs ; on parle de co-repas ou co-feeding en anglais (Belli *et al*, 2017 ; Ogden *et al*, 1997 ; Voordouw, 2015). C'est notamment le cas pour le virus à l'origine de l'encéphalite à tiques, appelée TBE, ou pour le complexe de bactéries *Borrelia burgdorferi sensu lato* (Belli *et al*, 2017 ; Gern et Rais, 1996). Enfin, l'agent pathogène doit pouvoir se maintenir à travers les différents stades de vie de l'arthropode afin d'assurer sa circulation et ainsi perpétuer son cycle, on parle de transmission trans-stadiale (McCoy et Boulanger, 2015 ; Sprong *et al*, 2018 ; Randolph, 1998). Ce type de transmission est essentielle pour les agents pathogènes ayant des vecteurs effectuant un seul repas par stade de vie, comme c'est le cas des tiques du genre *Ixodes* (Jongejan et Uilenberg, 2004).

Les hôtes réservoirs des tiques vont jouer un rôle considérable pour la multiplication des agents pathogènes qui ne se transmettent pas de façon trans-ovarienne. En effet, ces hôtes vont héberger, conserver puis retransmettre l'agent infectieux. Cette compétence de réservoir dépend de la capacité de l'agent infectieux à survivre et à proliférer dans les tissus de l'hôte. Elle varie donc selon l'espèce de pathogène considérée mais également selon l'hôte qui peut avoir un système immunitaire plus ou moins résistant. En effet, certains hôtes sont capables d'éliminer les agents pathogènes, ils ne sont alors pas réservoirs ; on les qualifie d'hôtes incompétents.

Récemment, Madison-Antenucci et ses collaborateurs (2020) ont réalisé un inventaire des agents pathogènes à l'origine de maladies à tiques émergentes. On retrouve notamment *B.miyamotoi* responsable d'une fièvre récurrente (Platonov *et al*, 2011), *R, helvetica* à l'origine de rickettsiose , (Sprong *et al*, 2009) ainsi qu'*Anaplasma phagocytophilum* causant l'anaplasmose granulocytaire humaine (Degeilh et Guiguen, 2020). Enfin, dans les maladies les plus étudiées, on retrouve la Borréliose de Lyme transmise par le complexe de bactéries spirochètes *Borrelia burgdorferi sensu lato*, classé dans le genre *Borreliella* depuis 2016 (NIH,GenBank). Cette maladie qui touche plus de 68 000 personnes chaque année en France (réseau Sentinelles, INSERM/Sorbonne Université ; Santé Publique France) est devenue une priorité sanitaire du fait de la constante augmentation des cas

déclarés. Un plan de lutte a d'ailleurs été mis en place en 2016 ayant pour axes principaux de renforcer la surveillance des vecteurs et des maladies transmisses, d'améliorer la prise en charge des malades ainsi que les tests diagnostiques et enfin de mobiliser la recherche sur ces maladies (Ministère des affaires sociales et de la santé, 2016). Cette zoonose, dont le premier cas connu a été décrit en 1965 dans la ville de Lyme, dans le Connecticut, est définie comme un trouble inflammatoire (Steere, 1979). Elle débute généralement par une lésion cutanée appelée érythème chronique migrant, qui serait le meilleur marqueur clinique de l'infection, et peut être suivie d'atteintes neurologiques, cardiaques ou articulaires selon l'agent pathogène impliqué (Bernard *et al*, 2014 ; Gepner, 1984 ; Steere, 1979). De nombreuses études ont montré l'existence d'au moins vingt espèces de *Borreliella*, toutes regroupées sous le complexe *B. burgdorferi sensu lato*. Trois seraient principalement liées à la maladie de Lyme chez l'homme ; *B. burgdorferi sensu stricto* prédominante aux Etats-Unis ainsi que *Borrelia afzelii* et *Borrelia garinii* retrouvées en Europe et dans certaines parties de l'Asie (Franke *et al*, 2013 ; Margos *et al*, 2011 ; Steere *et al*, 2016). Ces bactéries se multiplient dans des hôtes réservoirs différents selon l'espèce considérée. Les réservoirs de *B. afzelii* sont principalement les rongeurs alors que ceux de *B.garinii* sont principalement les oiseaux (Piesman et Gern 2004). Certains agents pathogènes ont un spectre d'hôtes réservoirs plus large, c'est le cas pour la bactérie *B.burgdorferi sensu stricto* (Piesman et Gern 2004). Ces bactéries pathogènes sont ensuite acquises par les tiques du genre *Ixodes* durant leur repas sanguin puis retransmis à un nouvel hôte.

Le risque de contracter une maladie à tiques découle de plusieurs facteurs qu'ils soient écologiques, biologiques ou sociétaux. Le plus important et étudié étant le nombre de tiques infectées, on parle du risque acarologique (McCoy et Boulanger, 2015) qui dépend directement de la densité de tiques à l'affût et indirectement des conditions météorologiques et de la densité de tiques globale. Ce facteur varie également en fonction de la proportion d'hôtes réservoirs sur le nombre total d'hôtes disponibles. En effet, si le site présente une majorité d'hôtes réservoirs, la prévalence d'infections des tiques sera plus élevée. En plus du risque acarologique, la probabilité de rencontre entre l'Homme et les tiques est à prendre en compte afin d'évaluer le risque de contracter une maladie à tiques ; la présence de tiques infectées représente un danger uniquement s'il y a une possibilité de contact et ainsi une possibilité de transmission de l'agent infectieux qui dépend à la fois du comportement de l'Homme (activités réalisées) et de sa connaissance du risque. Par exemple, la probabilité de rencontrer une tique augmente durant les pratiques en forêt telles que les randonnées, les cueillettes ou la course à pied.

Afin de prévenir au mieux le risque de contracter une maladie à tiques, il est donc primordial d'évaluer la présence de tiques infectées et de la mesurer, surtout dans les zones fréquentées par la population humaine. Ces données sont très étudiées en zone rurale et péri-urbaine, notamment dans les forêts (Cotte *et al*, 2010 ; Reis *et al*, 2011, Tack, 2012). Mais les zones urbaines restent, aujourd'hui encore, très peu étudiées. Pourtant, bien que la présence de tiques y soit plus faible, le risque de piqûre et de transmission d'un agent pathogène est bien présent. En effet, plusieurs études menées, avec la méthode du drap, dans des parcs urbains en Allemagne, Hongrie, Italie, Moldavie, Slovaquie et Ukraine ont montré la présence de tiques et la circulation d'agents pathogènes responsables de maladies chez l'Homme tels que le complexe *B. burgdorferi sensu lato* et des bactéries du genre *Rickettsia* (Corrain *et al*, 2012 ; Didyk *et al*, 2017 ; Koci *et al*, 2007 ; Maetzel *et al*, 2005 ; Mancini *et al*, 2014 ; Pangracova *et al*, 2013 ; Schorn *et al*, 2011).

En France, il n'existe pas à ce jour d'information sur le risque de contracter une maladie transmise par les tiques dans les zones urbaines. En région parisienne, zone fortement urbanisée, les parcs représentent un lieu de détente important pour la population. Avec des fréquentations variant de 2 millions à 350 000 individus / an, ces lieux peuvent donc représenter une zone importante de contact entre les hommes et les tiques. L'objectif de cette étude est de déterminer le risque acarologique au sein des parcs urbains du département de Seine-Saint-Denis. Pour ce faire, trois étapes sont nécessaires. Tout d'abord, évaluer la présence de tiques pour chaque site grâce à un échantillonnage. Ensuite, déterminer la présence des agents pathogènes dans ces vecteurs et les identifier. Enfin, évaluer la prévalence d'infection de la population de tiques et donc les risques épidémiologiques engendrés.

Matériels et méthodes

Echantillonnage et identification des tiques

En accord avec le département et leurs gestionnaires, dix sites de taille variable, bien répartis sur le département, ont été choisis pour les collectes, dont neuf parcs départementaux et la forêt régionale de Bondy, tous codés par leurs initiales dans la suite du document (Tableau 2, Figure 4). Dix points de collecte ont été sélectionnés et répartis sur l'ensemble de chaque zone de manière à être le plus représentatif possible. Ces points ont été soigneusement décrits, notamment en utilisant des repères déjà présents (bancs, poubelles…) afin de pouvoir les retrouver facilement d'une session à l'autre. Pour chaque transect, les points GPS ont également été relevés.

Contraint par le contexte sanitaire, le protocole initialement construit avec une collecte par mois a été modifié dans le but d'obtenir le maximum de tiques possible. Ainsi, cinq collectes ont été réalisées, une en mars et quatre supplémentaires du 18 mai au 3 juillet. Celles-ci ont été réalisées par jour de beau temps. Pour chaque collecte, les prévisions de la température et de l'humidité relative ont été relevées avec l'application AccuWeather disponible sur téléphone.

Tableau 2 : Tailles des sites échantillonnés

Lieux	Taille (en ha)
Bergère (B)	15
Forêt Bondy (FB)	150
Fosse Maussoin (FM)	9
Georges Valbon (GV)	410
Haute Ile (HI)	65
Ile St Denis (ISD)	25
Jean Moulin les Guilands (JMG)	26
Poudrerie (P)	144
Romainville (R)	20
Sausset (S)	200

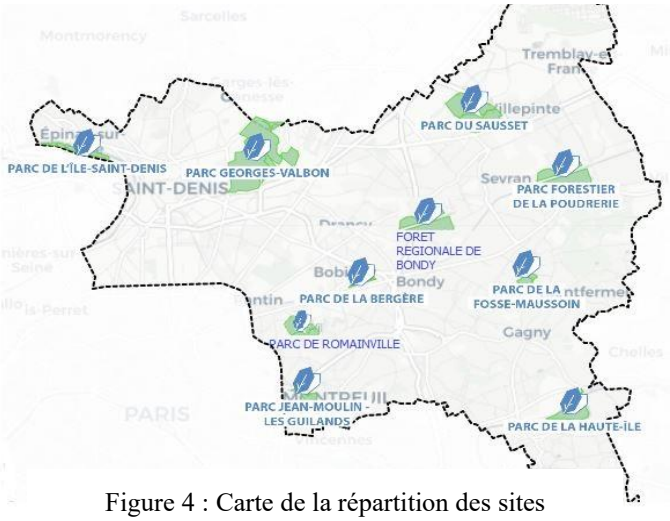

Figure 4 : Carte de la répartition des sites échantillonnés sur le département de Seine-Saint-Denis

Pour l'échantillonnage des tiques, à chaque point de collecte, nous avons utilisé la méthode du drap (Aeschlimann, 1972). Elle consiste à passer sur le sol un drap blanc d'un m², sur un transect de dix mètres de long, en réalisant trois passages consécutifs dans le même sens afin de s'assurer de collecter le maximum des tiques à l'affût (Figure 5). Après chaque passage, le drap est retourné délicatement, puis les tiques qui se sont accrochées sont collectées à l'aide d'une pince à dissection, dans un pot de 60mL (Gosselin). A chaque retour de collecte, les tiques sont placées individuellement dans des tubes Eppendorf de 2 mL, et mises dans un congélateur à -80°C afin de préserver l'ADN avant les analyses moléculaires.

Figure 5 : Réalisation d'une collecte sur un transect © Photographie personnelle

Les tiques ont ensuite été identifiées et sexées sous un microscope stéréoscopique (ZEISS Stemi 508) grâce à des clés de détermination présentes dans le livre « Les tiques » de Perez-Eid (Perez-Eid, 2007) et photographiées avec un Axiocam ERc 5s. Tout d'abord, le stade de vie est confirmé. Les larves, très petites (moins d'un mm), sont translucides et possèdent uniquement trois paires de pattes. Les nymphes et les adultes, quant à eux, possèdent quatre paires de pattes. Les nymphes, tout comme les femelles, ont une face dorsale partiellement chitinisée avec

deux parties ; le scutum et l'alloscutum (Figure 6). Pour différencier nymphe et femelle, il faut regarder s'il y a présence ou absence d'orifice génital sur la face ventrale (Figure 7). Le mâle quant à lui, présente une face dorsale totalement chitinisée, on parle du conscutum (Figure 8). L'identification spécifique des larves étant trop complexe, celles-ci ne sont pas identifiées. Pour les autres tiques, elles entrent toutes dans la famille *Ixodidae* donc des tiques dures, caractérisée par la présence d'un scutum et d'un sillon anal contournant l'anus par l'avant. Plusieurs caractéristiques anatomiques permettent de déterminer l'espèce. Un rostre court et une taille assez importante est caractéristique de l'espèce *D. reticulatus* (Figure 9). Un rostre long, des épines très nettes sur la première coxa, la première partie de la patte est caractéristique de l'espèce *I. ricinus*. L'espèce *I. frontalis* est très semblable à la précédente mais diffère par des protubérances au niveau du rostre, notamment visible chez les adultes et par une taille légèrement plus importante (Figure 9).

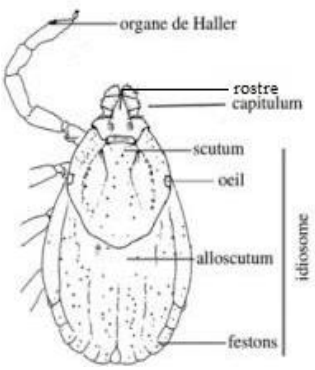

Figure 6 : Schéma d'une tique dure femelle

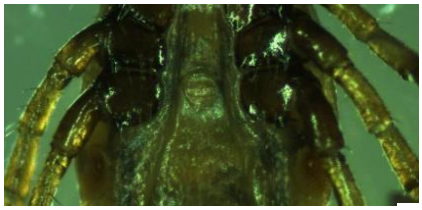
Figure 7 : Pore génital d'une femelle *I. ricinus*

© Océane CLAUDE

Figure 8 : Face dorsale d'une femelle (gauche) et d'un mâle (droite) *I. ricinus*

© Océane CLAUDE

Figure 9 : Autres espèces de tiques collectées : *I. frontalis* (gauche) et *D. reticulatus* (droite)

© Océane CLAUDE

Analyses moléculaires

Bien que les larves aient été collectées, elles ne seront pas utilisées pour les analyses moléculaires car seulement très peu de pathogènes sont transmis de la mère à ses œufs, leur implication dans la transmission des agents pathogènes étudiés ici est donc négligeable. Cependant, elles sont conservées à -80°C pour d'éventuelles analyses plus tardives. Ainsi, seuls les nymphes et les adultes seront utilisées pour la suite de l'étude.

Extraction d'ADN

L'extraction d'ADN a été réalisée avec le kit Macherey-Nagel NucleoSpin Tissue portant la référence 740592.250 en suivant le protocole inclus (Annexe n°1). Chaque tique a tout d'abord été broyée individuellement à l'aide d'un pilon stérile dans 180µL de tampon T1 puis l'extraction manuelle de l'ADN a été réalisée sur colonne avec une membrane de silice. Afin d'augmenter le rendement en ADN, les extraits ont été élués dans 50µL de tampon BE chauffé à 70°C. A la fin de la manipulation, les extraits d'ADN sont congelés à -20°C pour les préserver jusqu'à la suite des analyses.

Pré-amplification de l'ADN

Cette étape de pré-amplification de l'ADN permet d'augmenter le signal du matériel génétique des pathogènes par rapport à celui de l'hôte. Pour cela, chaque échantillon a été amplifié grâce à un Mix contenant 1µL de Pré-amp Master Mix (Fluidigm), 1,25µL de Pool 0,2X et 1,5µL d'eau MQ, auquel sont ajoutés 1,25µL d'ADN de l'échantillon extrait. Le pool 0.2X contient l'ensemble des couples d'amorces (Forward et Reverse) (à l'exception des amorces ciblant les espèces de tiques : *I. ricinus*, *Dermacentor marginatus* et *D. reticulatus*) ciblant les agents pathogènes recherchés, à volume égal pour une concentration finale de 200µM chacun. Les barrettes de microtubes sont ensuite centrifugées et déposées dans un thermocycleur pour effectuer le programme suivant : un cycle à 95°C pendant 2 minutes puis 14 cycles à 95°C pendant 15 secondes et 60°C pendant 4 minutes. A la suite de cela, une dilution au 1/10e est réalisée en ajoutant 45µL d'eau MilliQ ultra pure et stérile.

PCR sur puce microfluidique

La PCR microfluidique est une nouvelle approche de PCR en temps réel à haut débit permettant de détecter la présence d'un grand nombre d'agents pathogènes dans un grand nombre d'échantillons en une seule expérimentation (Michelet *et al*, 2014). Tout d'abord, la plaque assay (amorces / sondes) est préparée avec 3µL de réactif 2X Assay loading permettant de fluidifier les réactifs et de 3µL du couple d'amorces et sondes souhaitées issu d'une plaque assay stock préparée préalablement. La plaque assay stock est constituée d'amorces et de sondes des pathogènes recherchés avec 7,2µL de chaque amorce à 100µM (Forward et Reverse), de 8µL de sonde à 20µM et de 17,6 µL d'eau pour chaque pathogène ciblé (Tableau 3) pour une concentration finale de 18µM pour les amorces et 4 µM pour les sondes. Les séquences d'amorces utilisées pour cette étude sont celles issues de deux articles de la littérature (Michelet *et al*, 2014 ; Gondard *et al*, 2020). Lors de la PCR, la sonde Taqman (FAM, BHQ1) va s'hybrider spécifiquement à une séquence donnée et va permettre la libération de la fluorescence lors de la synthèse du brin d'ADN. La plaque sample (échantillons), quant à elle, est préparée avec 3,3µL de Mix et 2,7µL d'échantillon pré-amplifié et dilué dans chaque puit. Le Mix utilisé est constitué pour chaque échantillon de 3µL de Perfecta QPCR ToughMix Low ROX (5 000 Rx) et d'un fluorochrome ROX permettant de normaliser la fluorescence et de 0,3µL de 20X GE Sample loading permettant de fluidifier et d'améliorer le passage des réactifs dans les canaux.

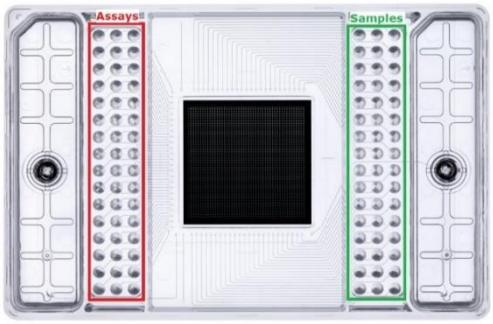

Figure 10 : Puce microfluidique : Fluidigm chip 48.48

Ensuite, 5µL des plaques assay et sample sont déposés dans la puce (Figure 10). Celle-ci est composée de deux parties, la droite où sont placés les échantillons de la plaque sample et la partie gauche où sont placées les

amorces et les sondes de la plaque assay. La puce est ensuite placée dans l'IFC Controler MX pour suivre le programme nommé « Load Mix » qui permet de charger les réactifs dans les canaux microfluidiques. Une fois chargés, les valves d'interface s'ouvrent afin de permettre à tous les réactifs de se mélanger dans les chambres réactionnelles.

Tableau 3 : Liste des agents pathogènes ciblés avec la puce microfluidique

Bactéries		
Genre	Espèce	Gène ciblé
Borrelia	*Borrelia burgdorferi sensu stricto*	rpoB
	Borrelia garinii	rpoB
	Borrelia afzelii	fla
	Borrelia valaisiana	ospA
	Borrelia lusitaniae	rpoB
	Borrelia spielmanii	fla
	Borrelia bissettii	rpoB
	Borrelia myamotoi	glpQ
	Borrelia spp	23S
Anaplasma	*Anaplasma marginale*	msp 1
	Anaplasma platys	groEL
	Anaplasma phagocytophium	msp 2
	Anaplasma ovis	msp4
	Anaplasma centrale	groEL
	Anaplasma bovis	groEL
	Anaplasma spp	16S
Rickettsia	*Rickettsia conorii*	ITS
	Rickettsia slovaca	ITS
	Rickettsia massiliae	ITS
	Rickettsia helvetica	ITS
	Rickettsia aeschlimannii	ITS
	Rickettsia felis	orfB
	Rickettsia spp	gltA
Francisella	*Francisella tularensis*	tu14
	Francisella tularensis	fopA

Bactéries		
Genre	Espèce	Gène ciblé
Ehrlichia	*Ehrlichia canis*	gltA
	Ehrlichia spp	16S
Candidatus	*Canditatus Neoehrlichia mikurensis*	groEL
Bartonella	*Bartonella henselae*	pap31
	Bartonella spp	ssrA
Apicomplexa	*Apicomplexa*	18S
Coxiella	*Coxielle burnettii*	IS1111
	Coxielle burnettii	icd
Mycoplasma	*Mycoplasma spp*	16S

Parasites		
Genre	Espèce	Gène ciblé
Babesia	*Babesia microti*	CCTeta
	Babesia canis	3subspe_hsp70
	Babesia ovis	18S
	Babesia bovis	CCTeta
	Babesia caballi	rap1
	Babesia venatorum	18S
	Babesia divergens	hsp70
Theilera	*Theilera spp*	18S
Hepatozoon	*Hepatozoon spp*	18S

Une fois le programme terminé, la puce est placée dans un BioMark (système de PCR automatisé) équipé d'une caméra et d'un thermocycleur. Le programme PCR se compose d'un cycle de 2 min à 50°C, un cycle de 10 min à 95°C, suivi de 40 cycles en 2 étapes : 15s à 95°C et 1 min à 60 °C, permettant simultanément 2 304 réactions de PCR en temps réel individuelles ont lieu simultanément. La fluorescence est ensuite mesurée. Les résultats sont ensuite lus et analysés avec le logiciel Fluidigm Real Time PCR analysis (Figure 11). Les niveaux de fluorescence et les valeurs de CT sont alors vérifiés, seuls les échantillons positifs ayant un CT inférieur à 30 et une fluorescence supérieure à 0,02 ΔRN sont conservés (Valeurs seuils ou « Cut-off » définis lors du développement de la technique).

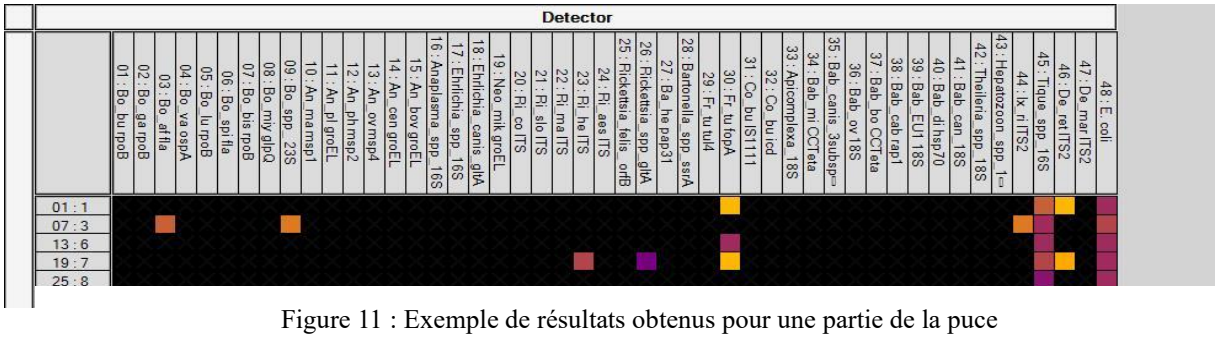

Figure 11 : Exemple de résultats obtenus pour une partie de la puce

Des PCR de confirmation seront ensuite réalisées sur les résultats douteux (qui ne permettaient pas de connaître l'espèce de l'agent pathogène identifié avec certitude) afin de valider le résultat par l'obtention d'une séquence ADN. Cette procédure suit le protocole décrit dans l'article de Gondard et al (2020).

Analyses statistiques

L'ensemble des analyses statistiques sont réalisées à l'aide de la version 1.1.414 du logiciel RStudio (R Core Team (2019)). Tous les intervalles de confiance (95%) autour des pourcentages ont été calculés en utilisant la procédure menée par Agresti et Coull (1998). Deux types de données seront utilisées dans ce rapport, le nombre et la densité de tiques. Cette dernière est obtenue en divisant le nombre de tiques collectées par 10m² (correspondant à la surface échantillonnée d'un transect).
Les densités de tiques ont été comparées entre les sessions de collecte et entre les lieux à l'aide de tests de Kruskall-Wallis complétés lorsque cela était nécessaire par un test post-hoc de Dunn à l'aide du package PMCMR (Pohlert, 2016). Le lien entre la taille des parcs et la densité de tiques a été analysé par une régression linéaire. Dans ce cas, seuls les parcs ont été inclus dans l'analyse car la densité de tiques dans la forêt était trop différente et biaisait les résultats. Enfin les parcs ont été classés en deux groupes selon leur surface forestière (+/- 40%) afin de comparer les moyennes des densités de tiques collectées, à l'aide d'un test de wilcoxon. Les proportions des différents stades collectés ont été comparées à l'aide de test de Khi² de conformité.

Les proportions de tiques infectées par les différents agents pathogènes détectés ainsi que les proportions de tiques infectées pour chaque espèce et pour chaque stade ont été comparées à l'aide de tests exacts de Fisher. Enfin, la densité de tiques infectées est calculée en divisant le nombre de tiques infectées collectées par 10m² (correspondant à la surface échantillonnée d'un transect). Ces densités de tiques ont ensuite été comparées entre les lieux de collecte à l'aide d'un test de Kruskall-Wallis.

Résultats

Nombre de tiques collectées et identification

Au total, 62 individus ont été collectés sur l'ensemble des cinq collectes dont 71% [59 - 81%] dans la forêt de Bondy (FB) et les 29% [19 – 41%] restants répartis sur l'ensemble des parcs départementaux (Tableau 4).

Des tiques ont été capturées lors de chaque collecte sur le site FB, avec un minimum de 3 tiques/100 m² et un maximum de 15 tiques / 100 m², pour obtenir un total de 44 tiques sur l'ensemble

des cinq sessions de collecte. En revanche, dans les parcs départementaux, le nombre de tiques échantillonnées par collecte est très variable, oscillant de 0 à 4 tiques / 100m². Les densités moyennes de tiques collectées ne sont pas significativement différentes d'une session à l'autre (Test de Kruskall-Wallis, kw = 0.83, p-value = 0,93).

Tableau 4 : Nombre de tiques collectées par lieu et par collecte

Lieux	Collecte 1	Collecte 2	Collecte 3	Collecte 4	Collecte 5	TOTAL
B	1	0	0	0	0	1
FB	3	7	11	8	15	44
FM	0	0	1	1	0	2
GV	0	1	0	0	0	1
HI	3	1	0	0	0	4
ISD	1	0	0	0	0	1
JMG	0	0	0	0	0	0
P	0	0	4	2	1	7
R	0	0	0	0	0	0
S	0	2	0	0	0	2
TOTAL	8	11	16	11	16	**62**

Tableau 5 : Densité moyenne de tiques collectées pour 100 m² par lieu de collecte

Lieux	Densité moyenne de tiques/100m²
B	0,2
FB	8,8
FM	0,4
GV	0,2
HI	0,8
ISD	0,2
JMG	0
P	1,4
R	0
S	0,4

La densité moyenne de tiques collectées sur l'ensemble des sessions est significativement plus importante dans la forêt que dans les parcs avec respectivement 8,8 tiques/ 100 m² contre moins d'1 tique/100m² pour les autres lieux de collecte, à l'exception du parc P où elle est de 1.4 tiques/100m² (Tableau 5, Figure 12 et 13) (Test de Kruskall-Wallis, kw = 24.944, pvalue = 0.003).

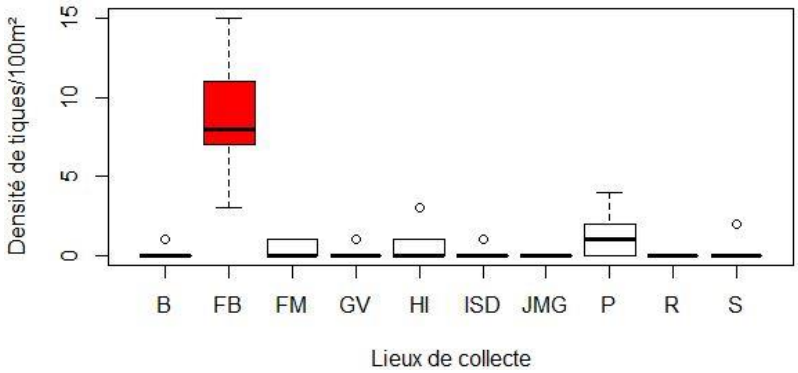

Figure 12 : Boite à moustache représentant la densité de tiques/100 m² en fonction du lieu de collecte

	B	FB	FM	GV	HI	ISD	JMG	P	R
FB	0.00061	-	-	-	-	-	-	-	-
FM	0.59049	0.00388	-	-	-	-	-	-	-
GV	1.00000	0.00061	0.59049	-	-	-	-	-	-
HI	0.47848	0.00659	0.86452	0.47848	-	-	-	-	-
ISD	1.00000	0.00061	0.59049	1.00000	0.47848	-	-	-	-
JMG	0.59049	7.4e-05	0.28181	0.59049	0.21244	0.59049	-	-	-
P	0.16020	0.04325	0.38635	0.16020	0.48666	0.16020	0.05207	-	-
R	0.59049	7.4e-05	0.28181	0.59049	0.21244	0.59049	1.00000	0.05207	-
S	0.90597	0.00094	0.67448	0.90597	0.55477	0.90597	0.51166	0.19835	0.51166

Figure 13 : Sortie numérique (p-values) du post-Hoc Test de Dunn

Nous n'avons pas trouvé de lien entre la densité de tiques et la taille des parcs (Figure 14) (Régression linéaire, Multiple R-squared = 0.017, p-value = 0.74), ainsi les parcs plus grands ne pas plus infestés. De plus, la présence de zones boisées sur plus de 40% de la superficie totale des parcs n'a pas d'impact sur la densité de tiques trouvées (Test de Wilcoxon, w = 298.5, p-value = 0 ,14).

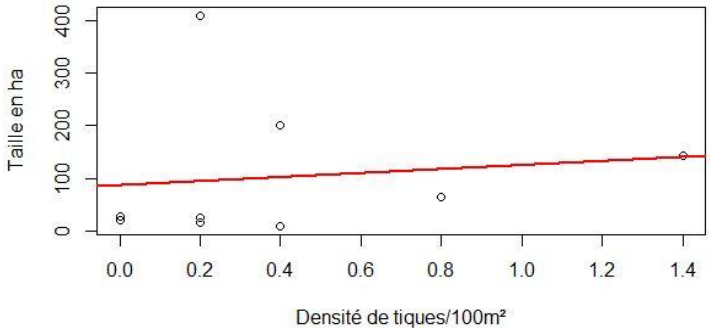

Figure 14 : Régression linéaire de la densité de tiques par 100m² en fonction de la taille du parc (en ha)

Sur l'ensemble des tiques échantillonnées, 13 larves, 38 nymphes, 6 femelles et 5 mâles ont été identifiés. On peut voir qu'il y a bien une différence significative dans la répartition de chaque stade (Test du Khi2, $X^2 = 46$, p-value = $5.671e^{-10}$), avec un nombre plus important de nymphes que de femelles (Test du Khi2, $X^2 = 23.27$, p-value = $1.41e^{-6}$), de mâles (Test du Khi2, $X^2 = 25.33$, p-value = $4.84e^{-7}$) ou de larves (Test du Khi2, $X^2 = 12.26$, p-value = 0.0005). Sur l'ensemble des nymphes collectées, 34 sont des *I. ricinus* et 4 sont des *Ixodes frontalis*. Pour les 6 femelles collectées, 2 sont des *I. ricinus,* 2 sont des *I. frontalis* et 2 sont des *D. reticulatus.* Quant aux 5 mâles, ce sont tous des *I. ricinus.* Ainsi, sur l'ensemble des tiques, nous avons 84% [71 – 92%] d'*I. ricinus*, 12% [5 – 25%] d'*I. frontalis* et 4% [0.4 – 14%] de *D. reticulatus.*

Nombre de tiques infectées et prévalence d'infection

Parmi les 49 tiques analysées, toutes espèces confondues, 21 (43% [30 – 57%]) ont été détectées positives pour au moins un des pathogènes ciblés dont 13 nymphes, 3 mâles et 5 femelles (Tableau 6). Cinq espèces d'agents pathogènes ont été trouvées chez les tiques analysées. Tout d'abord, la bactérie *R.helvetica* a été détectée chez 15 individus (31% [19 – 45%]). Des borrélies de trois espèces ont été trouvées ; *B. azfelii*, *B.burgdorferi sensu stricto* et *B. miyamotoi* avec respectivement 7, 2 et 1 individus positifs (20% [11 – 34%]). Enfin, 15 individus ont été détectés positifs pour un endosymbiote non pathogène. Sur les 21 tiques positives, 4 se sont révélées être co-infectées par la bactérie *R. helvetica* et par l'une des borrélies.

On peut voir qu'il y a significativement plus de tiques infectées par *R.helvetica* que par *B.burgdorferi* (Test de Fisher, OR = 8.19, p-value = 0,015) et que par *B.miyamotoi* (Test de Fisher, OR = 16.99, p-value = 0,004). De plus, il y a significativement plus de tiques infectées par *B.afzelii* que par *B.miyamotoi* (Test de Fisher, OR = 9,51, p-value = 0,004).

Tableau 6 : Nombre de tiques infectées et non infectées par stade de vie et par lieu

Nombre	Pas d'infection			Infection			Co-infection			Totaux
Stade	Nymphe	Mâle	Femelle	Nymphe	Mâle	Femelle	Nymphe	Mâle	Femelle	
Bergère	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Forêt	19	1	0	10	1	0	1	1	0	33
Fosse Maussoin	1	0	0	0	0	1	0	0	0	2
Georges Valbon	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Haute Ile	3	0	0	0	0	1	0	0	0	4
Ile St Denis	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Poudrerie	1	1	0	1	0	1	0	0	1	5
Sausset	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2
Total	25	2	1	12	1	4	1	2	1	49

On peut remarquer que quelle que soit l'espèce, les taux d'infection sont assez similaires avec 50% d'infection pour les tiques des espèces *I. frontalis* [19 – 81%] et *D. reticulatus* [10 – 90%] et 41% [28 – 57%] pour celles de l'espèce *I. ricinus* (Test de Fisher, p-value = 1). Cependant, les borrélies (*B. afzelii, B. burgdorferii sensu stricto et B. miyamotoi*) sont retrouvées uniquement chez l'espèce *I. ricinus*, alors que *R.helvetica* est retrouvée chez les 3 espèces de tiques.

En revanche, toutes espèces confondues, on constate que les femelles sont significativement plus infectées que les nymphes avec respectivement 83% [42 - 99 %] et 34% [21 - 50 %] d'infection (Figure 15) (Test de Fisher, OR = 0.11, p-value = 0,034), alors qu'il n'y a pas de différence significative entre le taux d'infection des mâles qui est de 60% [23 – 88 %] et celui des nymphes (Figure 15) (Test de Fisher, OR = 0,36, p-value = 0.34). De plus, le taux d'infection entre les mâles et les femelles n'est pas non plus significativement différent (Test de Fisher, OR = 2,97, p-value = 0.55).

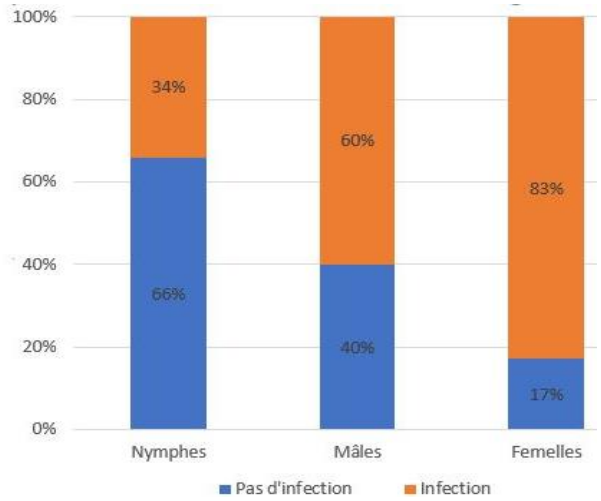

Figure 15 : Taux d'infection selon le stade de vie de la tique

Tableau 7 : Densité moyenne de tiques infectées/100 m² selon le lieu de collecte

Lieux	Densité moyenne de tiques infectées/100m²
B	0
FB	2,6
FM	0,2
GV	0,2
HI	0,2
ISD	0
P	0,6
S	0,4

Enfin, on peut constater que la densité de tiques infectées/100m² n'est pas homogène selon le lieu de collecte (Tableau 7) (Test de Kruskall-Wallis, KW= 18.94, p-value = 0.03). Elle est plus importante dans la forêt que dans les parcs (p-value < 0,05, figure 16). En revanche le taux d'infection des tiques ne varie significativement pas selon les lieux de collecte (Figure 17) (Test de Fisher, p-value = 0,93).

	B	FB	FM	GV	HI	ISD	JMG	P	R
FB	0.00059	-	-	-	-	-	-	-	-
FM	0.46597	0.00682	-	-	-	-	-	-	-
GV	0.46597	0.00682	1.00000	-	-	-	-	-	-
HI	0.46597	0.00682	1.00000	1.00000	-	-	-	-	-
ISD	1.00000	0.00059	0.46597	0.46597	0.46597	-	-	-	-
JMG	1.00000	0.00059	0.46597	0.46597	0.46597	1.00000	-	-	-
P	0.39052	0.00999	0.89687	0.89687	0.89687	0.39052	0.39052	-	-
R	1.00000	0.00059	0.46597	0.46597	0.46597	1.00000	1.00000	0.39052	-
S	0.41790	0.00867	0.93544	0.93544	0.93544	0.41790	0.41790	0.96124	0.41790

Figure 16 : Sortie numérique (p-values) du post-Hoc Test de Dunn

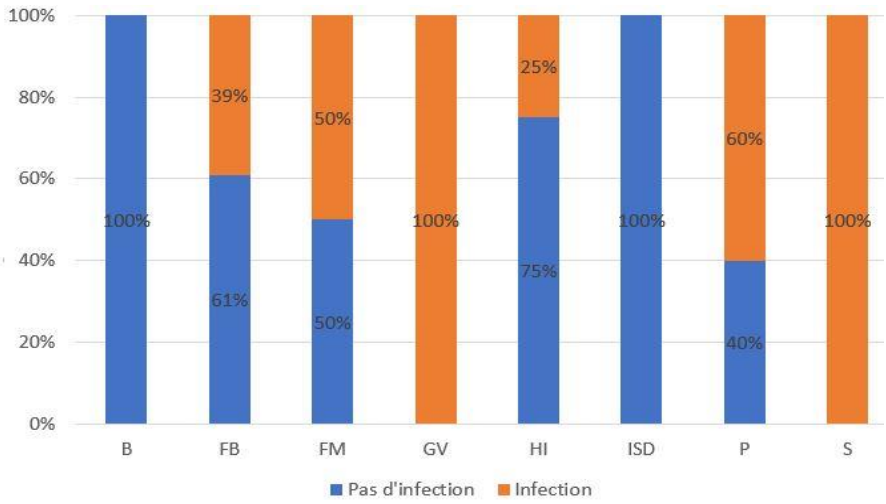

Figure 17 : Taux d'infection des tiques selon le lieu de collecte

Discussion

Collecte et identification des tiques

L'échantillonnage peut être une source de biais dans la détection d'agents pathogènes chez les animaux sauvages qu'il est important de prendre en compte dans l'interprétation (McClintock *et al*, 2010). La méthode de collecte utilisée pour cette étude est une technique simple et rapide à mettre en place, nécessitant peu de matériel mais elle ne permet de collecter que les individus à l'affût donc en quête d'un hôte (McCoy et Boulanger, 2015). Ainsi, les tiques en réhydratation, en repos, en métamorphose ou celles sur un hôte ne sont pas collectées. Le nombre de tiques collectées n'est donc pas représentatif de la population globale mais uniquement de la partie de la population en quête qui sont cependant le plus susceptibles de piquer l'Homme. Un autre moyen d'échantillonner les tiques, développés dans d'autres départements dans le cadre du projet de l'ELIZ, est de récupérer les oreilles

des chevreuils abattus à la chasse en collaboration avec les Fédérations Départementales de Chasseurs (FDC). En effet, les tiques se placent préférentiellement au niveau des oreilles de ces animaux et peuvent ainsi être collectées. Cette technique a l'avantage de pouvoir couvrir toute la surface du territoire du cervidé et de collecter des tiques piqueuses. Cependant, elle ne permet pas de définir le lieu où la tique était en quête. Une autre méthode est développée actuellement dans le cadre du programme Citique (https://www.citique.fr). C'est un projet de sciences participatives développé par l'Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'alimentation et l'Environnement (INRAE), permettant aux personnes s'étant fait piquer de pouvoir signaler leur piqûre et d'envoyer la tique au laboratoire de l'INRAE et ainsi participer à la réalisation d'une tiquothèque à des fins de recherches. Ce projet permet d'avoir une proportion des tiques piqueuses mais ne permet pas de savoir d'où provient réellement la tique. Une autre méthode envisageable pour cette étude aurait été de capturer des hôtes potentiels tels que des rongeurs ou des oiseaux afin de leur retirer leurs tiques et de leur prélever un peu de sang pour déterminer la présence d'agents pathogènes. Cependant, cette méthode aurait demandé plus de temps et de matériel.

D'autre part, la méthode du drap ne présente pas la même efficacité selon le type de végétation et n'est pas efficace lorsque la végétation est mouillée (McCoy et Boulanger, 2015). Un biais important peut être amené ici car la végétation présente sur les transects n'est pas homogène et peut varier au cours des mois. Ainsi, il est possible que cette méthode ne soit pas toujours aussi efficace sur tous les transects. Par exemple, des transects de certains parcs présentaient une végétation de plus d'un mètre lors de certaines collectes, ce qui peut en affecter l'efficacité. On peut également supposer qu'il existe une faible probabilité pour que les tiques tombent du drap pendant la collecte ou lorsque celui-ci est retourné. Toutefois, afin de limiter ce biais, le drap est retourné délicatement et le même collecteur a opéré pour toutes les collectes afin de conserver la même technique entre chaque passage. Enfin, il est possible qu'un hôte soit passé sur le transect dans les heures ou les minutes précédentes, récoltant ainsi les tiques en quête avant la collecte. Ce biais n'a pas pu être éviter dans notre protocole. Il aurait été envisageable de poser des pièges photos afin de constater le passage éventuel d'un hôte ou bien d'interdire l'accès à tout hôte potentiel par exemple en posant du grillage sur les 10 m de transect, mais cela nécessitait beaucoup de matériel. Or, puisque la durée du stage ainsi que les moyens matériels disponibles étaient assez limités, la méthode du drap reste optimale pour répondre à notre problématique puisqu'elle permet d'avoir des données précises sur la localisation des tiques en quête, ce qui nous intéresse pour estimer le risque acarologique.

Au total, cinq collectes ont été réalisées de mars à juillet avec 62 tiques collectées au total. Parmi celles-ci, 44 proviennent de la forêt de Bondy et les 18 restantes ont été échantillonnées dans

les différents parcs avec des quantités plus ou moins importantes allant de 0 à 7 selon le lieu considéré. Comme on pouvait s'y attendre le nombre de tiques collectées en forêt est nettement plus important que dans les parcs. Cependant, un échantillonnage plus important aurait permis d'affiner ces résultats. On peut notamment penser, en considérant la tendance observée, que le parc P aurait présenté un nombre de tiques significativement plus important que les autres parcs. De plus, sur deux des sites (parcs JMG et de R), aucune tique n'a été collectée, cela signifie qu'il n'y avait pas de tiques en quête au moment des collectes sur les transects prospectés, mais leur présence dans ces parcs ne peut pas être totalement exclue. D'un point de vue général, le nombre de tiques collectées est assez faible par rapport au nombre observé dans la littérature (Didyk *et al*, 2017 ; Mancini *et al*, 2014). Cela peut s'expliquer par la différence de végétation et la présence de grands animaux tels que des moutons et des vaches, puisque dans l'étude de Mancini, la majorité des tiques a été collectée dans les pâtures, les cultures et les zones boisées durant 12 mois. De la même manière, l'étude de Didyk s'est déroulée dans des parcs urbains très arborés, ce qui seraient un environnement plus favorable pour les tiques. Dans le cas de notre étude, bien que les transects aient été choisis pour être favorables à la présence de tiques, les parcs sont souvent situés en pleine ville et sont très aménagés avec assez peu de zones forestières. De plus, cette différence peut également être due à la population d'hôtes au sein des parcs, cependant ces études ne détaillent pas ce point. Pour notre étude, aucun des lieux collectés, que ce soit la forêt ou les parcs, ne présentait de grands mammifères tels que des cervidés. Ces différentes observations peuvent expliquer le petit nombre de tiques retrouvées ici, ainsi le risque de piqûre est relativement faible mais non négligeable.

On a également pu constater qu'il n'y a pas de différence entre la session de mars (n°1) et celles de mai, juin et juillet (n°2 à 4). Pourtant, la température moyenne pendant la collecte de mars était d'environ 11°C alors qu'elle avoisinait les 20°C lors des autres sessions de collecte. De plus, l'humidité relative moyenne était toujours supérieure à 60% à l'exception des sessions n°2 et n°3 où elle était respectivement à 52% et 46%. Les tiques ont besoin d'une humidité relative assez importante et d'une température assez douce afin de pouvoir rechercher des hôtes. Selon la littérature, elles seraient actives de février-mars à septembre-octobre lorsque la température et l'humidité lui permettent de réaliser son cycle (Aeschlimann, 1972 ; Hauser *et al*, 2018 ; Herrmann et Gern, 2015). Cependant, des collectes sur l'ensemble de l'année permettraient de déterminer d'une part si des tiques sont actives en dehors de cette période, du fait de leur grande capacité d'adaptation, et d'autre part à quel moment elles deviennent actives et pour quelles raisons. Il serait intéressant de pouvoir réaliser un suivi complet pour déterminer si le réchauffement climatique et les hivers plus doux entrainent une prolifération de ces acariens hématophages, ce qui représenterait un risque pour

l'homme et les animaux domestiques. De plus, il est possible que les tiques soient actives plus tôt en zone urbaine puisque le temps y est souvent plus doux qu'en forêt.

Après identification, on peut noter que tous les stades sont retrouvés sur les sites, ce qui indique que les tiques y réalisent leur cycle de vie. Cependant, nous avons collecté un nombre plus important de nymphes par rapport aux larves et aux adultes. La présence de larves sur les sites de collecte indique qu'il y a bien de la reproduction et de la ponte à ces endroits. En effet, celles-ci se déplacent très peu et il faut, généralement, tomber sur un « nid » pour en collecter (Aeschlimann, 1972 ; McCoy et Boulanger, 2015). Le faible nombre d'adultes échantillonnés peut s'expliquer par le fait qu'ils seraient moins nombreux puisque selon plusieurs études (Sprong *et al*, 2018, Randolph, 1998), seulement 10% des nymphes parviendraient à atteindre le stade adulte.

Parmi les tiques collectées, trois espèces sont retrouvées dont 84% d'*I.ricinus*, 12% d'*I.frontalis* et 4% de *D.reticulatus*. Les tiques appartenant à l'espèce *D. reticulatus* vont se nourrir préférentiellement sur les mammifères. Les larves et les nymphes piquent les micromammifères tels que des petits rongeurs comme des campagnols, des rats ou des écureuils et des insectivores comme des musaraignes, des taupes ou des hérissons. Les adultes, quant à eux, sont retrouvés sur les grands carnivores comme les chats domestiques, sauvages, les chiens ou les renards ainsi que sur les mammifères de grande taille : suidés (sangliers), bovidés, ovidés, capridés, cervidés et équidés (Perez-Eid, 2007, Rizzoli *et al*, 2014). Les tiques *I.frontalis*, quant à elles, sont spécifiques des hôtes aviaires notamment ceux se nourrissant au sol (Drehmann *et al*, 2019). Elles sont trouvées chez les corvidés (corbeaux, geais, pies), les turdidés (merles et grives), les muscicapidés (rossignols, rouges-gorges, rouges-queues) et les phasianidés (faisans et perdrix). Enfin, *I.ricinus* est une espèce très ubiquitaire, elle est retrouvée sur tous les hôtes précédemment cités ainsi que sur les paridés (mésanges), les reptiles : tortues et lézards (Pérez-Eid, 2007, Rizzoli *et al*, 2014). La présence de ces trois espèces de tiques au sein des parcs peut s'expliquer par la diversité d'hôtes retrouvés ; des rongeurs, des oiseaux, des petits mammifères ou encore des renards (Communications personnelles).

Taux d'infection et agents pathogènes détectés

Au total, quatre espèces d'agents pathogènes ont été détectées dont la bactérie *R. helvetica* ainsi que les borrélies *B. afzelii*, *B. burgdorferii sensu stricto* et *B. miyamotoi.* Nous avons également détecté la présence du gène fopA de la bactérie *Francisella tularensis* qui est l'agent responsable de la tularémie. Or, le gène tul4, spécifique à cette bactérie pathogène n'a pas été détecté chez ces tiques. La bactérie ici n'est donc pas celle responsable de la tularémie mais très probablement un endosymbiote, intracellulaire et non pathogène.

La bactérie *R. helvetica*, membre du groupe de la fièvre pourprée, est à l'origine d'une zoonose peu connue. La prévalence d'infection obtenue dans cette étude (31%) est assez élevée par rapport à ce qui peut être trouvée dans la littérature avec une prévalence entre 7 et 15% chez des tiques collectées en parcs (Corrain *et al*, 2012 ; Schorn *et al*, 2011). Cependant, une étude de ce type, dans un parc urbain de Rome a montré une prévalence similaire avec 36% des tiques collectées infectées par des bactéries du genre *Rickettsia*, mais l'espèce n'a pas été caractérisée (Mancini, 2014). Dans notre étude, des tiques des trois espèces ont été détectées comme infectées. A priori, ces bactéries peuvent se transmettre de manière trans-ovarienne donc de la mère à ses descendants, ainsi toutes les tiques positives n'ont pas nécessairement acquis la bactérie lors d'un repas de sang (Sprong *et al*, 2009). Cependant, elles peuvent également acquérir ces bactéries lors d'un repas sanguin sur un hôte porteur. On peut donc émettre l'hypothèse qu'il y a des hôtes infectés par *R. helvetica* au sein des lieux où ont été collectées les tiques infectées. Afin d'avoir une idée plus précise de l'implication de chaque type d'hôte, il serait intéressant de les collecter pour déterminer s'ils sont porteurs de cette bactérie et ainsi s'ils jouent un rôle de réservoir. Pour cela, on pourrait poser des pièges pour les mammifères et organiser des sessions de capture aux filets pour les oiseaux. Il est important de pouvoir étudier tous les types d'hôtes étant donné que cette bactérie a été retrouvée dans les trois espèces de tiques. C'est d'ailleurs ce qui a été réalisé par Hornok *et al* (2014) sur des oiseaux en migration qui ont pu démontrer leur rôle d'hôte réservoir pour cette bactérie, notamment pour les oiseaux se nourrissant au sol. La connaissance des différents animaux impliqués dans la transmission de cette bactérie permettrait de pouvoir lutter efficacement contre sa propagation et ainsi limiter le risque de transmission aux humains.

Pour les tiques infectées par des borrélies, une prévalence d'infection de 20% est constatée ici dont 14% pour *B.afzelii*. Les prévalences observées dans d'autres études réalisées en Europe sont assez aléatoires allant de 4% à 93% selon les zones étudiées (Didyk *et al*, 2017 ; Maetzel *et al*, 2005). Cependant, on peut trouver des résultats similaires dans deux études menées dans des parcs urbains en Italie et en Moldavie avec respectivement 19.6 et 25,2% de tiques infectées par ces agents pathogènes (Koci *et al*, 2007 ; Mancini *et al*, 2014). Dans notre étude, seules les tiques de l'espèce *I. ricinus* sont infectées par des borrélies. Pour les bactéries du genre *Borreliella*, il est intéressant de noter qu'elles ne se transmettent pas de la mère à ses descendants, les individus positifs ont nécessairement rencontré un hôte réservoir porteur de ces agents pathogènes (Richter *et al,* 2012 ; Rollend *et al*, 2013 ; Zhioua *et al*, 1994). En revanche, ce type de transmission est possible pour l'espèce *B.miyamotoi* (Richter *et al,* 2012). Les hôtes réservoirs principaux des bactéries *B.afzelii* et *B.burgdorferi sensu stricto* sont les rongeurs tels que des campagnols, des rats, des mulots ou des écureuils ; ceux de *B.miyamotoi* sont encore peu connus (Piesman et Gern 2004). Ainsi, on peut donc

émettre l'hypothèse de la présence d'hôtes réservoirs de type rongeurs au sein des parcs où ont été échantillonnés ces tiques. Pour valider cette hypothèse, il serait envisageable de réaliser des piégeages afin de valider ou non la présence de cette bactérie dans ces hôtes. De cette manière, on pourrait estimer quel hôte joue un rôle dans la transmission de ces bactéries et ainsi mettre en place des moyens de lutte afin de limiter celle-ci. Il serait envisageable de réaliser des traitements anti-acariens sur les hôtes réservoirs permettant ainsi de limiter le risque acarologique c'est-à-dire le nombre de tiques infectées.

Cependant, les analyses moléculaires réalisées ici ne permettent pas de détecter les co-infections au sein d'un même genre bactérien car le séquençage va nous permettre de déterminer uniquement l'espèce majoritaire. Ainsi, nous ne pouvons pas déterminer la présence de plusieurs espèces du même genre, par exemple pour le genre *Borreliella*. Cela représente un réel inconvénient puisque les différentes espèces bactériennes n'entraînent pas les mêmes symptômes, ce qui peut poser un problème d'un point de vue santé humaine (Bernard *et al*, 2014 ; Gepner, 1984 ; Steere, 1979). Afin de détecter les co-infections, une méthode aurait été de réaliser du clonage mais cela est plus complexe et nécessite plus de temps.

D'autre part, on peut noter que le nombre de tiques co-infectées par les deux genres bactériens est assez faible avec seulement 4 tiques dont 1 nymphe, 1 femelle et 2 mâles de l'espèce *I. ricinus* sur les 49 analysées. Cette co-infection peut avoir plusieurs origines. D'une part, la tique peut avoir reçu la bactérie du genre *Rickettsia* par sa mère et a ensuite rencontré un hôte porteur d'une bactérie du genre *Borrelia*. D'autre part, elle a pu acquérir les deux agents pathogènes sur deux hôtes différents à travers deux repas de sang ; un au stade larvaire et un au stade nymphal. Enfin, elle a pu acquérir les deux pathogènes sur le même hôte lors d'un repas sanguin, cet hôte était alors porteur des deux agents pathogènes. Là encore, on ne peut pas déterminer l'origine de l'infection. Comme précédemment une idée serait d'envisager des piégeages d'hôtes afin de voir s'ils sont porteurs d'un ou plusieurs genres bactériens. Ces tiques co-infectées augmentent le risque épidémiologique puisqu'elles peuvent transmettre les deux agents pathogènes à l'homme lors d'une seule piqûre. Les symptômes engendrés peuvent être différents par rapport aux symptômes classiques des maladies à tiques, ce qui peut compliquer la détection et la prise en charge des maladies chez ces patients.

Tous agents pathogènes confondus, le pourcentage d'infection des nymphes est de 34%, celui des mâles est de 60% et celui des femelles est de 83%. Seules les femelles sont significativement plus infectées que les nymphes. Ce résultat peut s'expliquer par le fait qu'elles ont réalisé un repas supplémentaire sur un hôte susceptible d'être contaminé et ont donc plus de risque d'être infectées. Les femelles se fixent préférentiellement sur des animaux de grande taille tels que des cervidés.

Cependant, ces hôtes ne sont pas présents dans les sites étudiés, ainsi le seul hôte de grande taille disponible est l'Homme, ce qui entraîne un risque de piqûre et donc de transmission par ces tiques.

De plus, les tiques collectées dans les parcs ont un taux d'infection plus élevé que celles collectées en forêt. Ce contraste peut s'expliquer de plusieurs manières. Tout d'abord, l'ensemble des femelles ont été collectées dans les parcs, ce qui pourrait augmenter le taux d'infection des parcs, puisque 5 des 6 collectées sont infectées. De plus, on peut penser que les parcs urbains présentent une quantité d'hôtes moins importante que dans la forêt. En effet, certains parcs sont très aménagés et présentent peu de zones propices à la présence de faune sauvage. Ainsi, les tiques se retrouvent sur un nombre limité d'hôtes et les agents pathogènes sont alors facilement transmis. Ce dernier point n'est qu'une hypothèse mais c'est un point qu'il serait intéressant d'évaluer. Il serait envisageable de réaliser des recensements d'hôtes potentiels dans les lieux étudiés afin de déterminer leur densité et d'évaluer leur prévalence d'infection. Ces données permettraient d'estimer plus efficacement le risque associé aux tiques dans ces parcs.

Conclusion

Des tiques peuvent être retrouvées au sein des parcs urbains de Seine-Saint-Denis. Malgré leur faible nombre, le risque épidémiologique associé aux tiques est non négligeable. En effet, nous avons pu montrer, la circulation de plusieurs agents pathogènes pouvant être transmis lors d'une piqûre au sein des sites échantillonnés. Il a notamment été mis en évidence la circulation de deux agents responsables de la maladie de Lyme, d'une bactérie à l'origine d'une fièvre récurrente et d'un agent pathogène responsable d'une rickettsiose émergente. Les résultats de ce département sont une première information et il serait intéressant de pouvoir réaliser ce type d'étude dans d'autres départements de la région parisienne et globalement sur toutes les aires urbaines du territoire national. Cela permettrait d'avoir une idée plus précise de la circulation de ces agents pathogènes dans les parcs des zones urbaines qui attirent généralement de très nombreux visiteurs. De plus, il est important de mettre en place de la sensibilisation auprès des promeneurs afin de les informer des risques et des bons gestes à adopter à savoir : porter des vêtements longs et couvrants, rester sur les chemins et éviter de marcher dans les hautes herbes, s'inspecter le corps après chaque sortie et retirer les éventuelles tiques le plus rapidement possible puis surveiller la zone de piqûre pendant au moins un mois (Annexe n°3).

Bibliographie

AESCHLIMANN, A. (1972) Ixodes ricinus, Limmeus, 1758 (Ixodoidea: Ixodidae). Preliminary study of the biology of the species in Switzerland. *Acta Tropica*, 29, 321–340.

AGRESTI, A. & COULL, B.A. (1998) Approximate is Better than "Exact" for Interval Estimation of Binomial Proportions. *The American Statistician*, 52, 119–126.

BELLI, A., SARR, A., RAIS, O., REGO, R.O.M. & VOORDOUW, M.J. (2017) Ticks infected via co-feeding transmission can transmit Lyme borreliosis to vertebrate hosts. *Scientific Reports*, 7, 5006.

BERNARD, Q., JAULHAC, B. & BOULANGER, N. (2014) Smuggling across the Border: How Arthropod-Borne Pathogens Evade and Exploit the Host Defense System of the Skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 134, 1211–1219.

CARR, A., D. MITCHELL III, R., DHAMMI, A., BISSINGER, B.W., SONENSHINE, D.E. & ROE, R.M. (2017) Tick Haller's Organ, a New Paradigm for Arthropod Olfaction: How Ticks Differ from Insects. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 1563.

CORRAIN, R., DRIGO, M., FENATI, M., MENANDRO, M.L., MONDIN, A., PASOTTO, D. & MARTINI, M. (2012) Study on Ticks and Tick-Borne Zoonoses in Public Parks in Italy: Ticks and Tick-Borne Zoonoses in Public Parks. *Zoonoses and Public Health*, 59, 468–476.

COTTÉ, V., BONNET, S., COTE, M. & VAYSSIER-TAUSSAT, M. (2010) Prevalence of Five Pathogenic Agents in Questing *Ixodes ricinus* Ticks from Western France. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 10, 723–730.

DEGEILH, B. & GUIGUEN, C. (2020) L'essentiel sur l'anaplasmose granulocytaire humaine. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020, 77–80.

DIDYK, Y.M., BLANAROVA, L., POGREBNYAK, S., AKIMOV, I., PETKO, B. & VICHOVA, B. (2017) Emergence of tick-borne pathogens (Borrelia burgdorferi sensu lato, Anaplasma phagocytophilum, Rickettsia raoultii and Babesia microti) in the Kyiv urban parks, Ukraine. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 8, 219–225.

DREHMANN, M., CHITIMIA-DOBLER, L., LINDAU, A., FRANK, A., MAI, S., FACHET, K., ET AL. (2019) Ixodes frontalis: a neglected but ubiquitous tick species in Germany. *Experimental and Applied Acarology*, 78, 79–91.

FÖLDVÁRI, G. (2016) 3. Life cycle and ecology of *Ixodes ricinus* : the roots of public health importance. In *Ecology and Control of Vector-borne diseases* (eds M.A.H. Braks, S.E. van Wieren, W. Takken & H. Sprong), pp. 31–40. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands.

FRANKE, J., HILDEBRANDT, A. & DORN, W. (2013) Exploring gaps in our knowledge on Lyme borreliosis spirochaetes – Updates on complex heterogeneity, ecology, and pathogenicity. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 4, 11–25.

GEPNER, P. (1984) Le Point Sur La Maladie De Lyme. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 14, 70–75.

GERN, L. & RAIS, O. (1996) Efficient Transmission of Borrelia burgdorferi Between Cofeeding Ixodes ricinus Ticks (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 33, 189–192.

GONDARD, M., DELANNOY, S., PINARELLO, V., APRELON, R., DEVILLERS, E., GALON, C., ET AL. (2020) Upscaling the Surveillance of Tick-Borne Pathogens in the French Caribbean Islands. *Pathogens*, 9, 176.

GRAF, J.F. (1975) Ecology and ethology of Ixodes ricinus L. in Switzerland (Ixodoidea: Ixodidae). III: copulation, nutrition and oviposition. *Acarologia*, 16, 636–642.

GUGLIELMONE, A.A., ROBBINS, R.G., APANASKEVICH, D.A., PETNEY, T.N., ESTRADA-PEÑA, A., HORAK, I.G., ET AL. (2010) The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. *Zootaxa*, 2528, 1.

HAUSER, G., RAIS, O., MORÁN CADENAS, F., GONSETH, Y., BOUZELBOUDJEN, M. & GERN, L. (2018) Influence of climatic factors on Ixodes ricinus nymph abundance and phenology over a long-term monthly observation in Switzerland (2000–2014). *Parasites & Vectors*, 11, 289.

HERRMANN, C. & GERN, L. (2015) Search for blood or water is influenced by Borrelia burgdorferi in Ixodes ricinus. *Parasites & Vectors*, 8, 6.

HORNOK, S., FLAISZ, B., TAKACS, N., KONTSCHAN, J., CSÖRGO, T., CSIPAK, Á., ET AL. (2016) Bird ticks in Hungary reflect western, southern, eastern flyway connections and two genetic lineages of Ixodes frontalis and Haemaphysalis concinna. *Parasites & Vectors*, 9, 101.

HORNOK, S., KOVÁTS, D., CSÖRGŐ, T., MELI, M.L., GÖNCZI, E., HADNAGY, Z., ET AL. (2014) Birds as potential reservoirs of tick-borne pathogens: first evidence of bacteraemia with Rickettsia helvetica. *Parasites & Vectors*, 7, 128.

JONGEJAN, F. & UILENBERG, G. (2004) The global importance of ticks. *Parasitology*, 129, S3–S14.

KNÜLLE, W. & RUDOLPH, D. (1982) Humidity Relationships and Water Balance of Ticks. In *Physiology of Ticks* pp. 43–70. Elsevier.

KOČI, J., MOVILA, A., TARAGEL'OVÁ, V., TODERAS, I., USPENSKAIA, I., DERDÁKOVÁ, M. & LABUDA, M. (2007) First report of Anaplasma phagocytophilum and its co-infections with Borrelia burgdorferi sensu lato in Ixodes ricinus ticks (Acari: Ixodidae) from Republic of Moldova. *Experimental and Applied Acarology*, 41, 147–152.

LIU, X.Y. & BONNET, S.I. (2014) Hard Tick Factors Implicated in Pathogen Transmission. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8, e2566.

LOH, S.-M., GOFTON, A.W., LO, N., GILLETT, A., RYAN, U.M., IRWIN, P.J. & OSKAM, C.L. (2016) Novel Borrelia species detected in echidna ticks, Bothriocroton concolor, in Australia. *Parasites & Vectors*, 9, 339.

MADISON-ANTENUCCI, S., KRAMER, L.D., GEBHARDT, L.L. & KAUFFMAN, E. (2020) Emerging Tick-Borne Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 33, 34.

MAETZEL, D., MAIER, W.A. & KAMPEN, H. (2005) Borrelia burgdorferi infection prevalences in questing Ixodes ricinus ticks (Acari: Ixodidae) in urban and suburban Bonn, western Germany. *Parasitology Research*, 95, 5–12.

MANCINI, F., LUCA, M.D., TOMA, L., VESCIO, F., BIANCHI, R., KHOURY, C., ET AL. (2014) Prevalence of tick-borne pathogens in an urban park in Rome, Italy. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 21, 6.

MARGOS, G., VOLLMER, S.A., OGDEN, N.H. & FISH, D. (2011) Population genetics, taxonomy, phylogeny and evolution of Borrelia burgdorferi sensu lato. *Infection, Genetics and Evolution*, 11, 1545–1563.

MASATANI, T., HAYASHI, K., ANDOH, M., TATENO, M., ENDO, Y., ASADA, M., ET AL. (2017) Detection and molecular characterization of Babesia , Theileria , and Hepatozoon species in hard ticks collected from Kagoshima, the southern region in Japan. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 8, 581–587.

MCCLINTOCK, B.T., NICHOLS, J.D., BAILEY, L.L., MACKENZIE, D.I., KENDALL, WILLIAM.L. & FRANKLIN, A.B. (2010) Seeking a second opinion: uncertainty in disease ecology: Uncertainty in disease ecology. *Ecology Letters*, 13, 659–674.

MCCOY, K. & BOULANGER, N. (2015) Tiques et maladies à tiquesIRD Edition.

MEDLOCK, J.M., HANSFORD, K.M., BORMANE, A., DERDAKOVA, M., ESTRADA-PEÑA, A., GEORGE, J.-C., ET AL. (2013) Driving forces for changes in geographical distribution of Ixodes ricinus ticks in Europe. *Parasites & Vectors*, 6, 1.

MEJLON, H.A. & JAENSON, T.G.T. (1997) Questing behaviour of Ixodes ricinus ticks (Acari: Ixodidae), 8.

MICHELET, L., DELANNOY, S., DEVILLERS, E., UMHANG, G., ASPAN, A., JUREMALM, M., ET AL. (2014) High-throughput screening of tick-borne pathogens in Europe. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4.

MINISTERE DES AFFAIRES SOCIALES ET DE LA SANTE (2016) Plan national de lutte contre la maladie de Lyme et les maladies transmissibles par les tiques.

NICHOLSON, W.L., SONENSHINE, D.E., NODEN, B.H. & BROWN, R.N. (2019) Ticks (Ixodida). In *Medical and Veterinary Entomology* pp. 603–672. Elsevier.

OGDEN, N.H., NUTTALL, P.A. & RANDOLPH, S.E. (1997) Natural Lyme disease cycles maintained *via* sheep by co-feeding ticks. *Parasitology*, 115, 591–599.

PANGRACOVA, L., DERDAKOVA, M., PEKARIK, L., HVISCOVA, I., VICHOVA, B., STANKO, M., ET AL. (2013) Ixodes ricinus abundance and its infection with the tick-borne pathogens in urban and suburban areas of Eastern Slovakia. *Parasites & Vectors*, 6, 238.

PEREZ-EID, C. (2007) Les tiques : identification, biologie, importance médicale et vétérinaire. Lavoisier.

PIESMAN, J. & GERN, L. (2004) Lyme borreliosis in Europe and North America. *Parasitology*, 129, S191–S220.

PLATONOV, A.E., KARAN, L.S., KOLYASNIKOVA, N.M., MAKHNEVA, N.A., TOPORKOVA, M.G., MALEEV, V.V., ET AL. (2011) Humans Infected with Relapsing Fever Spirochete *Borrelia miyamotoi* , Russia. *Emerging Infectious Diseases*, 17, 1816–1823.

POHLERT, T. (2016) The Pairwise Multiple Comparison of Mean Ranks Package (PMCMR), 27.

R CORE TEAM (2019) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

RANDOLPH, S.E. (1998) Ticks are not Insects: Consequences of Contrasting Vector Biology for Transmission Potential. *Parasitology Today*, 14, 186–192.

REGNERY, R.L., SPRUILL, C.L. & PLIKAYTIS, B.D. (1991) Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. *Journal of Bacteriology*, 173, 1576–1589.

REIS, C., COTE, M., PAUL, R.E.L. & BONNET, S. (2011) Questing Ticks in Suburban Forest Are Infected by at Least Six Tick-Borne Pathogens. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11, 907–916.

RICHTER, D., DEBSKI, A., HUBALEK, Z. & MATUSCHKA, F.-R. (2012) Absence of Lyme Disease Spirochetes in Larval *Ixodes ricinus* Ticks. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 12, 21–27.

RIZZOLI, A., SILAGHI, C., OBIEGALA, A., RUDOLF, I., HUBALEK, Z., FOLDVARI, G., ET AL. (2014) Ixodes ricinus and Its Transmitted Pathogens in Urban and Peri-Urban Areas in Europe: New Hazards and Relevance for Public Health. *Frontiers in Public Health*, 2.

ROLLEND, L., FISH, D. & CHILDS, J.E. (2013) Transovarial transmission of Borrelia spirochetes by Ixodes scapularis: A summary of the literature and recent observations. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 4, 46–51.

SCHORN, S., PFISTER, K., REULEN, H., MAHLING, M. & SILAGHI, C. (2011) Occurrence of Babesia spp., Rickettsia spp. and Bartonella spp. in Ixodes ricinus in Bavarian public parks, Germany. *Parasites & Vectors*, 4, 135.

SPRONG, H., AZAGI, T., HOORNSTRA, D., NIJHOF, A.M., KNORR, S., BAARSMA, M.E. & HOVIUS, J.W. (2018) Control of Lyme borreliosis and other Ixodes ricinus-borne diseases. *Parasites & Vectors*, 11, 145.

SPRONG, H., WIELINGA, P.R., FONVILLE, M., REUSKEN, C., BRANDENBURG, A.H., BORGSTEEDE, F., ET AL. (2009) Ixodes ricinus ticks are reservoir hosts for Rickettsia helvetica and potentially carry flea-borne Rickettsia species. *Parasites & Vectors*, 2, 41.

STEERE, A.C. (1979) Cases of Lyme Disease in the United States: Locations Correlated with Distribution of Ixodes dammini. *Annals of Internal Medicine*, 91, 730.

STEERE, A.C., STRLE, F., WORMSER, G.P., HU, L.T., BRANDA, J.A., HOVIUS, J.W.R., ET AL. (2016) Lyme borreliosis. *Nature Reviews Disease Primers*, 2, 16090.

TACK, W., MADDER, M., BAETEN, L., VANHELLEMONT, M., GRUWEZ, R. & VERHEYEN, K. (2012) Local habitat and landscape affect Ixodes ricinus tick abundances in forests on poor, sandy soils. *Forest Ecology and Management*, 265, 30–36.

VOORDOUW, M.J. (2015) Co-feeding transmission in Lyme disease pathogens. *Parasitology*, 142, 290–302.

ZHIOUA, E., AESCHLIMANN, A. & GERN, L. (1994) Infection of Field-Collected Ixodes ricinus (Acari: Ixodidae) Larvae with Borrelia burgdorferi in Switzerland. *Journal of Medical Entomology*, 31, 763–766.

Résumé

Les tiques sont des acariens hématophages connus pour être responsables de la transmission de la plus grande variété d'agents pathogènes. Le risque de contracter une maladie à tique dépend directement de la densité de tiques infectées. Les études portant sur ces vecteurs sont nombreuses dans la littérature, mais peu ont été menées dans un contexte urbain. Cette étude a donc pour objectif d'évaluer le risque acarologique dans les parcs urbains départementaux de Seine-Saint-Denis. Des tiques ont été collectées avec la méthode du drap dans neuf parcs ainsi que dans la forêt de Bondy. Un total de 62 tiques a été trouvé dans sept des neuf parcs et dans la forêt de Bondy : 13 larves, 38 nymphes, 6 femelles et 5 mâles majoritairement de l'espèce *Ixodes ricinus*. À la suite des analyses moléculaires portant sur les nymphes et les adultes, quatre agents pathogènes ont été détectés : *Borrelia afzelii, B. burgdorferii sensu stricto, B. miyamotoi* et *Rickettsia helvetica* respectivement dans 7, 2, 1 et 15 tiques. De plus, 4 se sont révélées être co-infectées par les deux genres. Cette étude a permis de démontrer la présence de tiques dans les parcs départementaux, mais aussi la présence d'agents pathogènes et leurs circulations au sein de ces zones. Du fait de ces résultats associés à la forte fréquentation des parcs départementaux de Seine-Saint-Denis, nous pouvons conclure que le risque épidémiologique associé aux tiques y est non négligeable. Il conviendrait donc d'informer la population sur l'existence de ce risque et comment le prévenir.

Mots clés : *Ixodes ricinus,* tiques, agents pathogènes, maladie de Lyme, parcs urbains

Abstract

Ticks are blood-sucking acarids known to be responsible for the transmission of the widest variety of pathogens. The risk of contracting tick diseases directly depends on the density of infected ticks. There are many studies on these vectors in the literature, but few have been carried out in an urban context. This study therefore focuses on an urban area ; the departmental parks of Seine-Saint-Denis. Ticks were collected by flagging the vegetation in nine parks as well as in the forest of Bondy. A total of 62 ticks were thus found in seven of the nine parks and in the forest of Bondy : 13 larvae, 38 nymphs, 6 females and 5 males, mainly belonging to the species *Ixodes ricinus*. Following molecular analyzes on nymphs and adults, four pathogens were detected : *Borrelia afzelii*, *B. burgdorferii sensu stricto*, *B. miyamotoi* and *Rickettsia helvetica* in 7, 2, 1 and 15 ticks, respectively. In addition, 4 were found to be co-infected with both genera. This study enabled us to demonstrate the presence of ticks in departmental parks, but also the presence of pathogens and their circulation within these areas. Due to these results associated with the high attendance of departmental parks of Seine-Saint-Denis, we can conclude that the epidemiological risk associated with ticks is not negligible. The public should therefore be informed about the existence of this risk and how to prevent it.

Key words : *Ixodes ricinus*, ticks, pathogens, Lyme disease, urban parks